

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

فهرست:

فصل ۱: مقدمه و شناخت طرح	۱
مقدمه	۲
۱- بیماری اسهال در دام	۲
۱-۱- ایمونوتراپی چیست	۳
۱-۲- آنتی بادی تراپی در درمان بیماری اسهال	۳
۳-۱- آنتی بادی‌ها تجاری در کنترل بیماری اسهال دام	۴
۴-۱- خلاصه پروژه	۷
۱-۵- خرید و نصب ماشین آلات بسته بندی و تجهیزات خط پودر و پیگیری مجوز تولید دارو الکترولیت پلاس	۸
۱-۵-۱- مذاکرات، پیگیری همکاری با واحد های داروسازی	۸
۱-۵-۱-۱- شرکت داروسازی ریحان نقش جهان	۸
۲-۵-۱- خرید ماشین آلات و تجهیزات میکس و بسته بندی محصول الکترولیت	۱۰
۱-۵-۲-۱- استعلامات دستگاه ساشه پرکن	۱۰
۲-۵-۲-۱- قرارداد ساخت و مراحل تا اخذ دستگاه ساشه پرکن	۱۰
۳-۵-۱- راه اندازی خط تولید و اخذ مجوز از سازمان دامپزشکی	۱۱
۳-۵-۱-۱- پیگیری اخذ مجوز از سازمان دامپزشکی	۱۱
۲-۵-۳-۱- مراحل تست پایداری محصول	۱۱
۳-۵-۳-۱- توقف فرآیند اخذ مجوز	۱۲
فصل ۲: تولید و تایید آنتی ژن	۱۳
۱-۲- مطالعات <i>E.coli</i> K۹۹	۱۴
۲-۲- تهیه سویه، کشت و تست های بیوشیمیایی	۱۵
۳-۲- غیر فعال سازی و تهیه آنتی ژن <i>E.coli</i> K۹۹	۱۷
۴-۲- تایید آنتی ژن با تست الیزا اختصاصی	۱۸
۵-۲- کشت و استخراج کریپتوز پرودیوم	۲۰
۱-۵-۲- جداسازی و تشخیص کریپتوسپوریدیوم	۲۳
۲-۵-۲- تهیه آنتی ژن خام از اووسیست های کریپتوسپوریدیوم پارووم	۲۵
۳-۵-۲- رها سازی اسپوروزوئیت های انگل	۲۵

۲۵	۴-۵-۲ تکثیر در تخم مرغ جنین دار SPF
۲۶	۶-۲ معرفی روتاویروس
۲۸	۱-۶-۲ واکسنهای روتاویروس دارای مجوز
۲۹	۲-۶-۲ بخش های آنتی ژنیک در روتاویروس
۳۱	۳-۶-۲ بیان آنتیژن NSP۴ در <i>E.coli</i>
۴۰	۴-۶-۲ بررسی اثر آنتی بادی NSP۴
۴۵	۵-۶-۲ بررسی همردیف سازی توالی ها (Alignment)
۴۸	فصل ۳: ایمونیزاسیون، فرآوری و تخلیص آنتی بادی
۴۹	۱-۳ آماده سازی آنتی ژن و ایمونیزاسیون
۴۹	۲-۳ فرآوری محلول حاوی آنتی بادی
۵۰	۳-۳ تخلیص آنتی بادی
۵۰	۴-۳ بررسی غلظت و تایید آنتی بادی تخلیص شده
۵۰	۱-۴-۳ تعیین غلظت پروتئین با تست برادفورد
۵۱	۲-۴-۳ بررسی آنتی بادی استخراج شده با استفاده از ژل پلی آکریل آمید (SDS-PAGE)
۵۲	۵-۳ بررسی کیفیت اتصال اختصاصی آنتی بادی
۵۲	۱-۵-۳ بررسی کیفیت اتصال اختصاصی آنتی بادی علیه <i>E.Coli K۹۹</i>
۵۴	۲-۵-۳ تست الیزا اتصال اختصاصی NSP۴ روتاویروس به آنتی بادی
۵۵	۳-۵-۳ تست الیزا اتصال اختصاصی آنتی بادی علیه کریپتوزپوریدیوم
۵۶	۶-۳ الیزا تعیین تیتراژ آنتی بادی کل (Total IgY Concentration)
۵۷	۷-۳ الیزا غیر مستقیم (آنتی بادی اختصاصی IgY)
۵۹	۸-۳ بررسی ساختار آنتی بادی
۵۹	۱-۸-۳ آنالیزهای میکروسکوپی
۵۹	۲-۸-۳ آنالیز ساختار ثانویه با استفاده از تکنیک FTIR
۶۱	فصل ۴: واکنش های آنتی بادی استخراج شده در شرایط (Invitro)
۶۲	۱-۴ تست آگلوتیناسیون لامی با آنتی بادی استخراج شده اختصاصی K۹۹
۶۲	۲-۴ تست های میکروبی Invitro
۶۲	۱-۲-۴ بررسی تاثیر مهار کنندگی پودر حاوی آنتی بادی بر رشد باکتری <i>E.coli K۹۹</i>
۶۲	۱-۱-۲-۴ تهیه کشت فعال باکتری <i>E.coli K99</i>
۶۳	۲-۱-۲-۴ مراحل آماده سازی محلول حاوی آنتی بادی

۳-۱-۲-۴	بررسی تاثیر مهار کنندگی پودر آنتی بادی بر رشد باکتری <i>E.coli</i> K99	۶۳
۳-۴	تعیین MIC و MBC به روش میکروتیتر پلیت	۶۵
۴-۴	بررسی مورفولوژی سلول باکتری توسط میکروسکوپ نوری پس از تیمار با آنتی بادی	۶۷
۵	بررسی اثر آنتی بادی های اختصاصی علیه باکتری <i>E.coli</i> K99 در شرایط (<i>In vivo</i>)	۶۹
۵-مقدمه		۷۱
۵-۱	آماده سازی و اجرای مطالعه	۷۱
۵-۲	بررسی تاثیر خوراک حاوی آنتی بادی در بهبود علائم بالینی ناشی از <i>E.coli</i> K99	۷۱
۵-۳	کشت و بررسی میزان ریزش باکتری در مدفوع	۷۳
۵-۴	آنالیز های هیستولوژی	۷۴
۵-۵	آنالیز پروتئین های سرم	۷۷
۵-۶	واکنش دهنده های فاز حاد	۷۹
۶	مطالعات و ساخت خمیر حاوی آنتی بادی	۸۲
۶-۱	توسعه و تولید محصولات پایه خمیر	۸۳
۶-۲	مطالعه محصولات خمیر	۸۳
۶-۳	فرمول پایه خمیر	۸۵
۶-۴	نهایی سازی نمونه با ماده موثر و تولید نمونه	۸۵
۶-۵	ارزیابی ویژگی های ظاهری خمیر	۸۶
۶-۵-۱	تست تعیین تغییرات PH خمیر	۸۶
۶-۵-۲	تعیین درصد آب خمیر	۸۶
۶-۵-۳	تعیین درصد رطوبت خمیر	۸۸
۶-۵-۴	تعیین ویسکوزیته خمیر	۸۹
۷	تاثیر خمیر حاوی آنتی بادی بر سلامت گوساله های تازه متولد شده	۹۲
۷-تست فارمی		۹۳
۷-۱	شرایط نگهداری و برنامه خمیر شیر دهی	۹۳
۷-۲	نحوه ورود گوساله ها و تعیین صفات مورد اندازه گیری	۹۴
۷-۳	آنالیز آغاز	۹۶
۷-۴	بررسی حضور IgY در نمونه های سرم و مدفوع	۹۷
۷-۵	بررسی سن ابتلا، شدت و مدت بیماری در دو گروه تیمار و شاهد	۱۰۰
۷-۶	بررسی سطح پروتئین های پلاسما در گوساله های سالم و مبتلا به اسهال	۱۰۱
۷-۷	بررسی پروتئین های فاز حاد در گوساله های مبتلا در دو گروه شاهد و تیمار	۱۰۳

۸-۷- بررسی وزن، اسکلت بدن در دو گروه تیمار و شاهد.....	۱۰۴
۹-۷- نتیجه گیری و بحث.....	۱۰۵
Reference.....	۱۰۶
پیوست ها.....	۱۱۲
پیوست شماره ۱: پروپوزال طرح.....	۱۱۳
پیوست ۲: قرارداد با داروسازی ریحان نقش جهان.....	۱۳۵
پیوست شماره ۳: قرار داد با داروسازی امین.....	۱۳۹
پیوست شماره ۴: رزومه شرکت بسته بندی شادمهر:.....	۱۵۰
پیوست شماره ۵: قرار داد با شرکت صنایع بسته بندی شادمهر.....	۱۵۹
پیوست ۶: گزارش بازدید از دستگاه پر کن ساشه.....	۱۶۵
پیوست شماره ۷: SMF الکتروولیت پلاس.....	۱۶۶
پیوست شماره ۸: موافقت اولیه سازمان دامپزشکی.....	۱۸۸
پیوست شماره ۹: مستندات تست پایداری محصول الکتروولیت پلاس.....	۱۸۹
پیوست شماره ۱۰: فرم های طراحی شده جهت اجرا فارم تست.....	۱۹۴
پیوست شماره ۱۱: توجیه اقتصادی طرح.....	۱۹۸

فهرست شکل

- شکل ۱: بسته بندی محصول Colostrin شرکت Josera ۵
- شکل ۲: یک بسته بندی محصول فرست دیفنس شرکت ImmuCell ۵
- شکل ۳: نامه اتمام همکاری داروسازی امین ۱۲
- شکل ۴: کشت باکتری E.coli K99 ۱۶
- شکل ۵: کشت تایید باکتری ۱۶
- شکل ۶: مراحل شست و شو و تهیه غلظت استاندارد باکتری ۱۷
- شکل ۷: بررسی عدم رشد باکتری غیر فعال شده در سطح محیط بلاد آگار ۱۸
- شکل ۸: الیزا اختصاصی تشخیص آنتی ژن استخراج شده از E.coli k99 ۱۹
- شکل ۹: جذب نمونه های کنترل کیت و نمونه آنتی ژن خالص شده ۲۰
- شکل ۱۰: چرخه زندگی کریپتوزپرودیوم پارووم ۲۱
- شکل ۱۱: جمع آوری، تست و نگهداری نمونه های مدفوع آلوده به کریپتوسپوریديوم ۲۳
- شکل ۱۲: رسوب حاوی اووسیت سمت راست، مراحل آماده سازی لام از انگل کریپتوسپوریديوم سمت چپ ۲۴
- شکل ۱۳: ساختار روتاویروس ۲۷
- شکل ۱۴: نقشه شماتیک عملکرد دومینهای NSP4 خطی ۳۱
- شکل ۱۵: ساختار pCYT:NSP4 و pSEC:NSP4 ۳۲
- شکل ۱۶: تولید NSP4 در باکتری L. lactis در وکتور pCYT: NSP4 و pSEC: NSP4 ۳۲
- شکل ۱۷: آنالیز بیان پروتئین NSP4 روی ژل SDS-PAGE ۳۳
- شکل ۱۸: بیان پروتئین GST-EW-NSP486-175 در E. coli ۳۳
- شکل ۱۹: پروتئین تخلیص شده GST-EW-NSP486-175 و GST روی ژل SDS-PAGE ۳۴
- شکل ۲۰: نمایش شماتیک پروتئین کامل NSP4 و نواحی برش خورده NSP4 بیان شده در E. coli ۳۴
- شکل ۲۱: بیان NSP4 کامل و نواحی برش خورده NSP4 ۳۵
- شکل ۲۲: بیان و خالص سازی پروتئین NSP4 پرندگان و پروتئین PO-13 VP8 ۳۵
- شکل ۲۳: بیان و خاص سازی پروتئینهای الحاقی GST-NSP4 سویه GST PO-13 ۳۶
- شکل ۲۴: طراحی ساختار، بیان، خالص سازی و وسترن بلات پروتئین نو ترکیب NSP4 روتاویروس گاوی ۳۷
- شکل ۲۵: وسترن بلات پروتئین GST-NSP486-175 ۴۰
- شکل ۲۶: تاثیر زود هنگام آنتی بادی ضد NSP4 به موش های ICR در ۱۲ روزگی ۴۰
- شکل ۲۷: تغییرات بافتی روده کوچک ۴۱
- شکل ۲۸: مداخله دیر هنگام با آنتی بادی anti-NSP486-175 ۴۱
- شکل ۲۹: تغییرات بافتی روده کوچک در مطالعه آنتی بادی ضد NSP4 ۴۲
- شکل ۳۰: پاسخ آنتی بادی IgG به NSP4 ها در گاوهای گنوبیوتیک آلوده به روتاویروس گاوی ۴۳
- شکل ۳۱: پاسخ آنتی بادی IgG و IgA به NSP4 ها در خوک های آلوده به ویروس ۴۴
- شکل ۳۲: هم ردیفی UK NSP4112-175 با سایر NSP4 ها در برنامه ClustalX 2.1 ۴۶
- شکل ۳۳: هم ردیفی توالی بین NSP4112-175 روتاویروس سویه UK گاوی با B223 ۴۷
- شکل ۳۴: دستگاه خشک کن انجمادی ۴۹
- شکل ۳۵: SDS PAGE احیایی همراه با ژل ۱۲٪ ۵۲

شکل ۳۶: الیزا اختصاصی آنتی بادی علیه آنتی ژن F5.....	۵۴
شکل ۳۷: میزان جذب نمونه ها در تست اتصال اختصاصی.....	۵۴
شکل ۳۸: روش تهیه استانداردها و بلنک مطابق کیت بتیل.....	۵۶
شکل ۳۹: تصویر شماتیک مراحل الیزا تعیین تیتراژ آنتی بادی کل.....	۵۷
شکل ۴۰: نمودار استاندارد جهت تعیین غلظت آنتی بادی.....	۵۷
شکل ۴۱: مراحل شماتیک اجرای الیزا Indirect.....	۵۸
شکل ۴۲: میزان غلظت آنتی بادی اختصاصیه.....	۵۸
شکل ۴۳: نتایج SEM محصول آنتیبادی فرآوری شده با تکنیک خشک کن انجمادی.....	۵۹
شکل ۴۴: نتایج FTIR آنتیبادی قبل و بعد از فرآوری با تکنیک فریز دری.....	۶۰
شکل ۴۵: تست آگلوتیناسیون لامی با محلول ماده موثره حاوی آنتی سرم اختصاصی K99.....	۶۲
شکل ۴۶: منحنی مهار رشد باکتری E.coli K99.....	۶۵
شکل ۴۷: درصد مهار رشد باکتری E.coli K99.....	۶۶
شکل ۴۸: تصاویر میکروسکوپ نوری از رنگ آمیزی گرم باکتری E.coli K99.....	۶۸
شکل ۴۹: نمودار تاثیر خوراک حاوی آنتی بادی اختصاصی و خوراک نرمال بر تغییرات وزن موش ها.....	۷۲
شکل ۵۰: نمودار امتیاز مدفوع موش ها در طی دوره آزمایش.....	۷۳
شکل ۵۱: نمودار میزان ریزش مدفوعی باکتری در طی زمان آزمایش.....	۷۴
شکل ۵۲: تصاویر هیستولوژی.....	۷۵
شکل ۵۳: اندازه گیری پروتئین تام.....	۷۷
شکل ۵۴: اندازه گیری آلبومین (سمت راست) و گلوبولین (سمت چپ).....	۷۸
شکل ۵۵: اندازه گیری هاپتوگلوبین (سمت راست) و CRP (سمت چپ).....	۸۰
شکل ۵۶: اندازه گیری اینترلوکین ۱ بتا (سمت راست) و TNF- α (سمت چپ).....	۸۱
شکل ۵۷: محاسبه میزان آب خمیر نهایی فرموله شده با استفاده از دستگاه کارل فیشر.....	۸۸
شکل ۵۸: محاسبه ویسکوز خمیر نهایی فرموله شده با استفاده از دستگاه ویسکوزمتر.....	۹۱
شکل ۵۹: تصاویری از محل اجرای فارم تست.....	۹۴
شکل ۶۰: نحوه ورود گوساله ها به طرح.....	۹۴
شکل ۶۱: جدول نمره دهی سلامت گوساله دانشگاه ویسکانسین.....	۹۵
شکل ۶۲: خلاصه ی شماتیک برنامه طرح.....	۹۶
شکل ۶۳: نحوه ورود آنتی بادی ها به خون از طریق اتصالات سلولی.....	۹۷
شکل ۶۴: الیزا تشخیص حضور آنتی بادی در نمونه های خون و مدفوع.....	۹۸
شکل ۶۵: الیزا حضور IgY در نمونه های سرم در روزهای مختلف پس خمیردهی.....	۹۹
شکل ۶۶: تست الیزا جهت تشخیص IgY در نمونه های مدفوع.....	۹۹
شکل ۶۷: الیزا تشخیص پاتوژن بیماری زا.....	۱۰۱
شکل ۶۸: بررسی تغییرات وزن در دو گروه شاهد و تیمار در روزهای ۱۴، ۲۱، ۳۵ و ۵۳ پس از تولد.....	۱۰۵

