



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2017 00366**

(22) Data de depozit: **13/06/2017**

(41) Data publicării cererii:
30/10/2017 BOPI nr. **10/2017**

(71) Solicitant:
• **ROMVAC COMPANY S.A.**,
ȘOS. CENTURII NR. 7, VOLUNTARI, IF, RO

(72) Inventatori:
• **CHIURCIU CONSTANTIN**,
STR. MIHAI BRAVU NR. 17, AFUMAȚI, IF,
RO;
• **SIMA LUCICA**, BD. BASARABIA NR. 92,
BL. D1, ET. 3, AP. 12, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO;
• **OPORANU MARIANA**, DRUMUL TABEREI
NR. 92, BL. C7, SC. F, AP. 233,
BUCUREȘTI, B, RO;

• **DIMULESCU ALINA IOANA**,
STR. SOLDAT TOMOVICI STELIAN NR. 19,
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
• **ȚIPLEA DANIELA**, CALEA GIULEȘTI
NR. 113, BL. 21, SC. B, ET. 1, AP. 25,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• **CHIURCIU VIORICA**, STR. CIOCÂRLIEI
NR. 32, BL.24, AP. 36, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO

*Această publicație include și modificările descrierii,
revendicărilor și desenelor depuse conform art.35
alin.(20) din HG nr.547/2008*

(54) **PROCEDEU DE TRATAMENT IMUNOLOGIC CU PRODUSE
BIOLOGICE PC2 ÎN EPIDERMOLIZA BULOASĂ**

(57) Rezumat:

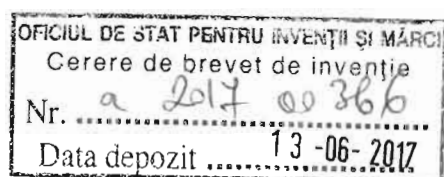
Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor produse biologice utilizate în tratamentul epidermolizei buloase, cu leziuni infectate cu agenți patogeni. Procedeu conform invenției constă în prepararea unui amestec de antigene bacteriene și fungice inactivate, patogene pentru om, pentru tratament general, și de tulpini bacteriene prelevate din leziunile buloase ale pacienților cu epidermoliză buloasă, pentru tratamentul personalizat; antigenele se inoculează la găini convenționale sau libere de germeni specifici (SPF), iar după perioada de imunizare, se colectează ouă pentru evaluarea răspunsului imun, care se prelucrează prin

tehnici de extracție pentru obținerea imunoglobulinelor Y (IgY), ca anticorpi specifici față de antigenele inoculate, din albuș se izolează fracțiunile imunologic active cu efect antimicrobian, antiinflamator și imunomodulator, proteinele rezultate se condiționează sub formă de pulbere liofilizată de ou integral, soluție sterilă buvabilă, pulverizabilă sau pentru aerosoli, pentru calea de administrare locală, și ca unguent/cremă conținând IgY, pentru calea de administrare cutanată.

Revendicări inițiale: 14
Revendicări amendate: 3

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





PROCEDEU DE TRATAMENT IMUNOLOGIC CU PRODUSE BIOLOGICE PC2 ÎN EPIDERMOLIZA BULOASĂ

DESCRIERE

AUTORI: Chiurciu C-tin., Lucica Sima, Mariana Oporanu, Alina Ioana Dimulescu, Daniela Țiplea, Viorica Chiurciu

Imunologie, medicină, epidermoliza buloasă, tratament imunologic, produse biologice PC2, imunizare pasivă, imunoglobuline

Invenția se referă la un procedeu de utilizare a unor produse biologice PC2 extrase din oul hiperimun PC2* în tratamentul epidermolizei buloase (EB).

Terapia cu produse biologice PC2 vine în completarea protocolului terapeutic acordat pacienților afectați de EB cu preparate de întreținere și tratament, prin administrare orală, locală și generală.

Epidermoliza buloasă (EB) reprezintă un grup heterogen de boli cu determinism genetic caracterizate prin apariția de bule pe tegumente și mucoase. Boala se caracterizează printr-o diversitate de forme clinice, de la ușoare la forme grave, care se manifestă prin fragilitate capilară exagerată, cu apariția de bule și eroziuni pe tegumente și deseori pe mucoase, apărute în special la fricțiune, presiune, căldură etc. Maladia se manifestă de la naștere prin apariția de bule și eroziuni la nivelul pielii și mucoaselor, la început în zonele de presiune apoi pe întreg corpul; în evoluție poate cuprinde afectarea mai multor organe și sisteme [9].

Epidermoliza buloasă este o afecțiune ereditară, ceea ce înseamnă că în producerea sa sunt implicate gene defectuoase [7]. Ea poate fi autozomal dominantă (genele anormale sunt transmise de un singur părinte) sau autozomal recesivă (genele anormale provin de la ambii părinți). Epidermoliza buloasă nu este o boală contagioasă, ea este transmisă genetic de la părinți la copii. Cei născuți cu EB sunt numiți “copii fluture” deoarece pielea lor este fragilă precum aripile de la fluture. Boala este rezultatul unei mutații genetice în una din cele 18 gene.

* Ouă obținute prin imunizarea găinilor cu un amestec de antigene bacteriene și fungice atenuate; din acestea se prepară proteine specifice; PC2= numele inventatorilor

Aceste mutații sunt erori în codul genetic, fie nu permit să producă o proteină esențială, fie produc o formă de proteină ce determină o piele extreme de fragilă [6]. EB poate fi o boală autoimună în care organismul produce anticorpi față de componentele structurale ale pielii. Severitatea bolii depinde de mulți factori, tipuri, subtipuri și se moștenește de la părinți.

EB cuprinde 5 tipuri majore (simplă, joncțională, distrofică, sindromul Kindler, dobândită) și 31 subtipuri [22]. Mai mult de 30 de tipuri de EB au fost descrise, conducând la păreri controversate și adesea confuze.

La Simpozionul Internațional privind EB de la Viena (2008) s-a stabilit folosirea a patru tipuri de EB [26,]:

Epidermoliza buloasă simplă (EBS) variază de la forme ușoare, cu bule limitate la nivelul mâinilor și picioarelor, până la forme severe generalizate, cu afectarea membranelor mucoase și a unghiilor (subtipul Koebner subtipul Dowling–Meara, subtipul Weber-Cockayne). Transmiterea este autozomal dominantă și nu apar cicatrici decât în cazul unei suprainfecții secundare. Fiziopatologia este legată de mutații la nivelul genelor ce codifică keratinele 5 și 14. Anomaliile structurale conduc la separarea stratului celulelor bazale de membrana bazală atunci când pielea este expusă la frecare, traumatisme [24].

Epidermoliza buloasă joncțională (EBJ). În această formă de boală veziculele se formează la nivelul joncțiunii (membrana bazală) dintre epiderm și derm. Este, de regulă, o formă severă de boală, ce se dezvoltă în apropierea nașterii. Genele anormale sunt implicate în producerea hemidesmozomilor, elemente care atașează epidermul de membrana bazală. Epidermoliza buloasă joncțională este o afecțiune autozomal recesivă, genele care produc apariția bolii fiind transmise de ambii părinți. În acest caz copilul prezintă o șansă de 25% de a moșteni boala [22].

Epidermoliza buloasă distrofică (EBD) variază de la formă ușoară autozomal dominantă, cu leziuni de milia localizate predominant la nivelul membranelor. Aceasta poate conduce la pseudosindactilie la nivelul mâinilor și picioarelor, pot să apară cu înaintarea în vârstă, contractură în flexie a extremităților, distrofii unghiale, afectarea dentiției (până la pierderea acesteia). Afectarea mucoaselor are drept consecință stricturi esofagiene și uretrale, stenoză anală, fimoză și cicatrici corneene. În evoluția bolii apare anemia ca urmare a lipsei de absorbție a fierului și a malnutriției, cu retard ridicat staturoponderal. Pacienții cu EB distrofică recesivă care supraviețuiesc copilăriei au risc ridicat (50- 80%) de dezvoltare a carcinoamelor spinocelulare (SCC) la nivelul zonelor cu eroziuni cronice, foarte agresive, cu

metastazare și deces. Toate formele sunt legate de mutațiile la nivelul colagenului tip VII, cu afectarea fibrelor de ancorare [22,26].

Sindromul Kindler – este o boală recent clasificată ca un tip de EB. Pacienții prezintă bășici generalizate la naștere, atrofia pielii, retard mental, anomalii ale oaselor.

Epidermoliză buloasă dobândită (EBD) este o boală rară, autoimună care cauzează vezicule pe piele și nu se moștenește. Este caracterizată prin prezența autoanticorpilor IgG care atacă domeniul NC, al colagenului de tip VII, componentul major al fibrelor de ancorare ce conectează membrana bazală de structura dermului. Bășicile rezultă din faptul că, sistemul imunitar propriu atacă țesutul sănătos din greșeală. Este similară unei alte boli autoimune, pemfigoidul bulos care, cauzează bășici pe mâini, picioare și mucoase [8,13].

Identificarea genelor a inclus pe acelea ce codifică keratina 5 și 14 în EBS, colagenul VII în EBD și laminina 5 în EBJ Herlitz. Studiile efectuate pe mii de pacienți cu EB din întreaga lume au evidențiat mai mult de 1000 mutații, cuprinzând mai mult de 10 gene structurale [11,19].

Cazurile de EBA necesită doze mari de corticosteroizi și imunosupresori [11]. Deși tratamentul este greu și nesatisfăcător, au fost raportate câteva realizări cu colchicina, dapsone, imunoglobuline [1,2,17].

Caracteristica acestor afecțiuni este formarea de bule mari cu lichid, ca răspuns la traume minore ale pielii. Hainele, scărpinatul sau chiar temperatura ridicată, pot declanșa apariția bulelor. În formele severe, scărpinatul după formarea bulelor determină deformări, fuziuni ale degetelor și contracturi deformante. Dacă este implicat esofagul sau cavitatea bucală, bulele duc la disfagie și alimentație dificilă [12,13].