فهرست جدول

جدول ۱: بیان پروتئین نو ترکیب NSP4 بر اساس گزارشات مطالعات مختلف.....	۳۸
جدول ۲: مطالعات چالش متقابل سویه‌های روتاویروس خوکی.....	۴۵
جدول ۳: هم‌دیفی‌توالی بین NSP4 روتاویروس سویه UK گاوی با سایر NSP4 ها.....	۴۶
جدول ۴: محتویات کیت الایزا بایوایکس.....	۵۳
جدول ۵: طراحی الایزا و نتایج خوانش جذب هر چاهک.....	۵۳
جدول ۶: بررسی طول ویلی و کریپت در ایلئوم و ژژنوم.....	۷۶
جدول ۷: آنالیز آغاز و بررسی میزان آنتی بادی و پروتئین کل.....	۹۷
جدول ۸: بررسی سلامت گوساله بر اساس جدول نمره دهی ویسکاس.....	۱۰۰
جدول ۹: بررسی سن ابتلا و میزان تلفات در گوساله ها.....	۱۰۱
جدول ۱۰: بررسی سطح پروتئین های پلاسما در گوساله های سالم در روزهای ۵، ۱۰ و ۲۱ روزگی.....	۱۰۲
جدول ۱۱: بررسی سطح پروتئین های پلاسما در گوساله های بیمار در روزهای ۲، ۴ و ۶ پس از بیماری.....	۱۰۳
جدول ۱۲: بررسی میزان پروتئین های فاز حاد در گوساله های بیمار در روزهای ۲، ۴ و ۶ پس از بیماری.....	۱۰۴



گزارش طرح کلان ملی

عنوان طرح:

تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام

مجری/مجریان

سیروس قائدی

پژوهشکده

پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست فناوری

ناظر/ناظرین

دکتر بابا شمسی

فصل ۱: مقدمه و شناخت طرح

مقدمه

همزمان با توسعه صنعت دام، طیور و آبزیان در ایران همانند بسیاری از کشورهای دیگر، موضوع کنترل بیماری های طیور، دام و آبزیان یکی از چالش های اساسی مدیریت کلان کشوری بوده است. متأسفانه اجرای ناقص قرنطینه و استفاده غیر اصولی از راه کارهای درمانی (مصرف بی رویه آنتی بیوتیک) چالشی بس بزرگ در روند توسعه صنعت دامپروری ایجاد کرده است. این چالش دو بعد مهم و موثر در پی داشته یکی آنکه هزینه تولید دام را به شدت افزایش می دهد و دیگر آنکه افزایش مقاومت در برابر آنتی بیوتیک ها را به همراه داشته است. مقاومت آنتی بیوتیکی نه تنها برای دام، طیور و آبزیان تهدید محسوب می شود بلکه این مقاومت با واسطه تغذیه به زیست بوم انسانی نیز سرایت می کند و بحران فعلی مشکلات درمان بیماری های عفونی در انسان و دام را به همراه خواهد داشت. میزان مصرف آنتی بیوتیک در ایران ۱۶ برابر استاندارد جهانی و به میزان کل مصرف آنتی بیوتیک در قاره اروپا می باشد و این در حالی است که بیش از نیمی از آنتی بیوتیک مصرفی در دنیا در بخش پرورش دام و طیور متمرکز است (۱).

اهمیت انتخاب درمان بیماری های دامی با آنتی بادی و جایگزینی آن با درمان آنتی بیوتیکی این است که با افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در درمان بیماری های دامی، نه تنها هزینه تولید دام در دامپروری ها افزایش یافته، بلکه واردات آنتی بیوتیک های نسل جدید، معبری برای خروج ارز از کشور باز کرده که مشکلات اخیر ارزی و تخصیص ردیف مناسب ارزی، چالش های درمان بیماری ها را دوچندان کرده است (۲).

تولید انبوه دام های جوان و سالم برای دستیابی به موفقیت اقتصادی و تامین آینده گله های گاو شیری، گوسفند و بز ضروری هستند. از آنجایی که اغلب مدیران در دامداری های بزرگ، سالانه ۲۵ تا ۳۵ درصد از گله را حذف می کنند، باید تولید دام جوان در حد کافی برای جایگزین کردن در اختیار داشته باشند. اسهال در دام های تازه به دنیا آمده یکی از دلایل اصلی افت عملکرد و یا تلفات آنها در دوران شیرخوارگی است. برآوردها نشان می دهد که ۵۰ درصد از تلفات گوساله ها و بره ها در دوران پیش از شیرگیری مربوط به اسهال می باشد.

۱- بیماری اسهال در دام

همزمان با توسعه صنعت دام، طیور و آبزیان در ایران همانند بسیاری از کشورهای دیگر، موضوع کنترل بیماری های طیور، دام و آبزیان یکی از چالش های اساسی مدیریت کلان کشوری بوده است. متأسفانه اجرای ناقص قرنطینه و استفاده غیر اصولی از راه کارهای درمانی (مصرف بی رویه آنتی بیوتیک) چالشی بس بزرگ در روند توسعه صنعت دامپروری ایجاد کرده است. این چالش دو بعد مهم و موثر در پی داشته است. یکی از آن ها هزینه تولید دام را به شدت افزایش می دهد و دیگر آن که افزایش مقاومت در برابر آنتی بیوتیک ها را به همراه داشته است. مقاومت آنتی بیوتیکی نه تنها برای دام، طیور و آبزیان تهدید محسوب می شود بلکه این مقاومت با واسطه تغذیه به زیست بوم انسانی نیز سرایت می کند و بحران فعلی مشکلات درمان بیماری های عفونی در انسان و دام را به همراه خواهد داشت. میزان مصرف آنتی بیوتیک در ایران ۱۶ برابر

استاندارد جهانی و به میزان کل مصرف آنتی‌بیوتیک در قاره اروپا می‌باشد و این در حالی است که بیش از نیمی از آنتی‌بیوتیک مصرفی در دنیا در بخش پرورش دام و طیور متمرکز است. تولید انبوه دام‌های جوان و سالم برای دستیابی به موفقیت اقتصادی و تامین آینده گله‌های گاو شیری، گوسفند و بز ضروری است. از آنجایی که اغلب مدیران در دامداری‌های بزرگ، سالانه ۲۵ تا ۳۵ درصد از گله را حذف می‌کنند، باید تولید دام جوان در حد کافی برای جایگزین کردن در اختیار داشته باشند. اسهال در دام‌های تازه به دنیا آمده یکی از دلایل اصلی افت عملکرد و یا تلفات در دوران شیرخوارگی است. برآوردها نشان می‌دهد که ۵۰ درصد از تلفات گوساله‌ها و بره‌ها در دوران پیش از شیرگیری مربوط به اسهال می‌باشد. اسهال یکی از شایع‌ترین بیماری‌های گوساله‌ها تا سه ماهگی می‌باشد که از علل عمده ضرر و زیان برای تولیدکنندگان گاو و از عوامل اصلی مرگ و میر در صنعت گاو در سراسر جهان است (۳).

۱-۱- ایمونوتراپی چیست

امروزه ایمونوتراپی به عنوان یک درمان بیولوژیک و روشی نوظهور در درمان انواع سرطان، بیماری‌های خود ایمنی، بیماری‌های آلرژیک و ازدیاد حساسیت و نیز جلوگیری از رد پیوند به شمار می‌رود. روش‌های مختلفی در ایمونوتراپی وجود دارد که شامل: محرک‌های ایمنی، آنتی‌بادی‌ها، سلول درمانی و واکسن‌ها می‌باشد.

۱-۲- آنتی‌بادی‌تراپی در درمان بیماری اسهال

آنتی‌بادی‌ها مولکول‌های گلیکوپروتئینی هستند که در پاسخ به حضور آنتی‌ژن‌ها از لنفوسیت‌های B تولید و ترشح می‌گردند. از ویژگی‌های مهم آنتی‌بادی‌ها اتصال اختصاصی آنها به آنتی‌ژن‌ها است. آنتی‌ژن‌ها می‌توانند میکروب‌ها و یا محصولات حاصل از آنها و همچنین مولکول‌های تولید شده توسط سلول‌های سرطانی باشند. اختصاصی بودن آنتی‌بادی‌ها برای آنتی‌ژن‌ها و همچنین قابلیت اتصال شیمیایی مولکول‌های مختلف که با استفاده از تکنیک‌های نسبتاً آسان انجام می‌پذیرد. نواحی از آنتی‌بادی که تداخلی در اتصال آنتی‌بادی به آنتی‌ژن اختصاصی خود ندارد، سبب کاربرد وسیع آنتی‌بادی‌ها به عنوان مولکول‌هایی جادویی در پزشکی برای پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری‌ها گردیده است. آنتی‌بادی‌ها را می‌توان علیه هر نوع مولکول درشت یا مولکول‌های کوچک شیمیایی تولید کرد. امروزه آنتی‌بادی‌ها اغلب با استفاده از تکنیک‌های مهندسی ژنتیک در محیط آزمایشگاه تولید می‌گردند. چهار خصوصیت آنتی‌بادی‌ها که آنها را برای استفاده در درمان مناسب نموده است شامل:

(۱) عملکرد اتصال اختصاصی آنها به آنتی‌ژن‌ها

(۲) عملکرد اجرایی آنها پس از اتصال به آنتی‌ژن که سبب برانگیختن سلسله پاسخ‌های ایمنی به آنتی‌ژن می‌گردد

(۳) ظرفیت تنظیم‌کنندگی پاسخ‌های ایمنی در بدن

(۴) با متصل کردن بعضی از مواد (که برای سلول‌ها سمی و کشنده هستند) به آنها، می‌توان از آنها به عنوان حامل‌های اختصاصی که این مواد را به جایگاه‌های وجود آنتی ژن (به عنوان مثال در سلولهای سرطانی) منتقل می‌نمایند، استفاده نمود و سبب مرگ سلولهای مضر سرطانی گردید به طور کلی استراتژی‌هایی که بر اساس آنها آنتی بادی تراپی انجام می‌شود، شامل:

- (۱) بلاک کردن عملکرد مولکول‌های دخیل در بیماری
 - (۲) فعال کردن سیستم ایمنی بر علیه مولکول‌های دخیل در ایجاد بیماری و متمرکز شدن پاسخ‌های ایمنی درست در مکانی که بیماری در آنجا مستقر است
 - (۳) استفاده از آنتی بادی در ژن تراپی به جهت اصلاح ژن‌هایی که دخیل در ایجاد بیماری می‌باشند
 - (۴) انتقال مواد کشنده و سمی به مکان سلول‌های درگیر در ایجاد بیماری و کشتن آنها
 - (۵) استفاده از آنتی ایدیوتایپ آنتی بادی‌ها در واکسیناسیون علیه آنتی ژنهای ایجاد کننده بیماری (۴)
- چندین درمان غیرفعال ایمنی مبتنی بر آنتی‌بادی‌ها از منابع مختلف، به عنوان درمان اسهال عفونی نوزادی گوساله پیشنهاد و آزمایش شده است استفاده از آنتی‌بادی‌های IgY به عنوان یک رویکرد جذاب و موثر در درمان اسهال و بهبود سیستم ایمنی شناخته شده است. علاوه بر این، آنتی‌بادی‌های IgY را می‌توان در سیستم‌های تولید مقرون به صرفه تحت شرایط کنترل شده تولید کرد.

۱-۳- آنتی بادی‌ها تجاری در کنترل بیماری اسهال دام

یکی از روش‌های کنترل در ابتلاء به بیماری اسهال در دام‌های تازه متولد شده در دنیا، استفاده از آنتی بادی‌ها جهت افزایش در سطح ایمنی ذاتی و کنترل جمعیت میکروبی هدف در ابتلاء های پرتکرار می‌باشد. محصولات با غلظت‌ها و تنوع در نوع آنتی بادی‌ها توسط شرکت‌های تجاری مختلفی در بازار عرضه شده است. شرکت ImmuCell واقع در آمریکا (با محصول First Defense)، شرکت Adbiotech در کره جنوبی، و شرکت های EW-Nutrition (با محصول Dia-Stop) و Josera (با محصولی Colostrin) در کشور آلمان در حال تولید محصولات مشابهی هستند.

محصول Colostrin حاوی آنتی بادی غیر اختصاصی می‌باشد. این محصول سبب افزایش قدرت سیستم ایمنی گوساله می‌شود. در برخی موارد حتی مصرف به موقع آغوز نمی‌تواند پاسخگوی نیاز گوساله باشد زیرا کیفیت آغوز نقش بسیار تاثیر گذاری دارد. کیفیت آغوز به تعداد شیردهی، تغذیه و سطح آنتی بادی موجود در آغوز بستگی دارد. افزودن Colostrin به آغوز سبب افزایش کیفیت آن می‌گردد و از طرفی با تامین ویتامین ها و عناصر معدنی کمیاب نیاز به این مواد را در روز های اول زندگی تامین می‌کند. این محصول به طور کلی سبب تقویت سیستم ایمنی، تامین ویتامین‌ها و عناصر کمیاب و تامین انرژی می‌گردد. اضافه کردن پروبیوتیک‌ها در فرمولاسیون این محصول توانسته است سبب افزایش کارآمدی دستگاه گوارش گردد.



شکل ۱: بسته بندی محصول Colostrin شرکت Josera

شرکت ImmuCell واقع در آمریکا محصولات علمی اثبات شده ای را توسعه می دهد که پتانسیل ژنتیکی دام های پر تولید را از طریق پیشگیری از بیماری ها به حداکثر می رساند و وابستگی به آنتی بیوتیک ها را کاهش می دهد. این شرکت تنها مجموعه فعال با توانایی در خالص سازی و تعیین کمیت آنتی بادی های خاص آغوز (*E. coli* و کرونا ویروس) در مقیاس تجاری است. نمایندگی این شرکت در ایران شرکت پیشگامان اسپند گستر می باشد.