Semne și simptome: simptomele epidermolizei buloase se dezvoltă în majoritatea cazurilor la scurt timp după naștere. Manifestarea principală o reprezintă erupția veziculară, care apare cel mai frecvent la nivelul zonelor expuse la fricțiune (mâini și picioare), însă se pot localiza în orice regiune a corpului. Veziculele se pot dezvolta după atingeri sau traumatisme minore, după expunerea la căldură, după fricțiunea cu haine sau alte obiecte, sau pot apărea spontan. În cazurile ușoare de boală, veziculele se vindecă fără cicatrice.

Diagnostic: Testele de laborator care confirmă prezența bolii sunt folosite cu succes în diagnosticul EB:

Testul de imunofluorescență (IF). Prin această tehnică, o probă de piele afectată este examinată pentru a identifica stratul de piele și proteinele implicate. Imunofluorescența folosește anticorpi monoclonali pentru localizarea defectului structural cât și absența proteinelor care sunt prezente în mod normal la nivelul membranei bazale. În cazul EB aceste

proteine lipsesc, iar reacția de fluorescență este negativă. În tehnică de IF clasică, pielea cu EB crioconservată se cuplează cu anticorpii față de antigenele EB, laminina 1, colagenul de tip VII, keratina 14, în scopul de a determina alterațiile (intradermal, intra- laminina lucida, sublaminina densă) la nivelul bășicilor [8].

Biopsia cutanată constă în prelucrarea unei mostre de țesut de la nivelul leziunilor și examinarea sa la microscop. În urmă acestui test se poate identifica stratul de piele afectat, precum și tipul de epidermoliză prezentă.

Microscopia electronică a oferit un prim pas important în înțelegerea patogenezei în EB, prin vizualizarea defectului de separare și localizarea lui la nivelul joncțiunii dermo-epidermice; în EBS, citoliza are loc la nivelul stratului bazal al epidermei; în EBJ, epiderma este separată de laminina lucida, formând cavitare în planul acesteia; în EBD, bulele se formează sub laminina densă a joncțiunii dermo-epidermice, iar fibrele de ancorare sunt reduse ca număr, fiind alterate morfologic sau chiar absente [24]. Microscopul electronic permite vizualizarea și determinarea semicantitativă a structurilor specifice (filamente de keratina, desmozomi, hemidesmozomi, filamente de ancorare, fibrele de ancorare, care pot fi alterate ca număr și prezență).

Analiza mutațiilor: ADN- ul pacienților cu EB a revoluționat înțelegerea diferitelor defecte în experimente moleculare și a îmbunătățit conotația fenotipică a fiecărui defect structural. Studiul mutației implică izolarea ADN din sânge/celule de la nivelul mucoasei bucale a pacientului și a părinților, amplificarea genică a secvențelor nucleotidice, electroforeza în gel, urmată de secvențierea ADN și corelarea cu mutațiile din literatură [7]. Diagnosticul mutațiilor ADN în EB este necesar pentru:

- localizarea exactă a mutației este o condiție esențială în vederea aplicării terapiei genice;
- diagnosticul prenatal în familiile afectate este posibil doar prin cunoașterea mutației
- localizarea mutației reprezintă un marker important pentru evaluarea evoluției și prognosticului subtipului EB;
- publicarea mutației, eventual identificarea unei mutații noi, vine în sprijinul studiilor de cercetare genetică [28].

Tratament: Epidermoliza buloasă nu poate fi vindecată. Scopul tratamentului este de a diminua disconfortul cauzat de leziuni și de a preveni apariția complicațiilor. În cazul pacienților cu epidermoliză buloasă trebuie aplicată o igienă riguroasă și trebuie evitați pe cât

posibil factorii care provoacă apariția leziunilor (de ex. schimbatul hainelor). Veziculele pot atinge dimensiuni mai mari, iar când se sparg sunt susceptibile la infecție, medicul poate indica puncționarea leziunilor cu un ac steril, ce permite drenajul acestora. Leziunile se pot acoperi cu bandaje sterile și uscate, care se folosesc după ce la nivelul leziunii se aplică în prealabil un unguent cu antibiotic sau altă substanță hidratantă [18,19]. Infecțiile reprezintă o amenințare serioasă, astfel că se recomandă să se aplice în mod regulat un antibiotic topic (sub formă de cremă sau unguent), precum sulfadiazina, bacitracina sau mupirocin. În cazul leziunilor care nu se vindecă după perioade îndelungate, medicul poate recomanda utilizarea de grefe de piele sintetice sau prelevate dintr-o zonă neafectată a corpului bolnavului. Acoperirea răni cu grea de piele poate grăbi vindecarea [1,14].

Recent, J.Tolar și colaboratorii (2016) au efectuat un transplant de măduvă osoasă la pacienții cu EB. Rezultatele au fost remarcabile. La 180 de zile de la primirea transplantului s-au constatat nivele crescute de colagen tipul VII (C7) în urmă biopsiei efectuate la pacienții tratați. În plus, pielea acestor pacienți prezintă aspect neted fără leziuni [26,27].

S-a aplicat terapia cu imunoglobuline (Ig) folosind IgG 7 S nativă [20]. IgG s-au administrat zilnic în doză de 400 mg/kg corp timp de 5 zile, iar tratamentul a fost repetat la fiecare 4 săptămâni. Terapia a fost bine tolerată. După trei cure de tratament s-a constatat o reducere a bășicilor și descreșterea marcată a fragilității pielii [3,10,15].

S-au făcut încercări de corectare a consecințelor mutațiilor genetice prin dezvoltarea terapiilor moleculare și de înlocuire a proteinelor afectate cu proteine purificate prin aplicații topice sau infecții locale în piele [28]. Unele dintre ele nu sunt foarte eficiente, iar altele produc îngrijorare [26].

Un grup de cercetători au descris o tehnică de reparare a porțiunii din genă afectată (tehnica SMART). "Molecula de reparare" este creată pentru a înlocui porțiunea afectată din genă cu o copie normală. Molecula conține "secvențe de recunoaștere" care permit înlocuirea porțiunii defecte [Debra 2016]. Cercetătorii au utilizat tehnica SMART în laborator pentru repararea genelor colagen VII, colagen 17 și keratina 14. Moleculele de reparare acționează eficient și specific asupra genelor și generează celule în care aceste molecule pot fi evaluate [17].

Terapia bolnavilor de EB este de necesitate și de întreținere, având în vedere că la ora actuală nu există tratamente disponibile care să corecteze defectul molecular. Indiferent de tipul de EB, cele mai importante aspecte legate de abordarea acestor pacienți sunt: îngrijirea leziunilor, nutriția, educația și suportul social [9].

Ținta în ceea ce privește îngrijirea leziunilor unui pacient cu EB este aplicarea produsului de bandajare potrivit, cu rol nu numai de accelerare a procesului de vindecare, dar și de prevenire a traumatismelor prin protecție și limitarea forțelor de frecare. Problemele nutriționale sunt comune în formele severe de EB ca urmare a afectării cutanate extensive. La nivelul tegumentului lezat și al tractului gastro-intestinal are loc o pierdere importantă de fluide și substanțe nutritive, având ca rezultat retardul staturo-ponderal și deficiența în fier. Alte probleme nutriționale derivă din imposibilitatea unei alimentații adecvate nevoilor lor metabolice, ca urmare a eroziunilor bucale, anomaliilor dentare, îngustării și cicatricilor de la nivelul esofagului, fisurilor anale, constipației. Consecința acestora este malnutriția cronică, catabolismul crescut și retardul ponderal [21].

Ca și suport social, este important să existe servicii sociale implicate în îngrijirea bolnavilor cu EB. Un diagnostic de EB poate fi descurajant din punct de vedere psihologic, social și financiar, atât pentru pacient, cât și pentru familia sa. Grupurile de ajutor sunt recomandate pentru formele severe de EB. Un exemplu este DEBRA Internațional (Dystrophic Epidermolysis Bullosa Research Association) care promovează cercetarea în vederea găsirii unui tratament curativ pentru EB [23]. Acesta constituie o sursă de literatură educațională foarte bună și oferă servicii de consiliere.

Sunt necesare tratamente și medicamente care pot reduce inflamația și altele care sunt eficiente în situații în care există suprainfecție bacteriană. Sunt necesare noi metode care pot controla consecințele sistemice ale inflamației care pot afecta mai multe organe, inclusiv pielea. Aceste metode îmbunătățite pot fi utile pentru tratamentul tulburărilor inflamatorii la nivelul tuturor sistemelor și organelor inclusiv tulburările inflamatorii ale pielii.

Au fost elaborate proceduri de diagnostic, tratament pentru pacienții suferinzi de EB și de alte boli dermatologice rare. J. Gelfand a utilizat anticorpi anti IgE, fragmente de Ig, derivate, metaboliți sau combinarea lor în tratamentul epidermolizei buloase, pemfigoidului bulos, dermatitei herpetiforme și a altor boli autoimune și buloase [WO 2007 7095230 A2]. Invenția elaborată de P.A. Columbe și M.L.Kerns prezintă metode de prevenire și tratament a epidermolizei buloase simplă prin folosirea inductorilor enzimatici Nrf 2 [WO 2009014624 A2]. O metodă pentru tratamentul pielii afectate de impetigo, epidermoliza buloasă, psoriazis, neurodermatită, constă în aplicarea sub formă unui bloc solid de clorură de sodiu pe pielea afectată [US 1997 5869104 A].