شکل ۲: پک بسته بندی محصول فرست دیفنس شرکت ImmuCell

این شرکت مدعی شده است که محصول فرست دیفنس^۱ اولین روش پیشگیری برای اصلی ترین پاتوژن های ایجاد کننده ی اسهال در گوساله های تازه متولد شده است. مدیریت مناسب گاو، گوساله و محیط در جلوگیری از اسهال نقش حیاتی و بسیار مهمی دارند. گوساله های تازه متولد شده ایمنی اولیه خود را از طریق "ایمنی غیرفعال"^۲ به دست می آورند، که به موجب آن آنتی بادی ها از مادر به گوساله از طریق کلوستروم منتقل می شود. در واقع فرست دیفنس ایمنی فوری و هدفمند را به گوساله ها به شکل بسیار سریعی می دهد که منبع تضمین شده ای از ایمونوگلوبولین های ویژه و اختصاصی گاوی را زمانی که به آن نیاز دارند، برای گوساله ها فراهم می کند. در واقع تقلیدی از فرآیندهای طبیعی "ایمنی غیرفعال" را ایجاد

¹ First Defense

² Passive immunity

می‌کند. استفاده از این محصول در ساعت‌های اول تولد توصیه می‌گردد زیرا جذب آنتی‌بادی‌های کلستروم از دستگاه گوارش به سرعت کاهش می‌یابد.

فرست دیفنس حاوی آنتی‌بادی‌های خالص سازی شده علیه کورونا ویروس و آنتی‌بادی‌های تولید شده ویژه برای آنتی‌ژن‌های *E. coli* K99+ می‌باشد. این آنتی‌بادی‌ها از کلستروم گاوی با ایمنی بسیار بالا تهیه شده است. این محصول شامل آنتی‌بادی‌های موجود در کلستروم است که از اتصالات انتروتوکسیژنیک^۱ پیلی‌های باکتری *E. coli* K99+ به سلول‌های اپیتلیال روده جلوگیری می‌کند. با مصرف آن به طور واضح و قابل توجهی اسکور مدفوع کاهش می‌یابد و ایمنی فوری برای گوساله‌های شیری و گاو تازه متولد شده ایجاد می‌شود. این محصول تنها محصول مورد تایید USDA و CFIA، مشتق از آغوز، برای محافظت در برابر *E. coli* K99+ و ویروس کرونا است. آنتی‌بادی‌های اختصاصی در فرست دیفنس برای بلاک کردن الصاق *Enterotoxigenic E. coli* و برای تداخل با عفونت ویروس سلول‌های اپیتلیال روده‌ای به کار می‌رود که به موجب آن مرگ و میر و بیماری مربوط به اسهال را کاهش می‌دهد.

همچنین این شرکت در اطلاعات منتشر شده خود در سایت و کاتالوگ‌های مرتبط با این محصول اشاره نموده است که فرست دیفنس تامین‌کننده‌ی آنتی‌بادی‌های ضروری برای گوساله‌های نوزاد است که توانایی تولید سریع آن را در اوایل تولد نداشته و در نهایت قادر است به طور آنی و سریع ایمنی لازم در دو هفته اول تولد که گوساله به شدت به آن نیاز دارد را تامین نماید. بعد از خوردن کپسول، ابتدا ایمونوگلوبولین‌های ویژه به دستگاه گوارش رسانده می‌شود تا فوراً محافظت گوساله در مقابل بیماری‌ها را ایجاد نماید و همزمان آنتی‌بادی‌های موجود در آن، جذب جریان خون می‌شود. این گردش آنتی‌بادی‌ها مشابه مکانیزم طبیعی بدن بوده و مجدداً در ترشح دوباره در زمان لازم سبب استمرار حفاظت گوساله خواهد شد. محصولاتی که دارای تاییدیه وزارت کشاورزی ایالت متحده (USDA) هستند باید ادعای خود را در خصوص اثر گذاری در درمان را اثبات نمایند. این موضوع برخلاف مکمل‌ها و افزودنی‌های خوراک است که تنها اجزاء تشکیل دهنده را روی محصول شرح می‌دهند بدون اینکه هیچ تاییدی از عملکرد محصول داشته باشند. چنانچه محصولی ادعا کند که از بیماری خاصی جلوگیری می‌کند، کارخانه موظف است تا تمام آزمایشات کامل را برای نشان دادن محافظت یا درمان بیماری انجام دهد. این آزمایشات به طور مستقیم تحت نظارت و بازرنگری کارشناسان USDA قرار گرفته و چنانچه استانداردهای آماری بالا را به دست آورد مورد تایید USDA قرار خواهد گرفت. این محصول بر روی ۴۷۳ راس گوساله در دو شرایط آزمایشگاهی و مزرعه تست شد. نتایج حاکی از آن است که ۹۰ درصد از گوساله‌هایی که با این محصول تغذیه شده اند بدون دریافت درمان دیگر بهبود پیدا کرده‌اند. میزان بیماری از روی اسکور مدفوع اندازه گیری می‌شود. با مصرف فرست دیفنس به طور واضح و قابل توجهی اسکور مدفوع کاهش می‌یابد.

از تمام محصولات فوق محصول فرست دیفنس توسط شرکت تجاری پیشگامان سپند گستر به بازار ایران راه پیدا کرده است. با توجه به اثرات این محصول در کاهش بروز بیمارها در گوساله در بازار داخلی و با توجه به عدم تشخیص عامل عفونی کرونا ویروس در بروز اسهال در داخل کشور، لذا اهمیت حجم کلی آنتی‌بادی‌ها این محصول و همچنین آنتی‌بادی اختصاصی علیه *E. coli* K99+ در محصول موفق این شرکت امریکایی،

³. Enterotoxigenic

لزوم طراحی محصولی حاوی غلظت بالایی از آنتی بادی ها بخصوص آنتی بادی اختصاصی *E. coli K99+* در دستور کار قرار گرفته است.

۱-۴- خلاصه پروژه

در راستای حمایت و توسعه دفتر مرکزی جهاد دانشگاهی از طرح های دانش بنیان و توسعه روز افزون دانش و تکنولوژی، آن نهاد اقدام به فراخوان به کلیه زیر مجموعه های خود نمود و یکی از پروژه های فعال پژوهشگاه رویان در پژوهشکده زیست فناوری به آن مجموعه معرفی گردید. این پروژه تا آن زمان امکان تولید آزمایشگاهی دارو ضد اسهال دام را با استفاده از آنتی بادی های پلی کلونال را با موفقیت پشت سر گذاشته بود و در راستای توسعه فن آوری تولید و تکمیل دانش فنی محصول خود برای تولید همین دسته از دارو ها با فرمت خمیر اقدام نمود. با تایید دفتر تخصصی کشاورزی جهاد دانشگاهی از این طرح مقرر گردید تا بمنظور حمایت از این فناوری و توسعه زیر ساخت های این طرح پروژه ای تحت عنوان تکمیل دانش فنی و تولید دارو ضد اسهال دام در دستور کار قرار گیرد. این پروژه با بودجه هفتاد میلیارد ریالی در دو سال مصوب گردید. پروژه ملی دارو ضد اسهال دام در پاییز سال ۱۳۹۸ شروع به کار نمود. پروپوزال مطابق با پیوست شماره ۱ می باشد.

این پروژه با هدف شناسایی عوامل بیماری زا و تولید آنتی ژن ها با استفاده از علوم بیوتکنولوژی و میکروبیولوژی در مسیر تولید آنتی بادی ها با استفاده از علم ایمنی شناسی بکار رفته و پس از استخراج آنتی بادی ها، برای انجام تست های اولیه آزمایشگاهی و تست های جانوری بکار می روند. آنتی بادی های بدست آمده از این تحقیقات در یک فرمول دارویی با فرمت خمیر در فارم های صنعتی پرورش دام مورد استفاده قرار می گیرند.

۵-۱- خرید و نصب ماشین آلات بسته بندی و تجهیزات خط پودر و پیگیری مجوز تولید دارو الکتروولت پلاس

۵-۱-۱- مذاکرات، پیگیری همکاری با واحد های داروسازی

۵-۱-۱-۱- شرکت داروسازی ریحان نقش جهان

در سال ۱۳۹۸ تحقیقات و استعلامات شرکت های داروسازی فعال در حوزه محصولات دامی که امکان تولید محصولات پودری به صورت جامد را در خط جامدات داشته باشند، انجام گرفت و مشخص گردید شرکت داروسازی ریحان نقش جهان مجوز تولید محصولات دارویی دامپزشکی در خط جامدات با دستگاه ساشه پرکن را دارد.

شرکت داروسازی و آرایشی بهداشتی و شوینده ریحان نقش جهان در سال ۱۳۸۲ توسط آقای دکتر رحیم بحری نجفی دانشیار دانشکده داروسازی به ثبت رسید و با گرفتن پروانه ساخت قلم دفع حشرات دیت برای اولین بار در کشور در سال ۱۳۸۳ برای جلوگیری از سالک و مالاریا و گزش پشه ها از سازمان غذا و دارو، آن را در دانشکده داروسازی شیراز تولید نمود. سپس با تاسیس کارخانه داروسازی و آرایشی بهداشتی ریحان نقش جهان در سال ۱۳۸۹ با بیش از ۲۵۰۰ مربع زیر بنا در شهرک صنعتی جی اصفهان با خطوط تولید فراورده های آرایشی بهداشتی و شوینده، خطوط داروهای گیاهی و مکمل جامدات (قرص، کپسول، ساشه و پلت) و نیمه جامدات (ژل، کرم و پماد)، استیک و فیلم مبادرت به تولید بیش از ۳۰ فراورده آرایشی بهداشتی، داروهای گیاهی و مکمل نموده است که وارد بازار دارویی کشور و داروخانه های سطح کشور شده است.

طرح موضوع همکاری با شرکت داروسازی ریحان نقش جهان صورت گرفت و پس از ۲ ماه مذاکره مداوم با این شرکت عقد قرارداد صورت پذیرفت (پیوست شماره ۲). مقدمات مدارک قرارداد، معرفی محصول و SMF جهت ارائه به سازمان دامپزشکی در ابتدای سال ۱۳۹۹ انجام شد. پس از بازدید از محل اجرای پروژه و تست دستگاه ساشه پرکن این مجموعه، مشخص گردید که دستگاه این مجموعه مطابقتی با ادعای این شرکت با توافقات انجام شده ندارد لذا قرارداد منحل شد و مجدداً مذاکرات با سایر شرکت های داروسازی انجام گرفت.

۵-۱-۲- شرکت داروسازی امین

از شرکت های منتخب در حوزه تولید محصولات دامی در کشور شرکت دارو سازی امین می باشد. شرکت داروسازی امین در سال ۱۳۶۳ در جنوب غربی اصفهان و در شهرستان فلاورجان تاسیس گردیده و در سال ۱۳۶۹ با تولید شش محصول به بهره برداری رسیده است. در این کارخانه خطوط تولید شامل بخش های جامدات و مایعات خوراکی بوده و در حال حاضر بالغ بر یک میلیارد و سیصد میلیون واحد اشکال دارویی (شامل قرص های ساده و روکشدار، کپسول های Hard, Soft، قطره های خوراکی، شربت و سوسپانسیون)

به ارزش تقریبی ۴۰ میلیون دلار تولید و عرضه می‌گردد. با برنامه ریزی مدون هر سال خطوط تولید اعم از ساختمانی، هواساز ها (تاسیسات)، دستگاه ها و ماشین آلات، به روز رسانی شده و دارای گواهی نامه های GMP معتبر می باشند.

به لحاظ حفظ کیفیت و شرایط ساخت و بسته بندی در حد مطلوب، جزو یکی از بزرگترین شرکت های تولید قراردادی Contract Manufacturing کشور بوده به طوری که ۲۵٪ فعالیت های شرکت برای این امر اختصاص دارد و بیش از ۳۰ شرکت خارجی و داخلی معتبر با این شرکت همکاری دارند.

شرکت داروسازی امین با امکان تولید محصولات پودری به صورت ساشه پس از ارتباط با مدیران ارشد آن شرکت مراحل مکاتبات و شروع مذاکرات اصلی جهت عقد قرارداد صورت گرفت و پس از ۳ ماه مذاکره با این شرکت در خصوص رقم قرارداد و ارائه طرح توجیهی و همچنین نحوه پیشبرد پروژه، نهایتاً قرارداد با این شرکت در خرداد ۱۳۹۹ صورت پذیرفت (پیوست شماره ۳).

۱-۵-۲- خرید ماشین آلات و تجهیزات میکس و بسته بندی محصول الکترولیت

۱-۵-۲-۱- استعلامات دستگاه ساشه پرکن

جهت تولید محصولات پودر به صورت ساشه این شرکت اقدام به استعلام از شرکت های داروسازی که دارای محصولات ORS با فرمت پودری به صورت ساشه بودند مانند شرکت داروسازی دامبران و شرکت داروسازی تولید دارو و همچنین بررسی رزومه های تامین کننده های داخلی نمود. نتایج استعلام صورت گرفته در بین پنج شرکت اصلی تامین کننده دستگاه ساشه پرکن به دو شرکت اصلی، کارا صنعت سازان نوین (پیوست شماره ۴-۲) و بسته بندی شادمهر ختم گردید. که پس از بازدید از محل تولید دستگاه ها و صحبت با کارشناسان فنی هر دو کارخانه، با این که از لحاظ قیمت، شرکت کارا صنعت قیمت پایین تری را به لحاظ تهیه دستگاه ارائه کرده بود، اما بنا بر مذاکرات فنی انجام شده با شرکت شادمهر نهایتاً شرکت صنایع بسته بندی شادمهر از لحاظ فنی و عملکردی مورد تایید قرار گرفت. فرآیند اداری و ثبتی این فرآیند خرید در سامانه دولت و بررسی بخشی از رزومه های ارائه شده در سامانه مطابق با نامه ۲۰۲۹۹/۹۹ د (پیوست شماره ۴) ارائه شده است. دستگاه ساشه پرکن مورد توافق جهت تولید با عنوان دستگاه بسته بندی پودری (کد SM-338) با دوخت پلی اتیلن ۲ یا ۳ لایه با سیستم عملکرد الکترومکانیک-پنوماتیک و سیستم توزین حلزونی با کانتور پیش تنظیم، و وزن ۹۰۰ کیلوگرم مجهز به سیستم تاریخ زن حرارتی و سیستم ایزی اپن و سیستم طرح سوپاپ، فن غبارگیر، امکان بسته بندی با سرعت ۵ الی ۱۲ بسته در دقیقه با وزن بسته بندی ۵۰۰ الی ۵۰۰ گرم و ابعاد حداقلی ۱۵*۲۰ سانتی متر و حداکثری ۴۰*۲۴.۵ سانتی متر مورد توافق قرار گرفت.

۱-۵-۲-۲- قرارداد ساخت و مراحل تا اخذ دستگاه ساشه پرکن

عقد قرار داد با شرکت صنایع بسته بندی شادمهر در تیر ماه سال ۱۳۹۹ انجام گرفت (پیوست شماره ۵). در راستای حذف بودجه (۳۵ میلیارد ریالی) توسعه زیر ساخت داروسازی مرتبط با این پروژه، مذاکرات با داروسازی امین جهت استقرار دستگاه ساشه پرکن صورت گرفت که با موافقت اولیه آن شرکت روبه رو شدیم اما شش ماه پس از انجام توافق اولیه شرکت داروسازی امین مدعی شد که فضای مورد نظر را برای سایر دستگاهها در نظر گرفته است و امکان استقرار دستگاه را ندارد. پیگیری فرآیند خرید دستگاه در مدت بیان شده در قرارداد فی مابین به صورت متوالی پیگیری شد که متأسفانه تامین کننده با مشکلات مختلفی (تعطیلی های متعدد در دوران کرونا، مشکلات مدیریتی کلان) در طی مدت ساخت دستگاه مذکور روبرو گردید. علیرغم پرداخت هر ۴ قسط این شرکت به دلیل مشکلات پیش رو پاسخ روشنی به درخواست تحویل دستگاه نداشت. پس از ارتباط متعدد با مدیریت کارخانه شادمهر بازدید های متوالی از دستگاه انجام شد و مغایرت های دستگاه با متن قرارداد مورد بررسی قرار گرفت. گزارشات بازدید ها در سامانه فرزین درج شد (پیوست شماره ۶). مذاکرات با مدیریت این مجموعه مکرراً انجام شد و دستگاه پس از رفع عدم تطابق ها با مشخصات ۳ تا ۴ طرف دوخت، قابلیت پرکن به میزان ۵۰ تا ۱۵۰ گرم در ساشه، قابلیت به کارگیری انواع

جنس بسته بندی، استاندارد GMP، در خرداد ماه سال جاری تحویل گرفته شد و هم اکنون در انبار پژوهشکده رویان استقرار دارد. دستگاه جهت راه اندازی نیاز به پمپ باد دارد و پس از آن قابل استفاده می باشد.

۱-۵-۳- راه اندازی خط تولید و اخذ مجوز از سازمان دامپزشکی

۱-۵-۳-۱- پیگیری اخذ مجوز از سازمان دامپزشکی

پس از عقد قرارداد با داروسازی امین و نامه نگاری های مرتبط جهت تولید داروی الکترولیت پلاس و ارائه مدرک SMF به سازمان دامپزشکی مطابق با دستورکار این سازمان مبنی بر معرفی مسئول فنی، پس از پروسه سه ماهه قراردادی باجناب آقای دکتر خزایی صورت پذیرفت اما با توجه به قوانین سازمان دامپزشکی مقرر شد تا جناب آقای دکتر معصومی زاده مسئول فنی شرکت داروسازی امین مسئولیت این پرونده را نیز بر عهده دار باشند. پرونده SMF (پیوست شماره ۷) به سازمان دامپزشکی تحویل شد. این پرونده به دلیل به روز رسانی و تغییر قوانین سازمان دامپزشکی دو بار به دلایل عدم درج هزینه ها ساخت و تولید و همچنین مدت زمان قرارداد رد شد. نهایتاً پس از اصلاحات انجام شده و با پیگیری های مداوم با سازمان دامپزشکی، در خرداد ماه سال ۱۴۰۰ موافقت اولیه بر تولید این محصول صورت گرفت (پیوست شماره ۸).

۱-۵-۳-۲- مراحل تست پایداری محصول

نامه نگاری ها پس از موافقت سازمان با داروسازی امین صورت گرفت و مواد اولیه، مطابق با اصول تامین مواد دارویی برای آن داروسازی همراه با نمونه بسته بندی ارسال گردید. نمونه ها ساخته شد و در چمبر پایداری جهت تست پایداری سه، شش ماهه و یک ساله محصول اولیه تولید شده صورت گرفت. نتایج آزمایشات حاکی از کیفیت مشکوک ساشه و یا مواد اولیه بود زیرا با جذب رطوبت، تغییر رنگ در نمونه های تولید شده در مدت پایداری مشاهده شد. پس از مذاکرات مجدد، تصمیم بر تولید این محصول با مواد اولیه و ساشه موجود در داروسازی امین گرفته شد. مراحل تولید اولیه سری دوم محصول مذکور و تست های پایداری آن در آذر ماه سال ۱۴۰۰ تکرار گردید. نتایج پایداری این محصول در اردیبهشت ماه سال جاری اعلام شد که نتایج نشان دهنده عدم یکنواختی در پودر تولید شده که ناشی از عدم یکنواختی اجزاء تشکیل دهنده آن تشخیص داده شد بگونه ای که غلظت سدیم و پتاسیم در دوره های مختلف تست پایداری نوسانات شدید غلظتی را نشان داده بود. مقرر گردید تا سری سوم ساخت و تولید محصول مذکور ابتدا کاملاً آسیاب و پس از ترکیب برای تست نتایج روز صفر، از یکنواختی مواد اولیه تولید شده اطمینان حاصل شود سپس محصول برای تست های پایداری ارسال گردد. محصول سری سوم هم اکنون ساخته شده و برای تست های اولیه برای آزمایشگاه رفرنس ارسال شد. ابتدا میزان سدیم و پتاسیم در حالت پودری مورد ارزیابی قرار گرفت و در سری بعد این نمک ها بر اساس USP مورد آزمون قرار گرفتند. نتایج حاکی از صحیح بودن نحوه میکس و انتخاب درست روش آزمون می باشد. در ادامه بیج سوم این محصول با پروتکل صحیح توسط داروسازی امین ساخته شد و در چمبر پایداری قرار گرفت. به دلیل تاخیر در ارسال DMF به سازمان دامپزشکی مجدداً پرونده SMF جهت بررسی مجدد به این سازمان ارجاع شد. مدرک DMF نیز به این

سازمان ارائه شد و مورد تایید قرار گرفت. آزمایشات پایداری در این فاصله زمانی مجدداً انجام پذیرفت و نتایج نشان دهنده توزیع یکسان محصول بود است و لذا تاریخ نمونه گیری از سمت دامپزشکی مشخص گردید. مراحل و آزمایشات تست پایداری در پیوست شماره ۹ درج شده است.

۱-۵-۳- توقف فرآیند اخذ مجوز

متأسفانه با بروز حادثه آتش سوزی در این شرکت و از بین رفتن زیرساخت تولیدات محصولات دامی، کلیه مجوزهای این شرکت باطل و قطع همکاری طی نامه ایی اعلام شد.



شکل ۳: نامه اتمام همکاری داروسازی امین

فصل ۲: تولید و تایید آنتی ژن

۲-۱- مطالعات *E. coli* K99

اسهال اغلب با از دست دادن آب بدن و الکترولیت‌ها همراه است. عوارض مختلفی در نتیجه اسهال پدیدار می‌شود که می‌توان به از دست دادن مایعات بدن و کاهش حجم خون، عدم تعادل الکترولیت‌ها و اسیدوز، شوک و مرگ حیوان اشاره کرد. اسهال شامل اسهال تغذیه ای و اسهال عفونی می‌باشد. اسهال عفونی گوساله به دو صورت یافت می‌شود، مورد اول باعث ترشح مقادیر زیادی مایعات و الکترولیت‌ها از روده می‌شوند مانند *E. coli* K99+ و گروه دیگر که باعث کاهش جذب مواد از روده می‌شوند از قبیل سالمونلا^۱، روتاویروس^۲، کرونا ویروس^۳ و گونه‌های دیگر اشریشیا کلی، گوساله ای که دچار اسهال شده است با مشکلات عمده ای در آینده می‌تواند مواجه شود. از جمله می‌توان به کاهش وزن از شیر گیری، افزایش زمان از شیر گیری و مشکلات عدیده ی تنفسی از جمله پنومونی اشاره کرد. مطالعات نشان داده است، گوساله‌هایی که مبتلا به اسهال می‌شوند در مقایسه با گوساله‌های سالم، حساسیت بیشتری به بیماری‌های دیگر در طول زندگی داشته و از تولید کمتر در دوره شیردهی اول برخوردارند. بحث در مورد علل عفونی اسهال گوساله‌ها از ۳۰ سال پیش به طور جدی مورد توجه قرار گرفته است. تا سال‌ها سالمونلا را تنها عامل مولد اسهال می‌دانستند ولی در سال ۱۹۶۷ نشان داده شد که گروه کوچکی از سوش‌های کلی‌باسیل، منجر به اسهالی آبکی می‌شوند. این دسته از باکتری‌ها بعداً اشریشیاکلی انتروتوکسینوزن نام گرفتند و امروزه مشخص شده است که مهمترین پاتوژن‌هایی هستند که در نوزاد علف‌خواران باعث اسهال می‌شوند. اسهال در گوساله‌های تازه متولد شده می‌تواند ناشی از تغذیه نادرست و یا شرایط نگهداری باشد. بیشتر منابع آلودگی در این دوره از زندگی گوساله شامل کلی باسیلوس‌های انترو وکسیژنیک *E. coli* K99+ می‌باشد که سبب ۳۰ تا ۵۰٪ از مرگ و میر ناشی از اسهال است (۲).

عوامل غیر عفونی منجر به اسهال شامل جذب ناکافی آغوز، بهداشت نامناسب، استرس و هوای سرد است. در واقع آسیب‌پذیری گوساله تازه متولد شده در برابر عفونت به دلیل ضعف ایمنی است (۵). واکسیناسیون گاوها و مصرف آغوز توسط گوساله‌ها در ۶ ساعت اول زندگی، راهبردهای حیاتی برای جلوگیری از اسهال شدید است، اما این راهبردها هنوز ناکافی هستند. همزمان با توسعه صنعت دام در ایران همانند بسیاری از کشورهای دیگر، موضوع کنترل بیماری‌های دام نیز یکی از چالش‌های اساسی در مدیریت کلان کشوری شده است (۶).

اهمیت انتخاب درمان بیماری‌های دامی با آنتی‌بادی و جایگزینی آن با درمان آنتی‌بیوتیکی این است که با افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در درمان بیماری‌های دامی، نه تنها هزینه تولید دام در دامپروری‌ها افزایش یافته، بلکه واردات آنتی‌بیوتیک‌های نسل جدید، معبری برای خروج ارز از کشور باز کرده که مشکلات اخیر ارزی و تخصیص ردیف مناسب ارزی، چالش‌های درمان بیماری‌ها را دو چندان کرده است. از طرف دیگر مصرف فرآورده‌های غذایی با منشأ دامی که ممکن است حاوی باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی باشند، نگرانی-

1. Salmonella

2. Rotavirus

3. Coronaviruses

های زیادی را برای مصرف‌کنندگان ایجاد کرده است. از مهمترین خطر باقیمانده‌های آنتی‌بیوتیکی در مواد غذایی، بروز مقاومت دارویی در برابر باکتری‌های پاتوژن در بدن مصرف‌کنندگان می‌باشد. کاربرد آنتی-بیوتیک‌ها در گوساله‌های مبتلا به اسهال به دلیل اختلال بیشتر در فلور میکروبی روده و ایجاد عوامل مقاومت ضد میکروبی مورد تردید بوده است. اگرچه گوساله‌های بسیار بیمار مبتلا به سالمونلوز ممکن است از درمان ضد میکروبی بهره مند شوند، اما اکثر مطالعات نیز هیچ گونه اثر مفید درمان ضد میکروبی را نشان نداده اند. برخی از مطالعات اثر محدود آنتی‌بیوتیک‌ها را در کاهش مرگ و میر و عوارض در شیوع اسهال نشان می‌دهد (۶). این امر باعث ممنوعیت استفاده فرعی از آنتی‌بیوتیک‌ها در بسیاری از کشورها شده است. از طرف دیگر آزمایش‌های تشخیصی برای شایع‌ترین عوامل عفونی مرتبط با اسهال گوساله نوزادی همیشه در دسترس نیست و یا نمی‌توان به موقع انجام داد. این وضعیت نیاز به راه حل‌های جایگزین برای آنتی‌بیوتیک‌ها را برجسته می‌کند که همچنین می‌تواند یک استراتژی جایگزین مناسب برای کنترل اسهال مرتبط با ویروس و انگل باشد که به آنتی‌بیوتیک‌ها حساس نیستند.

مهمترین و شایعترین عامل چسبنده ای که تاکنون بر روی سویه‌های اشریشیاکلی درگیر در اسهال گوساله‌ها شناخته شده است، فاکتور F5 (K99) می‌باشد که امکان اتصال باکتری به سطوح اپیتلیال سلول‌های روده را فراهم می‌سازد فاکتور F5 (K99) که از واحدهای تکراری با وزن مولکول 18 KD تشکیل شده، قادر است که به ماده N-گلیکوزیل نورامینیک اسید متصل شود. این ترکیب در سطح سلول‌های روده گاو حضور داشته و به عنوان رسپتور برای فاکتور F5 (K99) به کار می‌رود (۷). بنابراین باکتری‌ها قادرند بطور مؤثر Sta¹ که بطور معمول تولید می‌شوند را انتقال دهند. با ساکن شدن باکتری، انترتوکسین تولیدی توسط باکتری موجب آسیب به سلول‌های اپیتلیال روده شده و در نتیجه موجب از هم گسیختگی در ترشح و جذب مایعات و الکترولیت‌ها می‌شود. بدین وسیله دفع وسیع مایعات القاء می‌شود و کاهش آب و الکترولیت‌ها به سرعت منجر به دهیدراتاسیون خواهد شد. این رخداد موجب اسهال آبکی، دهیدراتاسیون و اسیدوز در گوساله‌های شیرخوار می‌شود (۸). اسهال عفونی، بیشترین سهم را در ایجاد تلفات در دامداری‌ها داراست و معمولاً بیشترین شیوع را در بین بیماری‌های مرتبط با گوساله‌ها دارد. این امر موجب شده است که، اسهال عفونی، ضررهای اقتصادی گسترده‌ای را به صنعت گاو شیری در سطح جهان وارد کند (۹).