Brevetele prezentate au dezavantajul că nu depistează precoce cazurile de EB pentru tratarea corespunzătoare a acestora și pentru evitarea apariției complicațiilor bolii. Invenția elaborată de C.E.Caufiel (2003) evidențiază o altă metodă de tratament a bolilor imunoinflamatorii ale

pieii. Metoda constă în administrarea de produse antiinflamatorii ca rapamicina singură sau în asocieră cu ciclosporina A, pe cale orală, parenterală, intranasală, topică, transdermic sau rectală. Metoda a fost folosită cu rezultate bune în tratarea psoriazisului, dermatitelor exematoase și seboreice, epidermolizei buloase, pemfigoidului bulos s. a [CA 20783790].

O altă invenție recentă se referă la sinteza de colagen VII în celula gazdă care crește nivelul de prolyl-4- hidroxilaza, apropiat de cel din celula bazală. Colagenul produs prin această metodă crește cantitatea de prolina modificată. Această determină stabilitatea colagenului [WO 2012 149 136 A1]. Metoda are dezavantajul că este laborioasă și este greu de realizat.

Una dintre cele mai mari importante realizări din ultimii ani constă în folosirea imunoglobulinei din sânge și ou, ca agenți imunomodulatori în tratamentul unor deficiențe imunologice, reducerea leziunilor dermatologice cutanate și îmbunătățirea stării de sănătate. Acești agenți imunomodulatori activează sistemul complement, supresează anticorpul idiotip, și diferiți mediatori (citokine, chemokine, metaloproteinaze). Regiunea Fc a imunoglobulinei G ușurează interacțiunea cu proteinele din plasmă. [RO A/00156/2014; RO A/00653/2014]

Scopul prezentei invenției este de aplicare a unui procedeu de tratament al EB utilizând proteinele imunologic active conținute în oul hiperimun PC2. Aceste proteine pot constitui o nouă opțiune în ameliorarea bolii [RO A/00810/2014]

Epidermoliza buloasă este o afecțiune rar întâlnită, cu impact sever asupra vieții acestor pacienți. Boala este recunoscută pentru gradul de handicap sever pe care îl prezintă și este cuprinsă în listă afecțiunilor pentru care medicamentele se eliberează gratuit. În cadrul “Programului național de diagnostic și tratament pentru boli rare și infecții severe” se desfășoară o bogată activitate medicală clinică, investigațională, de cercetare și de instruire în domeniul afecțiunilor cutanate. Asociația pacienților suferinzi de EB - “MINI DEBRA” - vine în sprijinul ameliorării calității vieții acestei categorii de pacienți. În această nouă abordare a tratamentului se are în vedere faptul că folosind produsele biologice obținute din oul hiperimun PC2, pot fi prevenite complicațiile la bolnavii cu EB.

Un obiectiv al invenției este obținerea de produse biologice din ouă hiperimune PC2. Aceste proteine imunologic active se obțin prin imunizarea găinilor ouătoare cu un antigen multiplu format dintr-un amestec de tulpini bacteriene și fungice inactivate, în amestec cu adjuvant QS-21. După trei inoculări se colectează ouăle și se obțin proteinele purificate din oul hiperimun: imunoglobulină Y (IgY) din gălbenuș [RO A/00653/2014 și RO A/00008/2015] fracțiunile din albuș. [RO A/00653/2014 și RO A/00008/2015]. Proteina activă principală este imunoglobulina Y polivalentă care ajută organismul să lupte împotriva infecțiilor. Proteinele din albuș inhibă bacteriile Gram-negative prin privarea de fier, element

esențial pentru dezvoltarea acestora, având rol antimicrobian, antiinflamator, imunomodulator. Oul hiperimun PC2 pe lângă proteinele ce conțin funcții biologice bine definite, conține și factori imunomodulatori care reglează activitatea sistemului imunitar. Deasemeni este un bun adjuvant în boli noninfecțioase de tipul celor cardiovasculare, scleroză, artrită, inflamații.

Produsele biologice PC2 se folosesc pentru inducerea imunității pasive. Aceste proteine imunologic active conțin Imunoglobulină Y (IgY) x 16 tipuri de anticorpi, ovotransferina, ovomucina, lizozim și ovoalbumina, factori de transfer, diferite peptide, imunomodulatori, proteine de contact [4, 5].

Un alt obiectiv al invenției descrie cazuri de pacienți la care s-a aplicat terapia cu produse biologice PC2 [25]. S-a efectuat tratamentul general prin administrarea orală a formei lichide de IgY specific multiplu, cât și tratament local folosind IgY specific multiplu spray și unguent tip 1 – crema PV, care conțin Imunoglobulină Y anti: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Clostridium difficile-exotoxinele A și B*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Streptococcus mutans*, *Acinetobacter baumannii*, *Helicobacter pylori*, *Clostridium difficile-forma vegetativă*, *Clostridium difficile-formă sporulată*.

Avantajele aplicării produselor biologice PC2 rezolvă o serie de inconveniente cu care se confruntă utilizarea altor formule medicamentoase: terapie locală în tubul digestiv, cu acțiune antimicrobiană, antiinflamatoare, imunomodulatoare; utilizarea lor la pacienții la care sunt contraindicate medicamentele de sinteză, lipsă reacțiilor adverse, transfer prin mucoasă digestivă a proteinelor cu masă moleculară de până la 180 KDa. În plus, mai sunt și considerente de natură economică. Găinile imunizate produc un număr mare de ouă și pot fi crescute în sistem industrial.

Prezenta invenție constă în utilizarea unui procedeu de tratament imunologic cu produse biologice PC2 în epidermoliza buloasă. Produsele biologice se obțin din oul hiperimun PC2, printr-o tehnică specială aplicată în România [RO A/00156/2014]. Proteinele imunologic active din oul hiperimun PC2 sunt Imunoglobulina Y (IgY) polivalentă (16 tipuri de anticorpi) izolată din gălbenuș și proteine purificate din albuș, factori de transfer, diferite peptide.

Aplicarea acestui procedeu poate contribui la completarea protocolului de tratament al pacienților cu EB, pentru evitarea apariției complicațiilor și integrarea acestora în sistemul educațional, pe piață forței de muncă și în societate. Pacienții cu EB constituie o minoritate ce

poate fi sprijinită în continuare de sistemul de sănătate. În prezent s-a identificat la nivel național un număr de 100 de cazuri. Din estimările realizate de medicii dermatologi, costul pe pacient este de aproximativ 300 euro/lună, în funcție de vârsta bolnavului, gravitatea bolii și suprafața corporală afectată.

Procedeul de tratament imunologic cu produse biologice PC2 cuprinde următoarele etape:

1. Obținerea produselor biologice PC2

1.1. Aceste produse se obțin aplicând un program de imunizare a găinilor SPF sau convenționale. Conțin proteine imunologic active din gălbenușul și albușul ouălor PC2 și se prepară după o tehnologie specială care a făcut subiectul brevetelor de invenție cu RO A/00156/2014, RO A/00653/2014, RO A/00810/2014 și RO A/00008/2015

1.2. Controlul răspunsului imun

- Evaluarea răspunsului imun se face direct prin controlul ouălor colectate de la găinile imunizate.
- Gălbenușul recoltat individual se precipită cu polietilenglicol pentru extragerea imunoglobulinei Y (IgY), se testează individual și se identifică găinile al căror răspuns se situează la un nivel de peste 1.500 OD în testul imunoenzimatic (ELISA).
- Din albuș se obțin prin tehnici de purificare, fracțiunile imunologic active.
- Fracțiunile obținute se testează prin tehnica de imunodifuzie în gel de agar (IDGA) față de antiseruri specifice.

1.3. Produse biologice PC2

Aceste produse conțin imunoglobulina Y (IgY) multiplu x 16 tipuri de anticorpi, imunomodulatori, peptide, proteine de contact, protein de albuș. Unguentul tip 1 – crema PV conține pulbere de ou integral. Produsele biologice PC2 sunt: IMUNOINSTANT MULTIPLU SOLUȚIE STERILĂ, flacon de 80 ml, IMUNOINSTANT MULTIPLU SPRAY, UNGUENT de tip 1 – CREMA PV cu pulbere de ou integral, POLIIMUNOINSTANT SPRAY cu fracțiuni proteice din albuș și IMUNOINSTANT G pulbere liofilizată de ou integral. Acestea reprezintă remedii naturale benefice cu efect antimicrobian, antiinflamator și imunomodulator. Se administrează persoanelor cu un sistem



imunitar slăbit, asigurând imunizarea pasivă a organismului față de agenții patogeni și creează o stare de bine prin aportul de proteine, enzime și imunomodulatori.

2. Aplicarea tratamentului cu produse biologice PC2

Tratamentul EB cu produse biologice PC2 se realizează pe cale generală și prin administrare orală.

2.1. Administrarea orală cu efect local și general

Aplicarea terapiei atât generală cât și cea locală constă în activarea imunității prin imunizare pasivă. Terapia se face prin:

- Curățirea zilnică a pielii cu un săpun foarte moale.
- Tratamentul se face cu produsul IMUNOINSTAN MULTIPLU, soluție sterilă, flacon 80 ml.
- După igienă orală, se desigilează flaconul cu soluție, se iau 10- 15 ml, cu care se face gargară timp de 2 minute, apoi lichidul se înghite.
- Procedeu se repetă până se consumă întreg conținutul flaconului.
- Până dimineața nu se consumă alimente sau lichide, pentru a se face absorbția IgY la nivelul mucoasei digestive.
- Tratamentul se completează cu administrarea de IMUNOINSTANT G, pulbere liofilizată, în două doze (12 g IgY pulbere liofilizată) administrate la micul dejun în produse reci.
- IgY acționează în două direcții după administrarea orală:
 - În timp ce pacientul doarme, proteinele imunologic active PC2 cu mase moleculare cuprinse între 1000-200000 Da sunt absorbite prin mucoasa digestivă unde au efecte locale și generale. După absorbția prin mucoasa digestivă, imunomodulatorii pătrund în sânge, unde acționează direct asupra sistemului imunitar, pe limfocitul T, care se transformă în limfocit T matur. Acesta acționează asupra limfocitului B care transferă informația Imunoglobulinei Y [5, 26]
 - Acțiunea IgY în tubul digestiv: pe traiectul tubului digestiv IgY acționează specific asupra germenilor patogeni prezenți. În gură, scade numărul de bacterii și se reface mucoasa bucală. În stomac acționează direct asupra bacteriei *Helicobacter pylori* și al infecțiilor asociate cu germeni patogeni. În

aceste condiții se reface flora saprofită nepatogenă și se reduc toxinele iritative care acționează asupra mucoasei intestinale.