۲-۲ تهیه سویه، کشت و تست‌های بیوشیمیایی

باکتری اشریشیاکلی K99 مورد نظر به شماره دسترسی SHI-RAZI GU951525.1 از بخش میکروپشناسی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی شیراز به شکل کشت فعال بر روی محیط مینکا آگار تهیه گردید. به منظور پاساژ باکتری و تهیه کشت خالص از *E. coli* K99، یک لوپ پر از باکتری به روش خطی در چهار مرحله در سطح محیط مینکا آگار کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. تأیید هویت باکتری مطابق با دستورالعمل‌های تشخیص آزمایشگاهی توسط تست‌های بیوشیمیایی IMViC و کشت بر روی محیط‌های اختصاصی انجام گرفت. نمونه‌ها بر روی محیط‌های مک کانکی آگار و ائوزین متیلن بلو (EMB) کشت داده شد و کلنی‌های صورتی و جلای سبز فلزی به

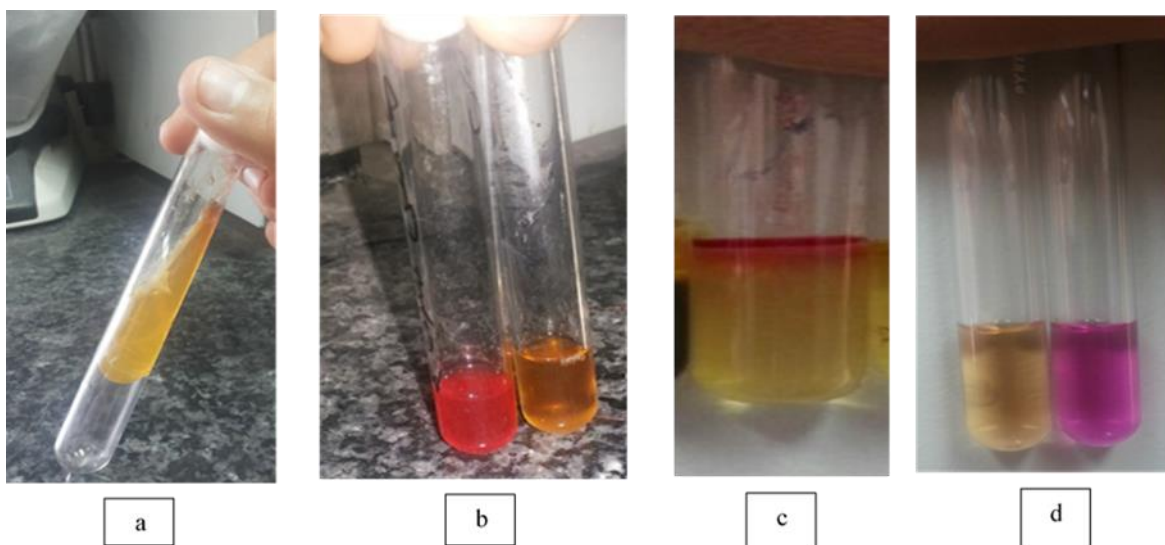
¹ Heat Stable Type 1 Enterotoxin

ترتیب ایجاد شد. نتایج کشت نمونه در محیط MR^1 ، SIM^2 مثبت، اندول مثبت و اوره، سیترات و VP منفی و در محیط TSI^3 الگوی تخمیر به صورت اسید/اسید و همراه با تولید گاز بود. پروفایل مشاهده شده



کاملاً مطابق با الگوی رشدی باکتری *E.coli* K99 می‌باشد

شکل ۴: کشت باکتری *E.coli* K99 در سطح محیط کشت EMB (سمت چپ)، محیط کشت مینکا آگار (وسط)، محیط کشت



Blood agar (سمت راست)

شکل ۵: کشت تایید باکتری (a) کشت باکتری در محیط TSI (b) کشت در محیط MR نتیجه مثبت (سمت چپ) و محیط VP نتیجه منفی (سمت راست)، (c) کشت در محیط SIM و تولید اندول در حضور معرف کوآکس، (d) کشت در محیط اوره براث و نتیجه منفی لوله سمت چپ در مقایسه با کنترل مثبت لوله سمت راست

¹ Methyl red-Voges proskauere broth

² Sulfide Indol Motility

³ Triple sugar iron agar

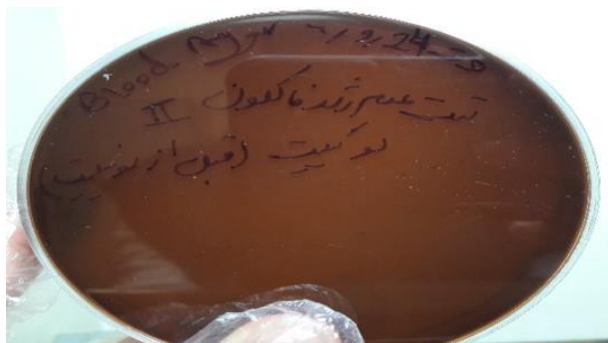
۳-۲- غیر فعال سازی و تهیه آنتی ژن E.coli K99

طبق مطالعات دگراف^۱ و همکاران شرایط بهینه استخراج آنتی ژن K99 در شرایط آزمایشگاهی بسته به نوع سروتایپ باکتری، نوع محیط کشت و شرایط انکوباسیون می باشد. طبق مطالعات صورت گرفته محیط کشت مینکا با pH=7.5 در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد بیشترین بازده تولید آنتی ژن را دارد (۱۰). بنابراین محیط کشت مینکا آگار ساخته و 1ml از کشت پنج ساعته باکتری درون ارلن حاوی یک لیتر مینکا تلقیح و در شیکر انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸-۲۴ ساعت نگهداری گردید. سپس جذب باکتری در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت شد و پس از انجام تست های آگلوتیناسیون و اطمینان از بیان فیمبریه K99، به منظور غیر فعال سازی باکتری محیط کشت میکروبی سانتریفیوژ و رسوب میکروبی در 50 ml محلول PBS (pH= 7.2) حاوی فرمالین ۰/۴ درصد به مدت یک شب در انکوباتور شیکردار ۳۷ درجه نگهداری و سپس به منظور تایید مرگ باکتری ها، ۰/۵ میلی لیتر از نمونه غیرفعال شده بر روی محیط آگار خون دار کشت داده تا با عدم رشد، از مرگ باکتری ها اطمینان حاصل گردد. در مرحله بعد به منظور حذف فرمالین باکتری غیرفعال شده دو بار با PBS استریل شسته و به مدت ۲۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس محلول رویی که حاوی زواید سطحی باکتری و فرمالین است دور ریخته شد و رسوب حاصل طبق استاندارد مک فارلند، در غلظت $10^9 \times 0/5$ واحد تشکیل کلنی بر میلی لیتر تنظیم شد. در نهایت جهت شکستن دیواره باکتری از سونیکاسیون استفاده شد. هموژناسیون نمونه با استفاده از دستگاه سونیکاتور Hilscher در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه در سیکل ۰.۵ و Amplitude= 50 انجام گرفت. محلول آنتی ژنی خام تهیه شده با غلظت $10^9 \times 0.5$ در میکروتیوپ های 1ml توزیع و تا زمان استفاده در فریزر -۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد.



شکل ۶: مراحل شست و شو و تهیه غلظت استاندارد باکتری

¹ De Graaf



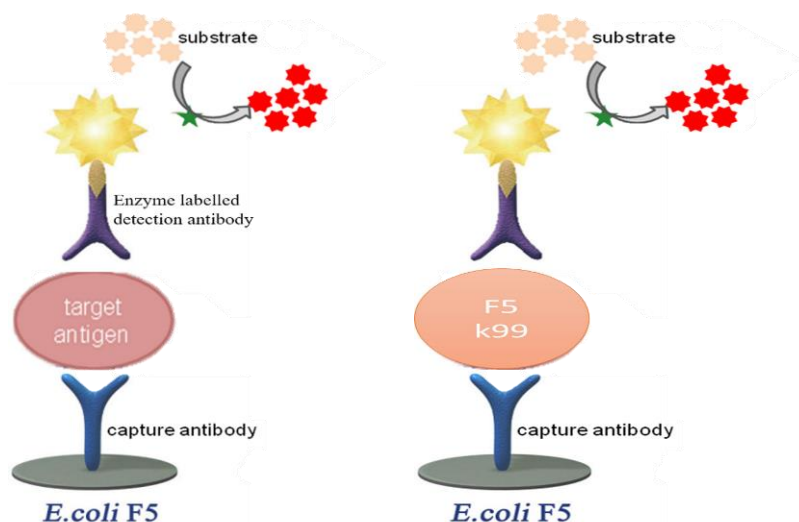
شکل ۷: بررسی عدم رشد باکتری غیر فعال شده در سطح محیط بلاد آگار

۲-۴- تایید آنتی ژن با تست الیزا اختصاصی

پس از تهیه محلول آنتی ژنی خام، جهت تایید آن از تست الیزا اختصاصی استفاده شد. هدف از اجرای این تست، تشخیص و تایید سویه *E. coli* K99 تهیه شده، برای تهیه آنتی ژن *E. coli* غیر فعال و تایید حضور آنتی ژن فعال پس از غیر فعال سازی باکتری با استفاده از این کیت اختصاصی می باشد. در این مطالعه از کیت تشخیصی *E. coli* F5 شرکت بلژیکی Bio-X استفاده شد. این شرکت برای آزمایشگاه های دامپزشکی کیت های تشخیصی قابل اعتماد بر مبنای فناوری الیزا تولید می کند. این کیت تشخیصی پاتوژن های مهم اسهال در گوساله ها را به سادگی و با حساسیت بالا تشخیص می دهد و جایگزین روش های کلاسیک و پرهزینه مانند تکنیک های کشت، رنگ آمیزی و میکروسکوپ الکترونی شده است. چاهک ها حاوی آنتی بادی اولیه از قبل کوت شده می باشند. این کیت حاوی کنترل منفی (آنتی ژن غیر اختصاصی) و کنترل مثبت (آنتی ژن اختصاصی *E. coli* F5) است. در این تست باکتری *E. coli* تایید می گردد. زیرا در صورت اینکه باکتری دیگری غیر از *E. coli* حضور داشته باشد اتصال اختصاصی انجام نمی پذیرد. سپس آنتی ژن استخراج شده را تایید می نماییم. در صورتی که آنتی ژن اختصاصی باشد بر روی آنتی بادی کوت شده کف چاهک خواهد چسبید و بعد از آن اتصال HRP امکان پذیر خواهد بود. در نهایت با اضافه کردن سوبسترا واکنش رنگ زا اتفاق خواهد افتاد. اگر آنتی ژن اختصاصی نباشد اتصال آن به آنتی بادی کف چاهک امکان پذیر نخواهد بود و به تبع آن اتصال HRP امکان پذیر نیست و با اضافه کردن سوبسترا رنگی مشاهده نخواهد شد.

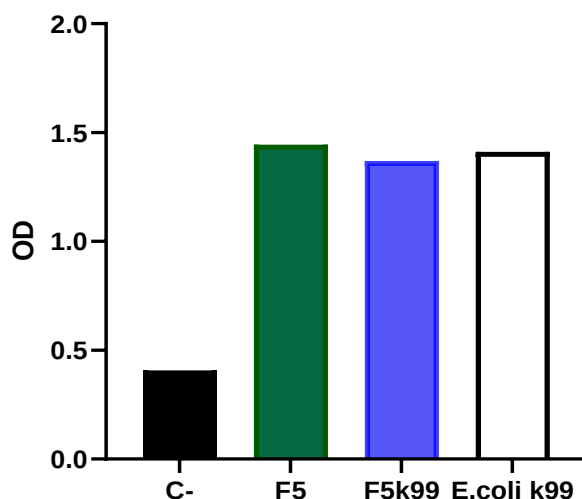
در مطالعه حاضر نمونه محلول آنتی ژنی، باکتری *E. coli* K99 می باشد. انکوباسیون نمونه های آنتی ژن به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. بعد از آماده سازی میکروتیتر پلیت ۱۰۰ میکرو لیتر از آنتی ژنی باکتری *E. coli* K99 داخل هر چاهک اضافه شد. از نمونه های کنترل منفی و کنترل مثبت نیز به میزان ۱۰۰ میکرو لیتر اضافه گردید. میکروتیتر پلیت را پوشانده و به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد. سپس دوبار شستشو و در مرحله بعد داخل چاهک A1، ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول حاوی پلی کلونال آنتی بادی اختصاصی ضد آنتی ژن K99 و در چاهک A2، ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول حاوی پلی کلونال آنتی بادی غیر اختصاصی اضافه گردید. میکروتیتر پلیت را پوشانده و به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد. چاهک ها دوبار شست و شو داده شدند. به هر چاهک ۱۰۰ میکرو لیتر از آنتی بادی کونژوگه اضافه گردید. مراحل انکوباسیون و شستشو تکرار گردید. ۱۰۰

میکرولیتتر از محلول کروموژن (TMB) اضافه گردید. میکرو تیترا پلیت به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی انکوبه می‌شود. چنانچه نمونه از نظر حضور آنتی ژن مثبت باشد رنگ محلول داخل چاهک آبی رنگ می‌شود. جهت خوانش جذب نمونه‌ها پس از پایان ۱۰ دقیقه انکوباسیون بدون تخلیه مواد ۵۰ میکرولیتتر از محلول متوقف کننده را مستقیماً به هر چاهک اضافه می‌گردد. که در نتیجه آن رنگ آبی به زرد تغییر می‌کند. بلافاصله بعد از افزودن محلول متوقف کننده جذب نمونه‌ها در ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الیزا ریدر خوانش می‌شود.



شکل ۸: الیزا اختصاصی تشخیص آنتی ژن استخراج شده از *E.coli k99* سمت چپ آنتی ژن موجود در کیت. سمت راست آنتی ژن تخلیص شده در طرح

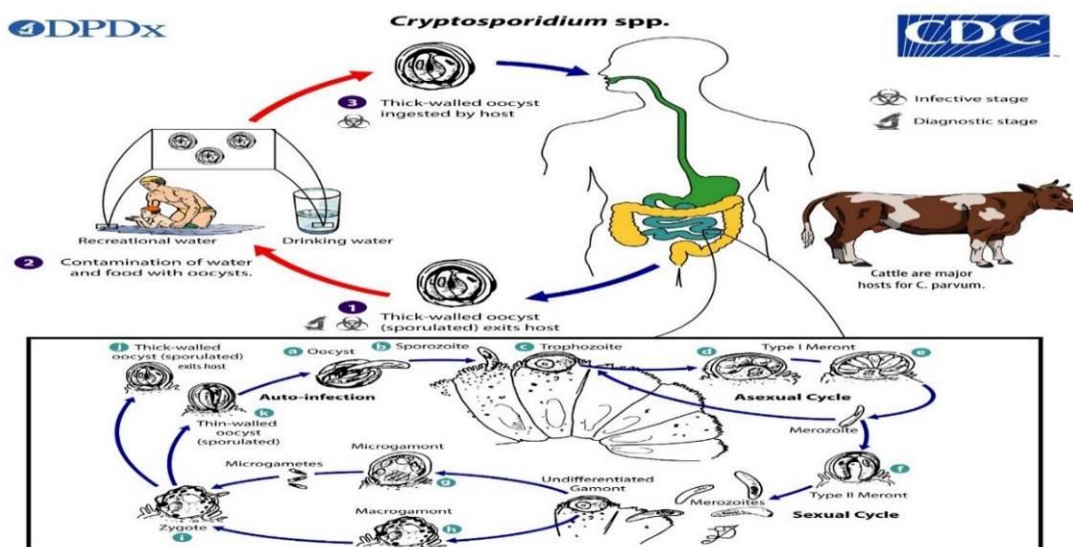
پس از بررسی جذب نوری نمونه‌ها مشخص گردید که بین کنترل مثبت که حاوی آنتی ژن اختصاصی کیت، است و نمونه باکتری تفاوت معنی داری وجود ندارد که این مهم نشان دهنده سویه صحیح باکتری است. از طرفی ما بین کنترل مثبت و آنتی ژن تخلیص شده از باکتری نیز تفاوت معنا دار نبود که صحت تخلیص را نمایان می‌کند.



شکل ۹: جذب نمونه های کنترل کیت و نمونه آنتی ژن خالص شده. در این نمودار- C نشان دهنده گروه کنترل منفی که حاوی آنتی ژن غیر اختصاصی، F5 کنترل مثبت که حاوی آنتی ژن تخلیص شده و اختصاصی است، F5K99 آنتی ژن اختصاصی استخراج شده در طرح و E.Coli K99 باکتری حاوی آنتی ژن اختصاصی می باشد

۲-۵- کشت و استخراج کریپتوزپرودیوم

کریپتوزپرودیوم تک یاخته روده ای است که طیف وسیعی از میزبانان شامل انواع پستانداران از جمله انسان، علفخواران، جوندگان، ماکیان و خزندگان را آلوده می کند (۱۱). این تک یاخته انگل داخل سلولی - خارج سیتوپلاسمی بوده و در میکروویلی های دستگاه گوارش به ویژه در سلولهای اپی تلیوم ناحیه ژژنوم و نیز در ریه ها، سیستم صفراوی، پانکراس و ندولهای لنفاوی گزارش گردیده است (۱۲). همانطور که در شکل زیر مشاهده می شود تک یاخته در مرحله ی تکثیر غیر جنسی خود ابتدا بر روی سطح مخاطی روده و سپس به صورت داخل سلولی ازدیاد یافته و در نهایت این مرحله از تقسیم با تولید اووسیت خاتمه می یابد. دفع فراوان اووسیت ها همراه با مدفوع سبب آلودگی طبیعت می گردد (۱۳). در این مرحله نیز تشخیص بیماری با آزمایش مدفوع میسر می باشد. آلودگی به این انگل سبب ایجاد بیماری کریپتوزپوریوز می شود که از بیماریهای نوظهور در کشورهای در حال توسعه بشمار می آید (۱۴). دام های مبتلا، طیف وسیعی از نشانه های درمانگاهی را نشان می دهند که می تواند به صورت اسهال، سو جذب، ضعف، کاهش وزن، کندی رشد و کاهش تولید شیر بروز نماید (۱۵). البته بروز نشانه های مذکور تا حدود زیادی بستگی به برخی عوامل مانند گونه انگل، سن و وضعیت سیستم ایمنی میزبان دارد. به طور مثال این انگل از آنجا که در بیماران نقص سیستم ایمنی، تمایل به ماندگاری دارد، موجب اسهال مزمن در این بیماران می شود و حتی می تواند موجب مرگ در آنها شود. اهمیت این بیماری به این علت است که هنوز روش درمانی موثری برای مقابله با آن شناخته نشده است. از طرف دیگر به دلیل کوچکی و مقاومت اووسیت ها، راه اساسی برای از بین بردن آنها توصیه نشده است. اهمیت اقتصادی بیماری در دامپزشکی ناشی از ابتلا درصد بالایی از حیوانات به ویژه دام هاست. این عفونت در سنین پایین شایع تر بوده و در نوزادان و گوساله ها باعث اسهال شدید (زرد و پرتابی) شبیه اسهال وبایی و تولید اووسیت فراوان می گردد (۱۶).



شکل ۱۰: چرخه زندگی کریپتوسپوریدیوم پارووم

کریپتوزپوریدیوسیس یک بیماری اسهالی است که انگل کریپتوسپوریدیوم موجب آن می‌شود، و روده را دچار عفونت می‌کند. عفونت کریپتوزپوریدیوم در بین آدمیان و انواع حیوانات اهلی و خانگی و حیوانات بومی گزارش شده است. اگر چه چند نوع انگل کریپتوزپوریدیوم وجود دارد، ولی گمان بر این است که فقط یک نوع آن به نام کریپتوزپوریدیوم پارووم^۱ باعث این عفونت در آدمیان می‌شود. ارگانیزم کریپتوزپوریدیوم در محتوای مدفوع آدمیان و حیوانات مبتلا وجود دارد و از طریق داخل شدن مدفوع در بدن از راه دهان سرایت می‌کند. کریپتوزپوریدیوم، زئونوتیک است و افرادی که با دام‌ها تماس دارند در خطر ابتلا به آن هستند. کودکان با سوء تغذیه نیز در معرض ابتلا به اسهال مزمن با این انگل هستند (۱۷). طبق بررسی‌ها و مطالعات دانشمندان مختلف و در سال‌های متفاوت مشخص شد عفونت، ماه‌ها و حتی سال‌ها در افراد با نقص اکتسابی سیستم ایمنی و یا نقص مادرزادی آن باقی می‌ماند و حتی می‌تواند به سمت کبد و صفرا و یا لوله‌های پانکراس گسترده شود. کریپتوسپوریدیوم ۲۵٪ موارد اسهال در دنیا را به خود اختصاص داده است و انگلی جهان شمول است (۱۸).

قبل از بررسی واکسن‌های انتخاب شده نکته حائز اهمیت میزان اثرگذاری واکسن‌ها بر علیه کریپتوزپوریدیوم است. واکسن دلخواه باید سرعت ایمنی طولانی مدت را به طور منحصر به فرد فراهم آورد و همچنین به صورت گسترده برخلاف بیشتر گونه‌های معمول باشد و همه‌ی زیر گونه‌های ارگانیزم را تحت پوشش قرار دهد، از انتقال بیماری‌ها جلوگیری کند و به آسانی در دسترس، پایدار و ارزان باشد. یک واکسن کریپتوزپوریدیوم باید یک حمایت متقاطع موثر و یک پاسخ ایمنی ماهیچه‌ای روی ۲ گونه کریپتوزپوریدیوم پارووم و هومونیس که هر دو گونه‌ی معمول عفونت‌زا در انسان هستند ایجاد کند. پیشنهاد می‌شود که هدف بر روی یک گونه به تنهایی کافی نیست و باید اثر حمایتی متقاطع بر روی گونه‌های متفاوت دیگر نیز داشته باشد. به طور مثال ما نشان دادیم که پاسخ ایمنی بر علیه آنتی ژن پلی

¹. Cryptosporidiosis parvum

مورفیک gp 40 در قسمت زیرگونه فقط در بچه های عفونی اثرگذار هستند. بنابراین توسعه ی واکسن ها باید با تمرکز بر روی این هدف باشد که بیشتر گونه ها و نوعهای متداول عفونت در انسان را پوشش و توسعه دهد. واکسنها همچنین باید در بچه ها اثرگذار بوده و یک پاسخ ایمنی نرمال را که به علت کمبود مواد غذایی یا کمبود درمان ایمنی به صورت فردی بوجود آمده را جبران کنند و همچنین برای کشورهای در حال توسعه ارزان باشند.

تا این تاریخ هنوز هیچ واکسن انگلی از طرف FDA به علت پیچیدگی های زیاد این ارگانایسم در مقایسه با باکتری ها و ویروس ها تایید نشده است. واکسن ها و آنتی ژن های معروف کریپتوزپورییدیوم باید حاوی آنتی ژن هایی باشند که سیستم ایمنی میزبان را برای بدست آوردن یک پاسخ ایمنی حمایتی در معرض قرار بدهند، که در این صورت کاربرد یک پروتئین تنها یا آنتی ژن multiple یا ارگانایسم کامل را پیچیده می کند. با توجه به بحث قبلی، کاربرد یک کریپتوزپورییدیوم رقیق شده در واکسن ممکن است هنوز سبب بیماری شود، که در این صورت توسعه ی آن با چالش روبرو می شود که منجر به ناتوانی در توسعه ی متداول یا دستکاری ژنتیکی پارازیت به صورت آزمایشگاهی می شود. بنابراین مطالعات زیادی روی ایمونوژنیک و پروتئینهای خاص مانند CSL gp900, gp40, gp15/17, Cp15/60, Cp23/27, Cp12 و Muc4 انجام گرفته که این پروتئینهای خاص درگیری و تماس و حمله به سلولهای میزبان را زیاد می کنند.

آنتی بادیهای هدف این پروتئینها می توانند عفونت کریپتوزیس را در شرایط invitro مهار کنند و پاسخ های همورال به چندین نوع از این آنتی ژن ها در بیمار مبتلا به کریپتوز وابسته است. تعداد کمی از این آنتی ژن ها مانند gp900, gp15/17, gp40, Cp23/27 برای تحریک پاسخ ایمنی سلولی در حیوانات یا انسان نشان داده شده اند. اگرچه هنوز این پاسخ های حمایتی شناخته نشده و این انتقادی است که ایمنی حمایتی برای کریپتوز بیشتر وابسته به واسطه های سلولی است.

هیچ روش درمان موثر و قطعی برای کریپتوزپورییدیوم در انسان و حیوان وجود ندارد (۱۹). از ایمنی غیرفعال با ایمونوژنیسیته ی بالای آغوز گوساله یا آنتی بادی های منوکلونال برای درمان کریپتوزیدیوزیس در انسان و حیوان استفاده شده است و اگرچه از نتایج بدست آمده از آنتی بادی ها در کاهش اووسیت و بهبود علائم کلینیکی نتایج خوبی بدست آمده است اما تا کنون هیچ تولید تجاری آنتی بادی انجام نگرفته است. مشکل اصلی برای تولید و توسعه ی تولیدات آنتی بادی ارزش و قیمت بالای تولیدات و همچنین بدست آوردن تیترا بالا و پایدار آنتی بادی است (۲۰).

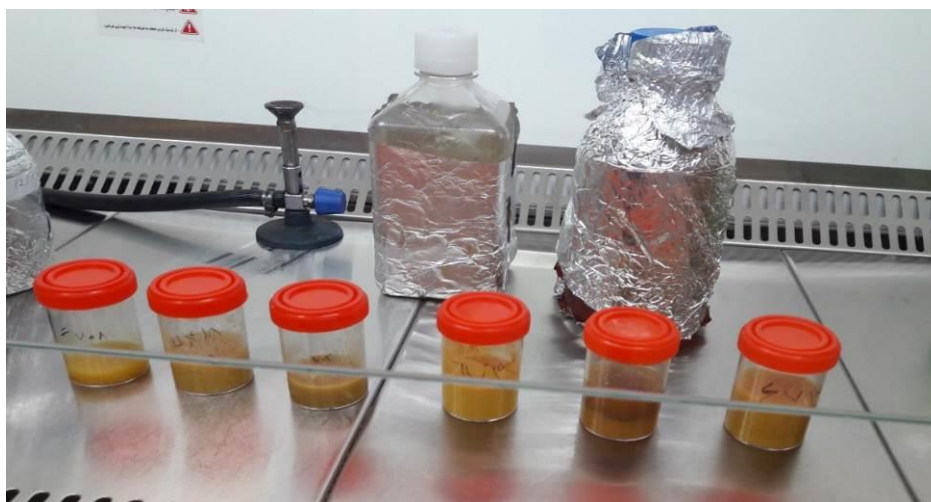
تخم مرغ به عنوان یک منبع مهم و راحت برای تولیدات آنتی بادی شناخته شده است. آنتی بادی های خوراکی بر گرفته از شیر و تخم مرغ به طور گسترده برای درمان انسان و حیوان از عفونتهای گونه های مختلف و با موفقیت هایی گوناگون به کار رفته است.

بره های تازه متولد شده با آغوز گاوی یا گوسفندی با ایمونوژنیسیته ی بالا درمان شدند و کمترین میزان مرگ و میر و علائم کلینیکی را نشان دادند (۲۱). اثرات پیشگیری وابسته بود به پاسخ IgA در روزهای ۱۱ تا ۱۸ که باعث کاهش دفع اووسیت ها شد.

مطالعات نشان داده است که چرخه ی آنتی بادی هیچ تاثیری روی عفونت ندارد در حالی که تیترا بالای آنتی بادی اختصاصی کریپتوسپوریدیوم پارووم در لومن های روده ای در خلال یک دوره ی طولانی بر تاثیر و توسعه ی انگل کافی به نظر می رسد. کاربرد ایمونوتراپی غیرفعال با استفاده از سرم خوراکی گاوی غلیظ شده، نشانه ها را بهبود و دفع اووسیت ها را در گاوها با توجه به آزمایشات کریپتوزیس کاهش می دهد. با وجود کارایی قابل تغییر ایمنی آغوز در آزمایشات کلینیکی و دیگر درمانهای آزمایشی آنتی بادی ها، درمان های ایمنی ممکن است هنوز همزمان با درمان داروهای معمولی یا به عنوان یک مکانیسم برای کاهش عفونت های سخت حیوانات تازه متولد شده یا با اختلال ایمنی فردی، مفید باشند (۲۲).

۲-۵-۱- جداسازی و تشخیص کریپتوسپوریدیوم

فاز اول مطالعاتی جداسازی و تشخیص کریپتوسپوریدیوم با جمع آوری نمونه مدفوع صورت گرفت. نمونه مدفوع به طور مستقیم از رکتوم گوساله های مبتلا به اسهال که تحت درمان با آنتی بیوتیک قرار نگرفته اند و از گاوداری های سطح استان اصفهان تهیه می گردد. تعداد ۴۵ نمونه از دامداری ها جمع آوری و نمونه های مدفوع جمع آوری شده با استفاده از کیت الایزا بایوایکس جهت تشخیص نمونه های مثبت بررسی شد که از تعداد ۴۵ نمونه ۱۶ نمونه مثبت و آلوده به انگل کریپتوسپوریدیوم تشخیص داده شد. سپس جهت نگهداری نمونه های مدفوع مورد نظر به نسبت ۱:۲ با دی کرومات پتاسیم ۲/۵٪ مخلوط شده و در دمای ۴°C تا زمان تخلیص نگهداری گردید. به منظور خالص سازی اووسیت های انگل از روش اصلاح شده وینتر^۱ و همکاران استفاده می شود (۲۳). نمونه های مدفوع جمع آوری شده با تنظیف صاف و در فالكون ۵۰ میلی لیتری توسط سرم فیزیولوژی بالانس و نمونه ها با ۲۰۰۰ g به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ می گردند. رسوب



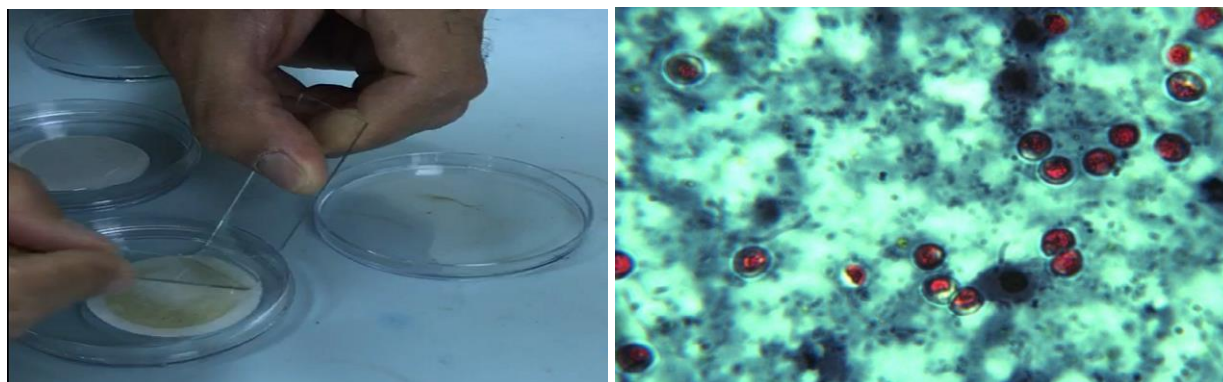
بدست آمده را با حدود ۳ تا ۴ میلی لیتر اتر به آرامی زیر هود مخلوط کرده و به آهستگی درب آن را باز تا گاز آن خارج شود و سپس این نمونه ها با ۲۵۰۰ g به مدت ۲/۵ دقیقه سانتریفیوژ می گردد. (درب فالكون باید کاملاً بسته ولی یک دور باز باشد).