2.2 Aplicarea tratamentului local:

- Îngrijirea regulată a pielii, inclusiv zonele fără leziuni, este foarte importantă. În acest sens este necesară hidratarea pielii, cu diferite produse: creme, unguente, loțiuni, produse de spălare.
- Tratamentul local constă în spălarea cu săpun moale și aplicarea zilnică a soluției sterile de IMUNOINSTANT MULTIPLU SPRAY sau cu POLIIMUNOINSTANT SPRAY.
- Se pulverizează cu mare atenție întreaga suprafață a pielii; se așteaptă uscarea soluției.
- Dacă pacientul acuză senzație de strângere, se recomandă să se aplice local pe toate leziunile buloase, UNGUENT de tip 1 – CREMA PV cu pulbere de ou integral hiperimun PC2
- Aplicarea acestor produse se va face ori de câte ori este nevoie.

Tratamentul trebuie aplicat pe cale generală și locală până la dispariția totală a leziunilor. La pacienți la care dispar leziunile locale se recomandă continuarea unui tratament de susținere imunologică, pentru o perioadă lungă de timp.

3. Aplicarea tratamentului cu produse biologice PC2 personalizate

- Când terapia cu produse biologice PC2 este mai puțin eficientă se poate aplica tratamentul cu produse biologice PC2 personalizate [RO A/00735/2015].
- În acest scop se prelevează din leziunile cutanate al pacienților material biologic (agenți patogeni, flora oportunistă, celule structural diferite). În urma cultivării, pe medii de cultură timp de 24 - 48 h la 37°C, se identifică germenii izolați și se inactivează;
- Se prepară un amestec de antigen din tulpinile bacteriene izolate cu care se inoculează găini convenționale sau SPF, în vederea obținerii de ouă hiperimune; care conțin anticorpi specifici față de agentul patogen inoculat.

Din ouăle hiperimune obținute se prepară produse biologice PC2 conform brevetelor RO A/00156/2014, RO A/00653/2014, RO A/00810/2014 și RO A/00008/2015.

Tratamentul se aplică pe cale orală și generală astfel:

- Administrarea **orală** a formei lichide de IMUNOINSTANT MULTIPLU personalizat SOLUȚIE STERILĂ, flacon de 80 ml care conține IgY specific personalizat.

Tratamentul personalizat local este similar celui de la punctul 2.

- Curățirea zilnică a pielii cu un săpun foarte moale.
- Tratamentul se face cu produsul IMUNOINSTANT MULTIPLU personalizat SOLUȚIE STERILĂ, flacon 80 ml.
- După igienă orală, se desigilează flaconul cu soluție, se iau 10- 15 ml, cu care se face gargară timp de 2 minute, apoi lichidul se înghite.
- Procedeu se repetă până se consumă întreg conținutul flaconului.
- Până dimineața nu se consumă alimente sau lichide, pentru a se face absorbția IgY la nivelul mucoasei digestive.
- Tratamentul se completează cu administrarea de IMUNOINSTANT G, pulbere liofilizată, personalizată în două doze (12 g IgY pulbere liofilizată) administrate la micul dejun în produse reci.

Terapia **locală cutanată** se face cu produse personalizate PC2 astfel:

- IMUNOINSTANT MULTIPLU SPRAY, personalizat sau POLIIMUNOINSTANT SPRAY, personalizat : se aplică pe zonele afectate după curățarea prealabilă a pielii cu un săpun moale

- Dacă pacientul acuză senzații de strângere, se recomandă să se aplice UNGUENTUL de tip 1 – CREMA PV personalizat, conținând pulbere de ou integral personalizat.

Produsele biologice PC2 personalizate au efect antimicrobian specific și nespecific, antiinflamator și imunomodulator, fiind un bun adjuvant în bolile noninfecțioase.

*Invenția prezintă următoarele **avantaje**:* Tratamentul cu produse biologice PC2 lichide se face prin administrare **orală**. Proteinele traversează mucoasa digestivă și își mențin nemodificate funcțiile imunologice specifice antimicrobiene, antiinflamatorii și imunomodulatoare.

Tratamentul **local** se face folosind soluții sterile sub formă de spray care conțin fie IgY specific polyvalent (IMUNOINSTANT MULTIPLU), fie proteine purificate din albușul

ouălor hiperimune PC2 (POLIIMUNOINSTAT). Tratamentul local se efectuează folosind și un UNGUENT de tip 1- CREMA PV care conține pulbere din oul integral. Efectul oral și local cutanat este antimicrobial specific și nespecific, antiinflamator și imunomodulator.

Produsele biologice PC2 se pot folosi în tratamentul pacienților sau copiilor la care sunt contraindicate medicamentele de sinteză. Tratamentul cu produse biologice PC2 se poate aplica în cazul infecției cutanate cu germeni patogeni rezistenți la antibiotice. Un alt avantaj al procedurii constă în faptul că tratamentul nu produce durere reducându-se intensitatea, severitatea, durata și frecvența simptomelor și complicațiilor bolii.

Produsele biologice PC2 se obțin printr-un proces de producție natural, fără utilizare de substanțe chimice. Aplicarea acestui tratament contribuie la ridicarea calității vieții pacienților cu EB, având în vedere inclusiv copiii afectați de EB care sunt în pericol de a abandona frecventarea școlii. Aplicarea acestui tratament va ajuta în privința accesului și menținerii acestor copii în sistemul de învățământ, precum și într-un mediu social normal, evitându-se izolarea lor.

Produse biologice PC2 nu produc reacții adverse.

Se dau în continuare **patru exemple** de realizare a invenției, în legătură și cu figurile 1a, 1b, 1c, 1d, 2a, 2b, 2c, 2d, 3a, 3b, 3c, 3d, 4a, 4b, 4c și 4d care prezintă leziuni de EB înainte și după tratamentul cu produse biologice PC2.

Exemplu 1: Pacienta cu EB – 1 Iași

Diagnostic: Epidermoliză buloasă (EB)

Pacienta în vârstă de 8 ani, cu EB la naștere.

Diagnosticul stabilit la naștere a fost:

- **Epidermoliză buloasă distrofică**
- **Hipotrofie ponderală,**
- **Anemie carențială,**
- **Hiper IgG,**
- **Consiliere nutrițională,**

În urma anamnezei s-au identificat leziuni buloase și cruste hemoragice la nivelul cavității bucale, la nivelul mâinilor, coatelor, în treimea medie al sternului, genunchilor și la nivel lombar. Sindrom inflamator prezent, anemie normocromă, hiper IgG.

Până la data prezentării pentru tratament pacienta a fost tratată în diferite spitale cu diverse topice, corticoterapice și anti histaminice per os și aplicări de pansamente la nivelul leziunilor buloase, fără a se constata îmbunătățirea stării de sănătate.

În nici o unitate medicală unde a fost internată pacienta cu EB nu s-a discutat de tratament curativ.

La data examinării clinice a pacientei s-au recoltat probe bacteriologice de la nivelul leziunilor buloase de pe întregul corp, din cavitatea bucală și nazală care au arătat o suprainfectare cu *Staphylococcus aureus* MRSA.

Pacienta care a suferit o operație de corecție a degetelor, arata clinic deosebit: într-un stadiu avansat de subnutriție, anemică, nesigură pe ea, cu mâna dreaptă bandajată de la operație, cu leziuni pe limbă și mucoasa bucală; membrele superioare și inferioare bandajate.

S-a primit de la mamă dosarul cu toate documentele medicale pe care le deținea de la naștere, până la începerea tratamentului imunologic PC2.

Începerea administrării de tratament imunologic PC2, a fost în data de 01.07.2016. **Figura nr. 1a** este realizată la data prezentării pentru programul de tratament și reprezintă zona membrilor inferioare cu leziuni buloase caracteristice, zone hemoragice cu piele friabilă, ușor detașabilă. **Figura nr. 1b** reprezintă zona membrilor inferioare unde pielea și-a modificat structura, devenind mai groasă, mai elastică și mai rezistentă la șocuri. Leziunile au început

să se vindece. Cicatricile vechi, deformante, groase, s-au retras, lasând în schimb piele normală. Mai rar au aparut bule mici care s-au spart și s-au vindecat repede.

Dupa 7 zile de aplicare de produse pe bază de imunoglobulină Y (IgY), leziunile de la nivelul cavității bucale au dispărut în mare parte. Aceste leziuni, timp de 7 ani au fost prezente, și nu au permis pacientei hrănirea corectă și corespunzătoare, conform vârstei, alimentele fiind administrate doar sub forma pasată. **Figura nr. 1c** reprezintă zona toracică cu leziuni buloase înainte de aplicarea tratamentului. **Figura nr. 1d** evidențiază lipsa leziunilor buloase în zona toracică după metodologia prezentată în această cerere de brevet, folosind tratamentul general și local, cu produse biologice PC2.

- La 14 zile de la începerea administrării, mănâncă fără probleme, pielea este mai rezistentă, bulele au început să apară mai rar, iar frecvența de vindecare este mult mai rapidă; Tratamentul a fost executat ambulatoriu sub îngrijirea mamei.
- După 10 luni de la începerea terapiei pe bază de Imunoglobuline Y, pacienta a luat în greutate 2 kg, leziunile buloase de la nivelul întregului corp se formează mai rar, iar vindecarea lor este mult mai rapidă. Durerile articulare au dispărut iar starea generală a fost radical îmbunătățită.
- Leziunile din cavitatea bucală au dispărut în totalitate, pacienta reușind să mănânce normal. Suprainfecțiile bacteriene de la nivelul întregului corp au dispărut în totalitate, astfel vindecarea realizându-se mult mai repede.

Pacientei, de la vârsta de un an, în fiecare lună timp de 7 ani, i-a fost administrată o cantitate de 200 ml de Albumina umană soluție perfuzabilă, pentru a compensa carența de albumină absentă din organism încă de la naștere.

- După primele două luni de la începerea administrării terapiei pe bază de Imunoglobulina Y, în urmă analizelor de laborator a fost identificat faptul că valoarea Albuminei în organism este normală, astfel încât administrarea nu a mai fost necesară.
- Starea de sănătate a pacientei este foarte bună, iar starea generală de bine, excelentă.

Exemplu 2: Pacienta cu EB - 2 Iași**Diagnostic: Epidermoliză buloasă distrofică**

Pacienta cu vârsta de 14 ani, cu EB la naștere.

Diagnosticul stabilit la naștere:

Hipotrofie ponderală**Epidermoliză buloasă formă distrofică****Dismorfie facială****Cicatrici atrofice la nivelul membrelor inferioare****Suflu sistolic**

Internată de urgență la câteva ore de la naștere cu suspiciunea unei “cutis aptopica congenita” din zona ambelor gambe și plantar.

Dupa 12 ore de la internare se constată apariția leziunilor fizice de epidermoliză buloasă.

Până la data cand s-a prezentat pentru tratament, pacientei i s-a aplicat tratament local și antibiotic, iar pentru leziunile locale s-a recomandat antiseptic și băi cu ceai de mușetel (in zonele cu tegument indemn), plus aplicații de pansament pe zonele afectate de la membrele inferioare, fără a se constata îmbunătățirea stării de sănătate. În nici o unitate medicală unde a fost internată pacienta cu EB nu s-a discutat de tratament curativ.

Pacienta, conform biletului de externare din 2016 prezenta hipotrofie ponderală, dismorfie faciala, cicatrici atrofice pe membrele inferioare, suflu sistolic.

In anul 2015 a suferit o intervenție chirurgicală pentru degajare/reconstrucție de spații comisurale I-II-III-IV, reconstrucție de spații comisurale la ambele maini, ameliorată chirurgical, din punct de vedere clinic, exprima permanent frică, nu comunica, ținea gura ferm închisă, este slabă, anemică, cu pansamente la membrele superioare și inferioare și pe torace.

La cererea noastră a vorbit, avea o voce ragușită, guturală, iar pe limba prezenta vezicule și plăgi de culoare albă, infectate cu Candida albicans.

Pacienta nu putea înghiți, bolul alimentar introducându-i-se în esofag.

Prezenta o tuse seacă, sufocantă, permanentă de 7 ani. I s-a recomandat tratament general, oral, zilnic cu IMUNOINSTAN MULTIPLU administrat oral, prin gargară, seara, înainte de culcare, tratamentul aparatului respirator cu IMUNOINSTAN MULTIPLU sub forma de aerosoli de patru ori pe zi, câte 3 ml, și tratamentul pielii zilnic, după baie (în funcție de leziuni) cu IMUNOINSTAN MULTIPLU SPRAY , executat ambulatoriu.

- La data examinării clinice a pacientului s-au recoltat probe bacteriologice de la nivelul leziunilor buloase de pe întregul corp, din cavitatea bucală și nazală, care au aratat o suprainfectare cu *Staphylococcus aureus* MRSA, infecție nosocomială prezentă de la vârsta de 8 ani. **Figura 2a** este realizată la data prezentării pentru începerea programului de tratament și reprezintă zona scapulo-humerală cu leziuni buloase specifice. **Figura 2b** reprezintă plaga scapulo-humerală cu tendința de cicatrizare unde leziunile buloase sunt mai reduse.
- La 5 zile de la tratamentul oral s-a vindecat mucoasa linguală și mucoasa bucală, s-a vindecat esofagul, iar pacienta a început să aibă poftă de mâncare și să consume mâncare pasată.

Pacienta la 14 ani nu știa să facă masticăție și continuă să consume diferite mâncăruri pasate.

- La 8 zile de tratament cu aerosoli a dispărut tusea și vocea a revenit la normal.

Tratamentul local după baie (zilnic), s-a efectuat cu UNGUENT tip 1 – CREMA PV și cu IMUNOINSTAN MULTIPLU SPRAY. Procesul de cicatrizare este continu în funcție de vechimea plăgilor și de dimensiunea acestora.

- După 10 luni de la începerea terapiei pe bază de Imunoglobuline Y, pacienta a luat în greutate, leziunile buloase de la nivelul întregului corp se formează mai rar, iar vindecarea lor este mult mai rapidă. **Figura 2c** reprezintă leziunile buloase de la nivelul antebrațului înainte de aplicarea metodologiei prezentată în această cerere de brevet folosind tratamentul general și local cu produse biologice PC2; **figura 2d** reprezintă antebrațul după aplicarea de tratament imunologic PC2.
- Se remarcă faptul că nu mai sunt prezente bașici pe piele sau pe membranele mucoase. Se observă vezicule mici, rare, nedureroase care s-au vindecat în 3-4 zile. Abcesele au continuat să apară și s-au vindecat în 2-3 zile. Durerile articulare au dispărut iar starea generală a fost radical îmbunătățită. Starea de sănătate este foarte bună, iar starea de bine, excelentă.

Exemplu 3: Pacient cu EB – 3 Buziaș**Diagnostic: Epidermoliză buloasă distrofică**

Pacient cu vârsta de 8 ani, cu EB la naștere.

La vârsta de 3 ani pacientul a fost dus la spital, unde s-a pus diagnosticul de:

Epidermoliză buloasă distrofică**Gingivostomatită acută****Sindrom acut de deshidratare 5% prin lipsa de aport****Ehip formă severă în antecedente****Întârziere în achiziția limbajului****Sindrom hiperkinetic****Cardiopatie hipertrofică**

În urma anamnezei s-au identificat leziuni buloase și leziuni post buloase cu cruste hemoragice la nivelul membrelor, trunchiului, feței, mucoasei bucale, tegumente subțiri fine, iar pe alocuri absent țesutul celular subcutanat.

Până la data prezentării pentru tratament, pacientul a fost tratat în diferite spitale cu diverse topice, corticoterapice și antihistaminice, per os fără a se constata o îmbunătățire a stării de sănătate. În nici o unitate medicală unde a fost internat pacientul cu EB nu s-a discutat de un tratament curativ. **Figura 3a** se pot observa leziunile buloase de la nivelul spatelui. **Figura 3c** reprezintă zona regiunii cervicale înainte de aplicarea terapiei revendicată în această cerere de brevet și prezintă regiunile buloase întinse, hemoragice.

S-a recomandat un tratament general oral folosind IMUNOINSTAN MULTIPLU SOLUȚIE STERILĂ și tratament local cu IMUNOINSTAN MULTIPLU SPRAY precum și UNGUENT de tip 1- CREMA PV cu pulbere de ou integral.

- Tratamentul zilnic s-a realizat seara prin administrarea orală a soluției sterile de IMUNOINSTAN MULTIPLU prin gargară, iar în cursul zilei tratament local, după îmbăiere, folosind IMUNOINSTAN MULTIPLU SPRAY și UNGUENT de tip 1- CREMA PV.
- Tratamentul imunologic PC2, a fost început în data de 10.10.2016 iar după 45 de zile, pacientul a luat în greutate, poate să mănânce fără probleme, pielea este mai rezistentă, starea generală a copilului este mai bună și este activ. **În figura 3b** se

observă că leziunile buloase sunt absente, zona de la nivelul spatelui are tendința de vindecare iar rănilor sunt epitelizate.

- **Figura 3d** este realizată după aplicarea tratamentului descris în această cerere de brevet. După 14 zile, leziunile au început să se vindece, și au apărut cruste mari, cauzatoare de prurit care au fost rupte de copil în timpul nopții.

Tratamentul a fost executat ambulatoriu sub îngrijirea mamei.

- După 120 de zile de la începerea tratamentului pacientul prezintă tranzit intestinal normal, leziunile de la nivelul cavității bucale sunt absente (se afla sub tratament stomatologic pentru prima oară), bulele sunt mai rare și trec mult mai repede.

Pacientul de la vârsta de 1 an, datorită leziunilor aflate în cavitatea bucală și pe tot traiectul digestiv a consumat numai produse pasate, iar pentru a putea avea o digestie și un tranzit normal a folosit în fiecare zi produse purgative.

- În acest moment starea de sănătate a pacientului este bună, se poate hrăni corespunzător vârstei, a luat în greutate, leziunile interne s-au ameliorat, nu mai are probleme cu constipația, iar vărsătura cu sânge datorită leziunilor interne este absentă.
- Pielea s-a schimbat ca structură, iar plagile au început să se cicatrizeze.
- Apar leziuni buloase mai mici ca dimensiune, se sparg și se vindecă mai repede.
- Pielea, pentru prima oară de la naștere are tendința de cicatrizare. Stare de bine este evidentă. Pansamentele s-au redus cu 40% și pielea este expusă la aer și soare.

Exemplu 4: Pacienta cu EB – 3 Turda

Diagnostic: Epidermoliză buloasă distrofică Hallopeau-Siebens

Pacienta în vârstă de 13 ani, cu EB la naștere.

Diagnosticul a fost stabilit la vârsta de un an cand pacienta a fost dusă în străinătate, unde s-a stabilit că suferă de Epidermoliză buloasă distrofică Hallopeau-Siemens.

Până la data când s-a prezentat pentru tratament în cabinetul nostru, pacienta a fost tratată în diferite spitale din țară cu diverse topice, corticoterapice și antihistaminice per os, fără a se constata îmbunătățirea stării de sănătate. În nici o unitate medicală unde a fost internată pacienta cu EB nu s-a discutat de tratament curativ.