شکل ۱۱: جمع آوری، تست و نگهداری نمونه های مدفوع آلوده به کریپتوسپوریدیوم

¹. Winter

سپس محلول رویی را دور ریخته و به رسوب ته نشین شده حاوی انگل یک میلی لیتر سرم فیزیولوژی اضافه کرده و به شدت تکان داده و به منظور تشخیص وجود انگل در نمونه های جدا شده و ادامه روند تخلیص از رنگ آمیزی اسید فاست^۱ یا ذیل نیلسون^۲ استفاده می گردد.

برای این منظور از رسوب بدست آمده یک قطره روی لام گذاشته، با مداد الماس شماره زده و زیر باد گرم خشک کرده، پس از خشک شدن، بر روی لام متانول ریخته تا کاملاً فیکس شود. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در رنگ کربول فوشین گذاشته، بعد از این زمان از رنگ خارج و در آب شستشو داده می شود. مرحله ی بعد ۴۰ ثانیه در اسید الکل می باشد. ۳ درصد اسید سولفوریک یا اسید کلریدریک با ۹۷ میلی لیتر الکل ۹۶ درجه)، مجدد زیر آب شستشو داده شد. سپس لام را حدود ۷۰ ثانیه در متیلن بلو قرار داده و در مرحله ی بعد شستشو با آب و در آخر خشک شدن انجام شد. در لام های آماده شده زیر میکروسکوپ نوری و با استفاده از روغن ایمرسیون و عدسی ۱۰۰، اووسیت های چهار اسپروزویتی صورتی در زمینه آبی مشاهده می شوند.



شکل ۱۲: رسوب حاوی اووسیت سمت راست، مراحل آماده سازی لام از انگل کریپتوسپوریديوم سمت چپ

برای تهیه ی محلول ۴ مولار سوکروز، ۱۲۰۰ گرم شکر را در یک لیتر آب مقطر حل کرده و در فالكون های ۱۰ میلی لیتری، حدود ۵ میلی لیتر سوکروز ریخته و برای انجام بهتر این مرحله در فریزر قرار داده تا یخ بزند، سپس حدود ۳ میلی لیتر از محلول فالكون حاوی انگل را در فالكون های سوکروز تقسیم کرده و نمونه ها با ۱۶۰۰ g حدود ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می شود. بعد از سانتریفیوژ با سوکروز محلول رویی را دور ریخته و رسوب را در یک فالكون ۵۰ میلی لیتری ریخته و حجم را با سرم فیزیولوژی به ۵۰ میلی لیتر رسانده و فالكون ها با ۳۰۰۰ g حدود ۲ دقیقه سانتریفیوژ و سپس شستشو داده می شود. بعد از این زمان روی آن را خالی کرده و رسوب باقیمانده حاوی حداکثر اووسیست کریپتوسپوریديوم می باشد. سپس رسوب بدست آمده در تیوپ ۱/۵ میلی لیتری و در فریزر نگهداری می گردد. برای شمارش تعداد، یک بار رسوب را با سرم فیزیولوژی شسته و یک قطره با سمپلر ۱۰ یا ۵ ماکرولیتبر برداشته و با استفاده از رنگ آمیزی ذیل نلسون کل لام را شمارش می کنیم.

^۱ . Acid fast staining

^۲ . Ziehl-Neelsen method

۲-۵-۲- تهیه آنتی ژن خام از اووسیت های کریپتوسپوریدیوم پارووم

به منظور تهیه آنتی ژن، پس از خالص سازی اووسیت کریپتوسپوریدیوم پارووم با روش وینتر و همکاران^۱، 600×10^6 اووسیت خالص را در ۱۲ میکروتیوب استریل به طور مساوی تقسیم کرده به گونه ای که هر میکروتیوب حاوی 50×10^6 اووسیت بود. جهت اطمینان بیشتر مجدداً پس از ریختن اووسیت های خالص در میکروتیوب ها، شمارش اووسیت ها انجام گردید. سپس میکروتیوب های حاوی اووسیت ها را با استفاده از PBS (pH=7.2) استریل به حجم ۵۰۰ میکرولیتر رسانده و در اتوکلاو (۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار 1.5 بار) به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد. سپس دیواره اووسیت ها با استفاده از دستگاه سونیکاتور با سیکل ۰.۵ و آمپلی تود ۶۰٪ و فواصل ۲۰ ثانیه به مدت ۴۵ دقیقه با حفظ زنجیره سرمایی شکسته شد. ۵ میکرولیتر از محلول حاصل جهت بررسی میزان شکسته شدن جدار اووسیت های کریپتوسپوریدیوم پارووم در زیر میکرسکوپ نوری با درشت نمایی ۴۰ برابر بررسی گردید. در مرحله بعد جهت خرد کردن جداره اووسیت های باقی مانده سه بار عمل انجماد - ذوب در نیتروژن مایع انجام شد سپس غلظت پروتئین به روش برادفورد تعیین گردید.

۲-۵-۳- رها سازی اسپوروزوئیت های انگل

اووسیت های خالص شده در مجاورت مایع آزاد کننده اسپوروزوئیت^۱ و در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی گراد همراه با تکان دادن قرار گرفتند. مایع آزاد کننده اسپوروزوئیت در این مطالعه شامل ابتدا محلول ۱ درصد تریپسین به مدت یک ساعت و سپس اضافه نمودن محلول ۲۰ درصد صفرای ماکیان در PBS بود. جستجوی میکروسکوپی تعلیق به منظور مشاهده اسپوروزوئیت های متحرک رها شده صورت گرفت. آزادسازی اسپوروزوئیت ها به عنوان شاخص آزمایشگاهی برای زنده مانی اووسیت ها در نظر گرفته شده است (۱۷).

۲-۵-۴- تکثیر در تخم مرغ جنین دار SPF

تخم مرغ های جنین دار عاری از پاتوژن های اختصاصی^۲ از کشور آلمان و در موسسه رازی تهیه می شوند. به منظور تکثیر انگل در تخم مرغ جنین دار دو نمونه تلقیح می گردد: الف) اووسیت های خالص شده و کامل (بدون رها نمودن اسپوروزوئیت ها در آزمایشگاه) به میزان 1×10^5 اووسیت به هر تخم مرغ. ب) اووسیت های خالص شده که در معرض مایع آزاد کننده اسپوروزوئیت، به همان میزان اووسیت اولیه برای هر تخم مرغ تزریق می شوند (۱۱). به این صورت که با ۱ درصد HCl و ۱ درصد صفرا در ۳۷ درجه سانتی گراد و برای ۹۰ دقیقه تربیت می شوند) و برای هر نمونه تلقیح شده پنج تخم مرغ در نظر گرفته شده و این مرحله آزمایش یک بار دیگر هم به همین روش تکرار می گردد.

^۱ . Excystation fluid

^۲ . Specific pathogen free

در تمامی موارد تلقیح در تخم مرغ جنین دار، از تخم مرغ های SPF ۹ تا ۱۱ روزه و روش تلقیح داخل حفره آلانتوئیک استفاده می شود. پس از اطمینان از زنده بودن جنین ها با کمک نوربینی^۱، محل تزریق با محلول بتادین ضد عفونی شده و ۰/۲ ml از نمونه های آماده در شرایط کاملاً استریل و در کنار شعله به داخل حفره ی آلانتوئیک تلقیح می گردید. به منظور ممانعت از آلودگی باکتریایی و قارچی به نمونه های مورد نظر آنتی بیوتیک های پنی سیلین، استرپتومایسین و جنتامایسین به ترتیب به مقدار IU/ml ۱۰۰۰۰، ۱۰ mg/ml و ۰/۲۵ mg/ml و ضد قارچ نیستاتین به میزان IU/ml ۵۰۰۰ افزوده می گردد. پس از تلقیح، محل تزریق با کمک پارافین سرد شده مسدود شده و تخم مرغ ها را در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده و هر روز نوربینی می شوند. پس از ۷ روز با کمک قیچی پوسته ناحیه اتاقک هوایی برداشته شده و پس از ایجاد سوراخ در ناحیه کم عروق پرده کوریو آلانتوئیک، با کمک پیپت مایع آلانتوئیک تخلیه می گردد. از هر تخم مرغ حدود ۱۵-۱۰ میلی لیتر مایع بدست می آید. با مشاهده میکروسکوپی قطره ای از مایع جمع آوری شده در صورتی که اووسیت های انگل دیده شود، مایع جمع آوری شده به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰ g سانتریفیوژ می گردید و رسوب حاصل در دی کرومات پتاسیم ۲/۵ درصد نگهداری می شود (۲۴). بمنظور تهیه محتوای آنتی ژنیک ابتدا محلول بدست آمده سانتریفیوژ شده و رسوب پرتوزا بدست آمده در 50 ml محلول PBS (pH= 7.2) حاوی فرمالین ۰/۴ درصد به مدت یک شب در انکوباتور شیکردار ۳۷ درجه نگهداری می گردد. در مرحله بعد به منظور حذف فرمالین، محلول بدست آمده دو بار با PBS استریل شسته و به مدت ۲۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. رسوب بدست آمده در فرآیند سونیکاسیون برای تهیه اجزاء آنتی ژنیک مورد استفاده قرار گرفت. هموژناسیون نمونه با استفاده از دستگاه سونیکاتور Hilscher در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه در سیکل ۰.۵ و Amplitude= 50 انجام گرفت. محلول آنتی ژنی خام تهیه شده تا زمان استفاده در فریزر -۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

۲-۶- معرفی روتاویروس

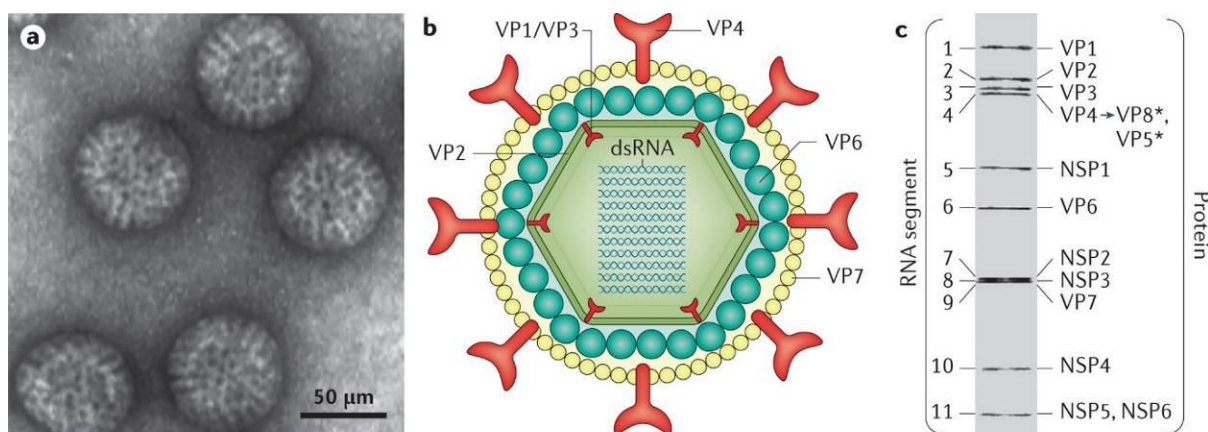
روتاویروس^۲ عضو خانواده رئوویریده^۳ می باشد که موجب اسهال در حیوان ها و گونه های جوان می شود. ۱۱ قطعه RNA دو-رشته ای ژنوم روتاویروس، ۶ تا پروتئین ساختاری (VP1، VP2، VP3، VP4، VP6، VP7) و ۶ تا پروتئین غیرساختاری (NSP1، NSP2، NSP3، NSP4، NSP5 و NSP6) را کد می کند. ذره ویروسی از ۳ لایه پروتئینی تشکیل شده است. VP4 و VP7 کپسید بیرونی ویروس تشکیل داده اند که حاوی اپی توپ های خنثی کننده می باشند. کپسید میانی (VP6)، کپسید داخلی (VP2) را احاطه کرده است. هسته ویروس از RNA پلی مرز وابسته به RNA (VP1)، آنزیم RNA capping (VP3) و ۱۱ dsRNA تشکیل شده است (شکل ۱۶). NSP ها نقش مختلفی در تکثیر و تشکیل ساختار ویروس و فرار از سیستم ایمنی ایفا می کنند (۲۵).

^۱. Candeling

^۲. Rotavirus

^۳. Reoviridae

روتاویروس به ۱۰ گروه (A-J) بر اساس توالی و تفاوت آنتیژنیک VP6 طبقه بندی شده است (۲۶). اخیراً، یک سیستم ژنوتایپ براساس توالی‌های نوکلئوتیدی ۱۱ قطعه ژنی جهت طبقه بندی روتاویروس ایجاد شده است. براساس این طبقه بندی ۱۳ نوع I (پوسته کپسید میانی، VP6)، ۶ نوع R (RNA پلی‌مراز، VP1)، ۶ نوع C (پوسته هسته، VP2)، ۷ نوع M (متیل ترنسفرز، VP3)، ۱۶ نوع A (آنتاگونیست اینترفرون، NSP1)، ۶ نوع NTPase (N، NSP2)، ۸ نوع T (translation enhancer، NSP3)، ۱۲ نوع E (انترتوکسین، NSP4) و ۸ نوع T (فسفوپروتئین، NSP5) ژنوتایپ ایجاد و منتشر شده است (۲۷).



شکل ۱۳: (A) ساختار روتاویروس (B) شکل شماتیک مقطعی ذرات سه لایه روتاویروس (C) مهاجرت الکتروفورتیک ۱۱ dsRNA روتاویروس و پروتئین کدگذاری شده برای سویه روتاویروس میمونی (SA ۱۱) (۲۸)

یک پاتوژن اصلی مسئول بیماری اسهال در گوساله‌های سراسر جهان، روتاویروس می‌باشد. این بیماری باعث افزایش مرگ و میر، کاهش وزن گوساله‌ها و افزایش پتانسیل گسترش بیماری مشترک و دام می‌شود. گروه A شایع‌ترین (۹۵٪) گروهی می‌باشد، که گوساله‌ها را آلوده می‌کند. فراوانی گروه B و C کمتر می‌باشد. ویروس از طریق مدفوعی دهانی منتقل می‌شود و بسیار عفونی است زیرا ذرات ویروس در مدفوع آلوده بسیار زیاد است (۱۰^{۱۰}-۱۰^{۱۲}) و همچنین ویروس در برابر غیرفعال شدن مقاوم است و می‌تواند به مدت ۹ ماه در دمای اتاق یا ۱ ساعت در دمای ۶۰ °C زنده بماند. روتاویروس توسط ضدعفونی کننده‌های معمولی به راحتی غیرفعال نمی‌شود. درمانی برای BRV وجود ندارد، اما تشخیص زودهنگام، اقدامات پیشگیری و کنترل مناسب از ضررهای اقتصادی بزرگ آن جلوگیری می‌کند. استراتژی اولیه برای کاهش بار عفونت‌های روتاویروس، واکسیناسیون است (۲۹).