Mama, care a acceptat tratamentul imunologic PC2, a privit cu reținere metoda, produsele și rezultatele. Tratamentul a fost executat ambulatoriu sub îngrijirea mamei.

- La data examinării clinice a pacientei, s-au recoltat probe bacteriologice de la nivelul leziunilor buloase de pe întreg corpul, din cavitatea bucală, nazală și zona anusului, care au aratat o suprainfectare cu *Staphylococcus aureus MRSA*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus sp coagulazo negativ*.

Până la începerea tratamentului cu produse imunologice PC2, pacienta folosea pansamente pentru leziunile buloase și cremă (cu sânge de vițel deproteinizat). În completare i s-a prescris unguent Cicatrizin și uneori Triderm sau Betaderm crema, Zenaro/XYZall- antihistaminic de la vârsta de 5 ani (zilnic o pastilă), Movicol - de 2 ani pentru constipație. Ca istoric, pacienta până la vârsta de 7 ani, a fost hranită ca fel principal cu lapte praf.

- Din 2016 pacientei i s-a aplicat tratament personalizat. După administrare leziunile ulcerative de pe limbă și mucoasa bucală s-au retras și copilul a prezentat apetit. Tratamentul a fost administrat cu pauze, pacienta nefiind cooperantă. Produsele biologice personalizate au fost utilizate pentru tratament. În aceste condiții, vezicule și abcese mici au aparut mai rar. Pacienta prezenta prurit permanent care încetinea procesul de vindecare. **Figura 4a** este realizată înainte de aplicarea tratamentului, unde sunt evidențiate leziuni buloase cu zone hemoragice întinse. **Figura 4b** reprezintă zona toracică după începerea tratamentului descris în această cerere de brevet, unde leziunile buloase sunt mai puțin evidente, iar zonele hemoragice mult mai reduse.

Dupa 30 de zile de la începerea administrării de produse biologice PC2, au fost evidențiate următoarele:

- Rănile s-au vindecat mai repede, unele bule mai mici care au scăpat nedecapate, au avut altă evoluție: s-au uscat fără a mai produce răni; sub acțiunea sprayului IMUNOINSTAN MULTIPLU pielea de deasupra s-a uscat.
- Leziunile buloase de la nivelul genunchilor prezintă piele netedă cu textura catifelată, iar mijlocul este mai uscat și roșiatic; lateral pielea este albă. **Figura 4c** este realizată înainte de tratament, unde leziunile buloase de la nivelul membrelor inferioare sunt numeroase și evidente. **Figura 4d** reprezintă leziunile de la același nivel după aplicarea de tratament imunologic PC2.
- La fel și coatele, sunt fine și moi, mai au câteva coji groase, keratinizate. Rănile mai mari și/sau mai adânci pe care le-a avut, s-au vindecat lent, dar pe locul acela nu au mai apărut leziuni buloase. Ulterior au mai apărut răni mai mici și erupții izolate.

Tratamentul zilnic local după baie s-a efectuat cu IMUNOINSTAN MULTIPLU SPRAY și UNGUENT de tip 1 – CREMA PV.

- Procesul de cicatrizare este continuu și depinde de vechimea plăgilor și de dimensiunea acestora.
- După 10 luni de la începerea terapiei pe baza de produse biologice PC2, leziunile buloase de la nivelul întregului corp se formează mai rar, iar vindecarea lor este mult mai rapidă, iar starea generală a fost radical îmbunătățită.

Starea de sănătate a pacientei este foarte bună, starea de bine excelentă și atmosfera din familie pozitivă.

Concluzii:

Epidermoliza buloasă (EB) este un grup de afecțiuni rare, genetice ale țesutului conjunctiv, care provoacă apariția de vezicule ale pielii și mucoaselor, ca răspuns la tratamente mecanice ușoare. Îngrijirea plăgilor este factorul principal pentru gestionarea efectelor cutanate ale bolii. Pentru copiii cu boala severă, îngrijirea răniilor este un proces lung, obositor și dureros. În cele mai multe cazuri părinții sunt implicați în acest tratament zi de zi, consumator de timp, emoțional și fizic.

- Invenția descrisă se referă la un procedeu imunologic de tratament al EB folosind produse biologice PC2 sau produse biologice similare personalizate.
- Procedeu se bazează pe acțiunea generală asupra sistemului imunitar și pe acțiunea locală asupra infecțiilor cu germeni patogeni a unui complex de factori imunomodulatori obținuți din oul hiperimun PC2.
- Administrarea produselor se face pe cale orală cu acțiune generală și locală și tratament local prin aplicare cutanată.
- Administrarea orală cu efect general și local cutanat se face zilnic cu IMUNOINSTANT MULTIPLU SOLUȚIE STERILĂ, flacon de 80 ml și seara, după igiena orală se face gargară cu 10-15 ml timp de 2 minute, după care lichidul se înghite. Se repetă până se consuma întreg conținutul flaconului.
- Administrarea locală se face cu IMUNOINSTAN MULTIPLU SPRAY; se așteaptă uscarea soluției, apoi se aplică UNGUENTUL de tip 1 – CREMA PV.
- În urma aplicării tratamentului imunologic se reduce intensitatea și severitatea manifestărilor bolii.
- În urma programului de tratament imunologic general și local cu produse biologice PC2 s-a constatat că la 14 zile de tratament, tubul digestiv devine funcțional. Leziunile din cavitatea bucală și esofag s-au vindecat la 5 zile de la tratamentul oral; pacienții pot consuma mâncare pasată și iau în greutate. Tratarea mucoasei respiratorii a condus la dispariția tusei, a răgușelii și a altor simptome legate de tractul respirator.
- După 30 zile de la începerea tratamentului cu produse biologice PC2, pielea și-a modificat structura, devenind mai groasă, mai elastică și mai rezistentă la șocuri. Încep să vindece cicatricile vechi, deformante, groase, s-au retras, lăsând în loc piele normală. Mai rar, au apărut bășici mici, care s-au spart și s-au vindecat repede. Bandajele au fost reduse cu 60%, iar pielea poate fi expusă la aer și soare. Apariția unui țesut al pielii mai elastic și mai rezistent, permite pacienților să meargă mai ușor și să se integreze în societate. Durerile articulare au dispărut, iar starea generală a fost radical îmbunătățită.
- Suprainfecțiile cu Staphylococcus aureus MRSA de la nivelul leziunilor buloase necesită tratament specific cu produse biologice PC2 care conțin anticorpi anti microbieni specifici. Dacă infecțiile sunt cauzate de alți germeni izolați de pe suprafața pielii sau mucoaselor, se poate aplica tratamentul personalizat, prin prepararea și aplicarea de produse biologice PC2 personalizate.

- Tratamentul cu produse biologice PC2 trebuie administrat și persoanelor care îngrijesc bolnavii cu EB.
- La pacienții la care dispar leziunile locale, se recomandă continuarea unui tratament de susținere imunologică, pentru o perioadă lungă de timp.
- Tratamentul se realizează ambulatoriu de către membrii familiei fără a necesita personal de specialitate.

Fotografii

Exemplu 1: Pacient în varsta de 8 ani, cazul Iași 1 (zona membrelor inferioare)

Tratamentul epidermolizei buloase s-a realizat pe cale generală (orală) și locală cu produse biologice PC2.

- **Figura 1a** este realizată la data prezentării pentru programul de tratament: reprezintă zona membrelor inferioare, cu leziuni buloase caracteristice, zone hemoragice cu piele fiabilă, ușor detașabilă.
- **Figura 1b** reprezintă zona membrelor inferioare după tratamentul cu produse biologice PC2: pielea și-a modificat structura, devenind mai groasă, mai elastică și mai rezistentă la șocuri; leziunile au început să se vindece. Cicatricile vechi, deformante, groase s-au retras, lăsând în schimb piele normală. Mai rar au apărut bășici mici, care s-au spart și s-au vindecat repede.



Fig.1a: înainte de tratament



Fig. 1b: după tratamentul cu produse biologice PC2

Exemplu 1: Pacient în vârstă de 8 ani, cazul Iași 1 (zona toracică)

Tratamentul epidermolizei buloase s-a realizat pe cale generală (orală) și locală cu produse biologice PC2.

- **Figura 1c** reprezintă zona toracică înainte de aplicarea tratamentului
- **Figura 1d** evidențiază lipsa leziunilor buloase după metodologia prezentată în această cerere de brevet folosind tratamentul general și local. Bandajele au fost reduse cu 60% și pielea a fost expusă la aer și soare. Lovindu-se accidental pacienta nu mai prezintă bașicile care apar în mod normal la pacienții netratați. După 14 zile de tratament leziunile pielii nu mai prezintă infecții cu *Staphylococcus aureus* MRSA datorită anticorpilor specifici prezenți în produsele biologice PC2.



Fig.1c: leziuni buloase înainte tratament



Fig. 1d: absența leziunilor buloase după tratament

Exemplu 2: Pacient în vârstă de 14 ani – Cazul Iași 2 (zona scapulo-humerală)

Tratamentul epidermolizei buloase s-a realizat pe cale generală (orală) și locală cu produse biologice PC2.

- **Figura 2a** este realizată la data prezentării pentru programul de tratament și reprezintă zona scapulo-humerală cu leziunile buloase specifice
- **Figura 2b** reprezintă aceeași zonă, unde leziunile buloase sunt mai reduse, iar plaga scapulo-humerală are tendința de cicatrizare



Fig.2a: zona scapulo-humerală înainte de tratament



Fig. 2b: zona scapulo-humerală după tratament

Exemplu 2: Pacient în vârstă de 14 ani – Cazul Iași 2 (zona antebrațului)

Tratamentul epidermolizei buloase s-a realizat pe cale generală (orală) și locală cu produse biologice PC2.

- **Figura 2c** reprezintă leziunile buloase la nivelul antebrațului înainte de aplicarea metodologică prezentată în această cerere de brevet
- **Figura 2d** reprezintă zona antebrațului unde după aplicarea tratamentului nu a mai fost prezente bășici; au apărut vezicule mici nedureroase care s-au vindecat în 3-4 zile.

După 3 luni de tratament pacienta merge și mănâncă normal, leziunile de pe talpă și cele din tractul digestiv dispărând.



Fig.2c: zona antebrațului înainte de tratament



Fig. 2d: zona antebrațului după tratament

Exemplu 3: Pacient în vârstă de 8 ani – Cazul Buziaș (zona spatelui)

Timp de 7 ani a urmat tratamentul cu unguente pe baza de cortizon fără rezultate.

Din 2016 a fost tratată după metodologia prezentată în această cerere de brevet folosind tratamentul imunologic produse biologice PC2 pe cale generală și locală.

- **Figura 3a** reprezintă leziuni buloase la nivelul spatelui
- **Figura 3b** după tratament leziunile buloase sunt absente, zona are tendința de vindecare, iar rănilile sunt epitelizate.



Fig.3a: zona spatelui înainte de tratament



Fig. 3b: zona spatelui după tratament

Exemplu 3: Pacient în vârstă de 8 ani – Cazul Buziaș (zona spatelui - regiunea cervicală)

Tratamentul imunologic al epidermolizei buloase s-a realizat pe cale generală (orală) și locală cu produse biologice PC2.

- **Figura 3c** reprezintă zona cervicală înainte de aplicarea terapiei cu produse biologice PC2; se observă leziuni buloase întinse, hemoragice
- **Figura 3d** după 14 zile de tratament leziunile din zona cervicală au început să se vindece; pe aceste zone au apărut cruste cauzatoare de prurit care au fost rupte de copil în timpul nopții.



Fig.3c: zona cervicală înainte de tratament



Fig. 3d: zona cervicală după tratament

Exemplu 4: Pacient în vârstă de 13 ani – Cazul Turda (zona toracică)

Din 2016 a fost tratat după metodologia prezentată în această cerere de brevet folosind tratamentul cu produse biologice PC2 personalizate. Tratamentul ambulatoriu a fost aplicat de mamă.

După 20 de zile, leziunile ulcerative de pe limbă și mucoasa bucală s-a retras, copilul a prezentat apetit. Tratamentul a fost administrat cu pauze, pacienta nefiind cooperantă. Produse biologice PC2 personalizate au fost utilizate pentru tratament.

În aceste condiții au apărut mai rar mici vezicule și abcese. Pacientul a prezentat prurit permanent care încetinea procesul de vindecare. În prezent pacientul continuă administrarea de tratament imunologic, iar starea este foarte bună.

- **Figura 4a** este realizată înainte de aplicarea tratamentului unde sunt evidente leziuni buloase la nivelul toracelui cu zone hemoragice întinse
- **Figura 4b** reprezintă zona toracică după începerea tratamentului descries în această cerere de brevet, unde leziunile buloase sunt mai puțin evidente iar zonele hemoragice mult mai reduse



Fig.4a: zona toracică înainte de tratament



Fig. 4b: zona toracică după tratament

Exemplu 4: Pacient în vârstă de 13 ani – Cazul Turada (zona membrelor inferioare)

Din 2016 a fost tratat după metodologia prezentată în această cerere de brevet folosind tratamentul cu produse biologice PC2 personalizate. Tratamentul ambulatoriu a fost aplicat de mamă.

- **Figura 4c** este realizată înainte de tratament, unde leziunile buloase de la nivelul membranelor inferioare sunt numeroase și evidente
- **Figura 4d** reprezintă leziunile de la același nivel după aplicarea de tratament cu produse biologice PC2 personalizate



Fig.4c: zona membranelor inferioare înainte de tratament

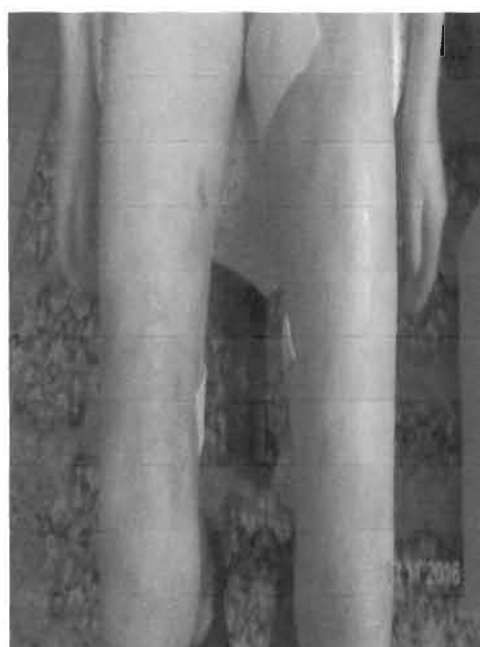


Fig. 4d: zona membranelor după tratament

BIBLIOGRAFIE

1. Ahmed AR, Gürcan HM (2012), Treatment of epidermolysis bullosa acquisita with intravenous immunoglobulin in patients non-responsive to conventional therapy: clinical outcome and post-treatment long-term follow-up, *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 26 (9): 1074-83
2. Ayse Oktem, Bengu Nisa Akay, Ayse Boyvat, Nihal Kundakci, Cengizhan Erdem, Seher Bostancı, Hatice Sanli & Pelin Kocyigit (2017), Long-term results of rituximab–intravenous immunoglobulin combination therapy in patients with epidermolysis bullosa acquisita resistant to conventional therapy, *Journal of Dermatology Treatment*, 28(1): 50-54;
3. Brown Sarah Madeline, Philip Jeremy Hampton (2016) Haemolytic Anaemia Following High Dose Intravenous Immunoglobulin Treatment for epidermolysis Bullosa Acquisita, *Pharmacology & Pharmacy*, 7: 25-28;
4. Chiurciu Constantin, Viorica Chiurciu, Mariana Oporanu, Ionel Victor Patrascu, Iuliana Mihai, Madalina Tablica and Romeo Teodor Cristina (2017) PC2 Ovotransferrin: Characterization and Alternative Immunotherapeutic Activity, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, article ID 8671271, 11 pages;
5. Chiurciu Constantin, Viorica Chiurciu, Violeta Ionescu, Georgiana Radu, Lucica Sima, Mariana Oporanu, Ionel Victor Patrascu (2017) Biological products PC2 part.2, Methicillin-resistan Staphylococcus aureus infection treatment in humans, *One Health International Journal*, 3 (1): 59-63;
6. Croom Daniel L., Dirk M. Elston (2016), Epidermolysis Bullosa Acquisita Clinical Presentation, *Medscape*, article/1063083-clinical;
7. Ferrari S, Pellegrini G, Matsui T, Mavilio F, De Luca M (2006 Apr), Gene therapy in combination with tissue engineering to treat epidermolysis bullosa, *Expert Opin Biol Ther.*; 6(4):367-78.



8. Fine Jo-David, Robin A.J. Eady, Eugene A. Bauer, Johann W. Bauer, Leena Bruckner-Tuderman, Adrian Heagerty, Helmut Hintner, Alain Hovnanian, Marcel F. Jonkman, Irene Leigh, John A. McGrath, Jemina E. Mellerio, Dedee F. Murrell, Hiroshi Shimizu, Jouni Uitto, Anders Vahlquist, David Woodley, Giovanna Zambruno (2008), The classification of inherited epidermolysis bullosa (EB): Report of the Third International Consensus Meeting on Diagnosis and Classification of EB, *J Am Acad Dermatol*, 58: 931-50;
9. Fine Jo-David, Johnson Lorraine B., Werner Madeline, Suchindran Chirayath (2008), Gastrointestinal Complications of Inherited Epidermolysis Bullosa: Cumulative Experience of the National Epidermolysis Bullosa registry, *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, 46(2): 147-158
10. Gourgiotou K, Exadaktylou D, Aroni K (2002), Epidermolysis bullosa acquisita: treatment with intravenous immunoglobulins, *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 16:77-80;
11. Intong R.A. Lizbeth, Dédé F. Murrell (2012), Inherited epidermolysis bullosa: New diagnostic criteria and classification, *Clinics in Dermatology*, 30:70-77;
12. Ishii Norito, Takahiro Hamada, Teruki Dainichi, Tadashi Karashima, Takekuni Nakama, Shinichiro Yasumoto, Detlef Zillikens (2010), Epidermolysis bullosa acquisita: What's new?, *Journal of Dermatology*, 37:220-230
13. Jenny Tu, Prasad W Kumarasinghe (2011), Epidermolysis bullosa acquisita with moderately severe dysphagia due to esophageal strictures, *Indian Journal of Dermatology*, 56(2): 224-227;
14. Jeremy P. Banky, Adam T. Sheridan, Emma L. Storer (2004), Successful Treatment of Epidermolysis Bullosa Pruriginosa With Topical Tacrolimus, *Arch Dermatol*. 140(7):794-796
15. Jolles S., WAC Sewell and SA Misbah (2005), Clinical uses of intravenous immunoglobulin, *Clinical & Experimental Immunology*; 142(1): 1-11;
16. Lyubomir A. Dourmishev, Dimitrina V. Guleva, and Ljubka G. Miteva (2016), Intravenous Immunoglobulins: Mode of Action and Indications in Autoimmune and

Inflammatory Dermatoses, International Journal of Inflammation, article ID 3523057,
6 pages

17. Marinkovich M.P-Development of improved trans-splicing molecules for major types of epidermolysis bullosa (2016) – Research projects://www.debra international.org.
18. Mohr C., C. Sunderkötter, A. Hildebrand, K. Biel, A. Rütter, T.A. Luger and G. Kolde (1995), Successful treatment of epidermolysis bullosa acquisita using intravenous immunoglobulins, British Journal of Dermatology, 132: 824-826;
19. Niedermeier Andrea, Rüdiger Eming, Martin Pfützte, Cristine E. Neumann, Claudia Happed, Kristian Reich, Michael Hertl (2007) Clinical Response o Severe Mechanobullous Epidermolysis Bullosa Acquisita to Combined Treatment With Immunoabsorption and Rituximab (Anti-CD20 Monoclonal Antibodies), Arch Dermatol; 143(2): 192-198;
20. Prins Christa, Erwin W. Gelfand and Lars E. French (2007), Intravenous Immunoglobulin: Properties, Mode of Action and Practical Use in Dermatology, Acta Derm Venereol, 87:206-218;
21. Puvabanditsin Surasak, Dirk M. Elston, Rajev Mehta (2017), Pediatric Epidermolysis Bullosa Treatment & Management, Medscape, article/909549
22. Rashmi Sarkar, Shuchi Bansal, Vijay Kumar Garg (2011) Epidermolysis bullosa: Where do we stand?, Symposium – vesicobullous disorders, 77(4): 431-438
23. Rishu Gupta, David T. Woodley and Mei Chen (2012) Epidermolysis Bullosa Acquisita, Clinics in Dermatology, 30 (1): 60-69;
24. Ruşinoiu Alina, Ana Maria Dobrescu, Tania Cristodulo, Carmen Maria Salavastru, Adina Alexandru, Sanda Popescu, G.S. Tiplica (2009), Epidermoliza Bulloasă – Două cazuri clinice, DermatoVenerol, 54: 101-105;
25. Sima Lucica, Constantin Chiurciu, Viorica Chiurciu, Ionel Victor Pătraşcu (2017), Biological products PC2 Part.1, Oral and tropical treatment of Psoriasis Vulgaris in humans, One Health International Journal, 3 (1): 53-58

26. Thais M. Oliveira; Vivien T. Sakai; Liliani A. Candido; Salete M. B. Silva, Maria Aparecida A. M. Machado (2008), Clinical management for epidermolysis bullosa dystrophica, J Appl Oral 16 (1)
27. Tolar Jakub, Akemi Ishida-Yamamoto, Megan Riddle, Ron T. McElmurry, Mark Osborn, Lily Xia, Troy Lund, Catherine Slattery, Jouni Uitto, Angela M. Christiano, John E. Wagner and Bruce R. Blazar (2016), Amelioration of epidermolysis by transfer of wild-type bone marrow cells, Blood, 113: 1167-1174);
28. Uitto Jouni, John A. McGrath, Ulrich Rodeck, Leena Brukner-Tuderman and E. Clare Robinson (2010), Progress in Epidermolysis Bullosa Research: Toward treatment and Cure, Journal of Investigative Dermatology; 130:1778-1784;

BREVETE

1. Caufiel Craig Eugene, John Henry Musser, Surendra Nath Sehgal – **“Method of treating immunoinflammatory disease”** – Brevet nr. CA 2078379 C
2. Coloumbe A.Pierre, Michelle L. Kerns – **“Nrf2 inducers for treating epidermolysis bullosa simplex”** – Brevet nr. WO2009014624 A2
3. Gelfand Joel – **“Treatment of autoimmune blistering disease using anti-IgE antibody”** – Brevet nr. WO2007095230 A2
4. Marinkovich M.Peter, Alfred T.Lane, Jayakumar Rajadas – **“Production and delivery of a stable collagen”** – Brevet nr. WO2012149136 A1
5. Pătrașcu Ionel Victor, Viorica Chiurciu, Chiurciu Constantin și Georgiana Topilescu - **“Procedeu de obținere și utilizare a imunoglobulinelor de găina (IgY)”** - Brevet nr. RO A/00156 din 25.02.2014;
6. Pătrașcu Ionel Victor, Viorica Chiurciu, Chiurciu Constantin, Mariana Oporanu și Georgiana Topilescu - **“Producerea și utilizarea ovotranseferinelor moderne (OTF-M)”** - Brevet nr. RO A/00653 din 28.08.2014, OSIM Monitorul Oficial 2/2015, p.29;

RS

7. Pătrașcu Ionel Victor, Viorica Chiurciu, Chiurciu Constantin, Mariana Oporanu, Georgiana Topilescu și Iuliana Mihai -- **“Producerea și folosirea oului hiperimun PC2”** - Brevet nr. RO A/00810 din 29.10.2014, OSIM Monitorul Oficial 5/2015, p.20
8. Pătrașcu Ionel Victor, Viorica Chiurciu, Chiurciu Constantin, Mariana Oporanu, Georgiana Topilescu și Iuliana Mihai - **“Producerea și utilizarea ovotransferinei PC2 (OTf-PC2)”** - Brevet nr. RO A/00008 din 13.01.2015, OSIM Monitorul Oficial 7/2015, p.26.
9. Pătrașcu Ionel Victor, Viorica Chiurciu, Constantin Chiurciu, Lucica Sima și Iuliana Mihai – **“Producerea și utilizarea oului hiperimun (ovopach) în tratamentul personalizat al psoriazisului”** – Brevet nr. RO A/00735 din 16.10.2015, OSIM Monitorul Oficial 3/2016, p.16.
10. Taylor A. Lesli, Ralph L. Bass – **“Method for treating dermatological conditions including impeto”** – Brevet nr. US 5869104 A

REVENDICĂRI

TITLUL:

PROCEDEU DE TRATAMENT IMUNOLOGIC CU PRODUSE BIOLOGICE PC2 IN EPIDERMOLIZA BULOASĂ

AUTORI:

Chiurciu C-tin., Lucica Sima, Mariana Oporanu, Alina Ioana Dimulescu,

Daniela Țiplea, Viorica Chiurciu

1. Prezenta invenție descrie un procedeu de tratament imunologic al EB folosind produse biologice PC2 obținute din ouă hiperimun și produse biologice PC2 similare personalizate, obținute din ouă hiperimune personalizate
2. Revendicarea metodei de la punctual 1 se **caracterizează prin aceea că** tratamentul general se efectuează prin administrarea orală a soluției sterilă, flacon 80 ml ce conține imunoglobulina Y specifică.
3. Revendicarea metodei de la punctual 1 se **caracterizează prin aceea că** tratamentul general se completează prin administrarea orală a pulberii liofilizate de ou hiperimun integral.
4. Revendicarea metodei de la punctul 1 **se caracterizează prin aceea că** se efectuează tratamentul local al zonelor afectate folosind imunoglobulina Y spray și/sau proteine purificate din albuș de ou hiperimun.
5. Revendicarea metodei de la punctul 1 **se caracterizează prin aceea că** se efectuează tratamentul local al leziunilor buloase folosind unguentul de tip 1 care conține pulbere de ou hiperimun.
6. Revendicarea metodei de la punctual 1 se **caracterizează prin aceea că** tratamentul general se efectuează prin administrarea orală a soluției sterilă, flacon 80 ml ce conține imunoglobulina Y specifică, personalizată.
7. Revendicarea metodei de la punctual 1 se **caracterizează prin aceea că** tratamentul general se completează prin administrarea orală a pulberii liofilizate de ou hiperimun integral, personalizat.

8. Revendicarea metodei de la punctul 1 **se caracterizează prin aceea că** se efectuează tratamentul local al zonelor afectate folosind imunoglobulina Y spray și/sau proteine purificate din albuș de ou hiperimun personalizat.
9. Revendicarea metodei de la punctul 1 **se caracterizează prin aceea că** se efectuează tratamentul local al leziunilor buloase folosind unguentul de tip 1 care conține pulbere de ou hiperimun personalizat.
10. Revendicarea metodei de la punctul 1 **se caracterizează prin aceea că** imunoglobulina Y (IgY) din produsele biologice PC2, aplicată pe cale orală și cutanată își menține funcțiile antimicrobiene, antiinflamatorii și imunomodulatoare.
11. Revendicarea metodei de la punctul 1 **se caracterizează prin aceea că** produsele biologice PC2 acționează specific în tubul digestiv și pe piele, asupra germenilor patogeni cu care au fost imunizate găinile.
12. Revendicarea metodei de la punctul 1 **se caracterizează prin aceea că** produsele biologice PC2 se pot folosi în tratamentul cutanat al infecției cu Staphylococcus aureus MRSA izolat din țesutul afectat.
13. Revendicarea metodei de la punctul 1 **se caracterizează prin aceea că** tratamentul cu produsele biologice PC2 se poate aplica în cazul copiilor care nu pot urma tratamentul cu medicamente de sinteză.
14. Revendicarea metodei de la punctul 1 **se caracterizează prin aceea că** tratamentul se realizează acasă de către membrii familiei, fără a necesita personal de specialitate.

146

Revendicări

1. Procedeu de obținere a unor produse biologice utilizate în tratamentul epidermolizei buloase cu leziuni infectate cu agenți patogeni, **caracterizat prin aceea că** se prepară un amestec de antigene bacteriene și fungice inactivate, patogene pentru om, pentru tratament general și din tulpini bacteriene prelevate din leziunile buloase de pe întreg corpul pentru tratament personalizat, antigenele se inoculează la găini convenționale sau libere de germeni specifici (SPF), iar după perioada de imunizare se colectează ouă pentru evaluarea răspunsului imun, gălbenușul se prelucrează pentru extracția imunoglobulinei Y specifice (IgY) față de antigenele inoculate, albușul se purifică rezultând fracțiuni proteice imunologic active care se condiționează în funcție de calea de administrare.
2. Procedeu, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** produsele atât pentru tratamentul general cât și pentru tratamentul personalizat se condiționează sub forma de ou integral liofilizat, soluție sterilă buvabilă, pulverizabilă sau sub formă de aerosoli, pentru calea de administrare locală sau sub formă de unguent/cremă conținând IgY pentru calea de administrare cutanată.
3. Procedeu, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** produsele au efect antibacterian, antiinflamator și imunomodulator fiind active asupra antigenelor cu care au fost inoculate găinile.