۲-۶-۱- واکسن‌های روتاویروس دارای مجوز

واکسن روتاتک^۱ (Merck and Co) یک واکسن روتاویروس گاوی-انسانی پنج ظرفیتی می‌باشد که در سه دوز توزیع می‌شود. روتاریکس^۲ یک (GSK Biologics) واکسن تک ظرفیتی است که در دو دوز توزیع می‌شود. این دو واکسن زنده و خوراکی روتاویروس هستند که توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) تایید شده‌اند و از سال ۲۰۰۶ در بیش از ۱۰۰ کشور مجوز دریافت کرده‌اند. روتاسیل^۳ (موسسه سرم هند)، یک واکسن گاوی-انسانی ۵ ظرفیتی است که در دو دوز توزیع می‌شود و روتاواک^۴ (بیوتک بهارات)، یک واکسن گاوی-انسانی تک ظرفیتی می‌باشد که در ۳ دوز توزیع می‌شود. این دو واکسن خوراکی روتاویروس زنده به تازگی مجوز گرفته‌اند و منتظر تایید WHO می‌باشند. علاوه بر این، واکسن‌های خوراکی روتاویروس زنده بره لانژو^۵ (LLR) (موسسه محصولات بیولوژیکی لانژو، چین) با مجوز داخلی در چین و Rotavin-M1 (پلی واک، ویتنام) در دسترس هستند.

کارآزمایی بالینی برای پیشگیری از بیماری شدید، میزان اثربخشی واکسن‌های روتاتک و روتاریکس در کشورهای با درآمد بالا و متوسط را بیش از ۹۰٪ گزارش کردند و در کشورهایی که مرگ و میر کودکان زیاد بود، اثر بخشی را حدود ۵۰ تا ۶۴٪ گزارش کردند. همچنین میزان اثربخشی واکسن در برابر بستری شدن در آزمایشات بالینی بر روی واکسن‌های روتاواک در هند ۵۴٪ و بر روی روتاسیل در نیجر ۶۷٪ و در هند ۳۹٪ بود (۳۰). سازمان بهداشت جهانی از سال ۲۰۰۹ واکسن روتاویروس را توصیه کرد و به دنبال آن تا سال ۲۰۱۹، ۱۰۸ کشور از این واکسن استفاده کردند (۳۱). گسترش استفاده از واکسن‌های روتاویروس در سراسر جهان منجر به کاهش ۵۹ درصدی بستری شدن در بیمارستان و کاهش ۳۶ درصدی مرگ و میر ناشی از اسهال روتاویروس در کشورهایی که از واکسن استفاده کرده‌اند شده است (۳۲).

نسل اول واکسن‌های روتاویروس زنده ضعیف شده مانند روتاتک و روتاریکس، در کاهش تعداد گاستروانتریت حاد و مرگ و میر کودکان در سطح جهان موفق بودند (۳۳). با این حال، کارایی پایین واکسن‌های خوراکی نسل اول و نگرانی‌های متعدد در رابطه با ایمنی و هزینه‌ها منجر به نیاز برای توسعه واکسن‌های روتاویروس بهبود یافته می‌شود. واکسن‌های روتاویروس نسل جدید با استفاده از سویه‌ها، فرمول‌ها و روش‌های مختلف تجویز جهت بهبود عملکرد و تاثیرگذاری واکسن در کشورها در حال توسعه هستند (۳۴).

موسسه ملی بهداشت ایالت متحده (NIH) واکسن روتاویروس گاوی^۶ (UK-BRV) که یک واکسن چهارظرفیتی گاوی-انسانی است را تولید کردند. این واکسن از روتاویروس گاوی G6P با ژن‌های VP7 انسانی برای سروتایپ‌های G1، G2، G3 و G4 گرفته شده و در آزمایش‌های بالینی پاسخ ایمنی قوی به آنتی ژن‌های روتاویروس نشان داده است. نتایج این تحقیقات باعث توسعه جهانی کاندیدهای واکسن شده است و مجوز تولید غیرانحصاری برای توسعه و تولید واکسن UK-BRV به چندین تولیدکننده واکسن تجاری در هند و چین اعطا شده است. این واکسن از یک سویه روتاویروس (G3P[6], RV3) جدا شده از

1. Rotateq

2. Rotarix

3. Rotasiil

4. Rotavac

5. Lanzhou lamb rotavirus

6. UK-Compton

نوزاد در استرالیا گرفته شده که در نوزادان در برابر بیماری روتاویروس محافظت بالینی ایجاد می‌کند. مطالعات بالینی فاز ۲ نشان داده که نوزادانی که با این واکسن واکسینه شده بودند اثربخشی ۹۴٪ را نشان داده‌اند (۳۵).

در این واکسن‌ها، ذرات ویروس غیرفعال و بخشی از پروتئین‌های ویروس، به عنوان کاندیدهای ویروس مورد بررسی قرار می‌گیرند. مزایای استفاده از ذرات روتاویروس غیرفعال و پروتئین‌های روتاویروس به جای واکسن‌های خوراکی زنده فعال عبارتند از: (۱) بهبود ایمنی (۲) اثربخشی بهبود یافته (۳) کاهش هزینه‌های تولید پروتئین برش خورده VP8 از ژنوتاپ P[4], P[8], یا P[6] بیان شده در میزبان *E.Coli* در US NIH به عنوان پیشرفته ترین کاندید واکسن روتاویروس معرفی شده است (۳۴). این واکسن می‌تواند پاسخ ایمنی خنثی کننده سرم در حیوانات ایجاد کند و هنگامی که با اپی‌توپ P2 سم کزاز همراه شد، ایمنی‌زایی آن به طور قابل توجهی افزایش پیدا کرد. ویروس کامل غیرفعال شده توسط مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌های ایالت متحده (CDC, USA) در حال توسعه است. واکسن CDC-9 در سلول‌های Vero تکثیر می‌شوند و با استفاده از حرارت به طور کامل غیرفعال می‌شوند. تزریق داخل عضلانی این ویروس غیرفعال با ادجوانت آلومینیوم در موش‌ها موجب ایجاد پاسخ ایمنی قوی و محافظت در برابر چالش‌های دهانی شده است. مطالعات نشان داد که با دریافت ۳ دوز پاسخ ایمنی افزایش می‌یابد. استفاده از زیرواحدهای روتاویروس و ذرات ویروس مانند (VLP) مانند آنتی‌ژن کپسید داخلی VP6 و یا پروتئین کپسیدهای خارجی VP4 و VP7 به عنوان روش‌های طراحی ویروس پیشنهاد شده است که در بیشترین مطالعات پیش بالینی، پاسخ ایمنی قوی را در موش ایجاد کرده‌اند و حفاظت در برابر چالش دهانی با سویه-های روتاویروس نشان داده‌اند.

پروتئین VP6 که به صورت کایمر با پروتئین مالتوز (MBP:VP6) بیان شده است، هنگامی که از طریق داخل بینی، داخل رکتوم یا خوراکی به موش تجویز می‌شود، پاسخ ایمنی‌زایی و حفاظت را نشان داده است. اگر این پروتئین حفاظت قابل توجهی را در انسان نیز ایجاد کند، یک نامزد بالقوه واکسن نسل دوم خواهد شد (۳۴).

۲-۶-۲- بخش‌های آنتی ژنیک در روتاویروس

پروتئین‌های VP4، VP6 و VP7 نقش عمده‌ای در حفظ ساختار ویروسی، اتصال ویروس و آنتی ژنی دارند. پروتئین‌های کپسید خارجی ویروس VP4 و VP7 اهدافی برای آنتی بادی‌های خنثی کننده می-باشند (۲۹).

پروتئین کپسید VP4 که می‌تواند مقدمات اتصال و ورود ویروس را به داخل سلول میزبان فراهم کند، به عنوان یکی از اهداف مهم برای تولید واکسن‌های نو ترکیب شناخته شده است (۳۶). این پروتئین در حضور تریپسین به دو پروتئین VP5 و VP8 می‌شکند. ویروس به واسطه VP8 می‌تواند به سلول متصل شود و به واسطه VP5 به داخل سلول میزبان نفوذ کند. مطالعات نشان داده است که پروتئین‌های VP4، VP8 و VP5 قادر به تولی آنتی‌بادی‌های خنثی کننده می‌باشند. میزان اثر بخشی آنتی بادی‌های تولید شده علیه پروتئین VP4 بیشتر بوده ولی بیان پایین این پروتئین در سیستم باکتریایی موجب محدودیت استفاده این پروتئین در تولید واکسن شده است (۳۷). در مطالعه‌ای دیگر گزارش شده است که اسید آمینه ۶۵ تا ۲۵۳

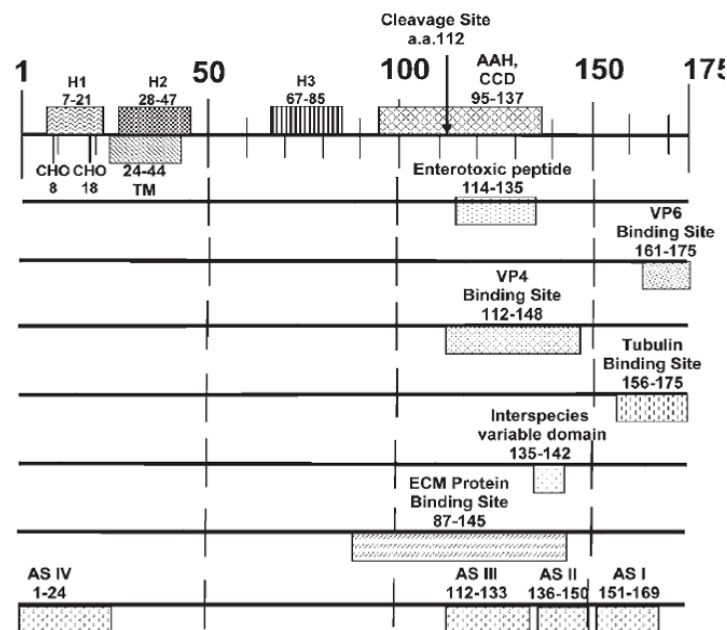
پروتئین VP8 به میزان زیادی در باکتری بیان می‌شود و تیتراژ آنتی بادی بالایی را در خوکچه هندی تولید می‌کند اما پاسخ ایمنی ضعیف در موش ایجاد کرده است. لی و همکاران^۱ گزارش کردند اسیدآمینه ۲۶ تا ۴۷۶ (حاوی دمین VP8 و دمین آنتی‌ژنی VP5) که در *E. coli* نیز به صورت محلول بیان می‌شود به همراه ادجوانت آلومینیوم سطوح بالایی از آنتی‌بادی خنثی کننده را در موش تولید می‌کند و در برابر اسهال ناشی از روتاویروس و دفع مدفوعی روتاویروس پس از چالش مدل موشی حفاظت ایجاد کرده است (۳۶).

VP7 پروتئین گلیکوپروتئین است که به کلسیم متصل می‌شود و لایه بیرونی ویروس را تشکیل می‌دهد. هر دو VP4 و VP7 اهدافی برای پاسخ ایمنی هومورال هستند و به طور مستقل آنتی بادی های خنثی کننده و محافظت را ایجاد می‌کنند. حفاظت غیرفعال در برابر اسهال ناشی از روتاویروس در مدل های تجربی موش با استفاده از آنتی بادی های مونوکلونال (mAbs) علیه VP4 و VP7 به دست آمده است. اتصال آنتی بادی مونوکلونال VP7 از انحلال کپسید بیرونی جلوگیری می‌کند که منجر به ممانعت از چرخه تکثیر سلول می‌شود. فعالیت مهار آنتی بادی خنثی کننده ضد VP7 وابسته به غلظت آنتی‌بادی بود (۳۸).

VP6 پروتئین ساختاری کپسید میانی روتاویروس، یک ساختار حفاظت شده با ایمنی‌زایی بالا است. این پروتئین می‌تواند ساختارهای خودآرای در اندازه نانو (ذرات ویروس-مانند، VLP) را ایجاد کند و به عنوان ادجوانت، حامل‌های ایمنولوژیک و حامل‌های تحویل دارو مورد استفاده قرار گیرد. پروتئین VP6 آنتی‌بادی‌های خنثی کننده تولید نمی‌کند اما آنتی بادی‌های ضد VP6 آن توانایی القای پاسخ‌های ایمنی قوی همولوگ و واکنش متقابل دارند و می‌تواند نقش مهمی را در حفاظت ایفا کند. در این راستا، پروتئین‌های VP6 به‌عنوان نسل جدیدی از واکسن‌های روتاویروس، نتایج امیدوارکننده‌ای را در مدل‌های حیوانی ارائه کرده‌اند (۳۹).

NSP4 پروتئین غیر ساختاری شماره ۴ روتاویروس می‌باشد که توسط ژن ۱۰ کد می‌شود و در حیوانات و انسان‌ها موجب اسهال می‌شود. این پروتئین دارای عملکردهای مختلفی می‌باشد. NSP4 در غشای شبکه اندوپلاسمی به عنوان گیرنده برای ورود ذرات دولایه داخل سلول عمل می‌کند. همچنین این پروتئین در بیماری‌زایی عفونت روتاویروس نقش دارد و به عنوان انترتوکسین روتاویروس عمل می‌کند. تزریق پپتید (اسیدآمینه ۱۱۴ تا ۱۳۵ NSP4) باعث القای اسهال وابسته به سن در موش می‌گردد (۴۰). پروتئین برش خورده (اسیدآمینه ۱۱۲-۱۷۵) که از سلول‌های آلوده به ویروس آزاد شده‌اند، همانند NSP4 کامل باعث القا اسهال در موش شده‌اند (۴۱). کاوانا و همکاران هر دو NSP4 کامل و برش خورده (۱۱۲-۱۷۵) دارای خواص ادجوانتی هستند (۴۲). نقشه شماتیک عملکرد دومین‌های NSP4 خطی در شکل ۱۷ مشاهده می‌شود (۴۳).

¹. Li et al

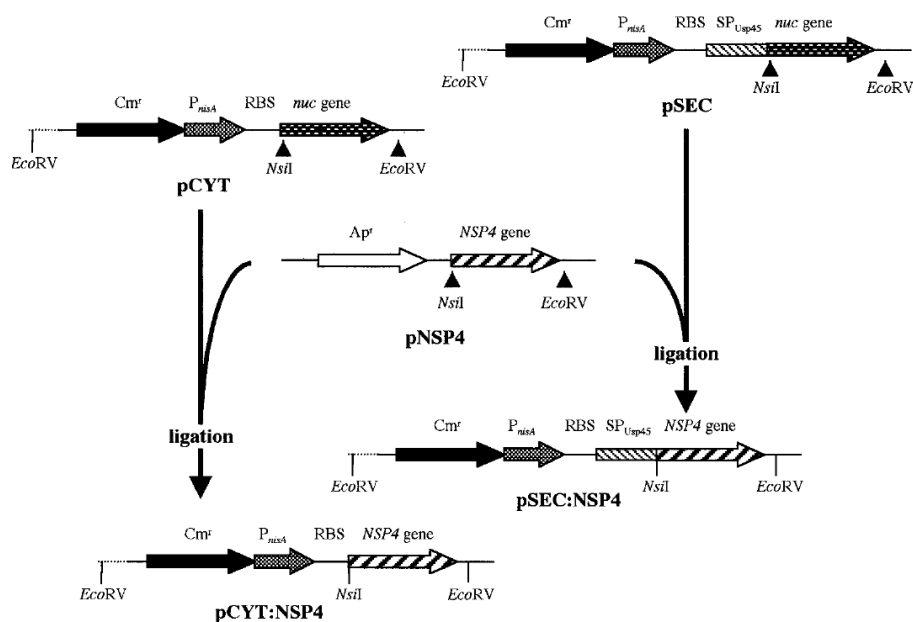


شکل ۱۴: نقشه شماتیک عملکرد دومین‌های NSP4 خطی. در ناحیه N ترمینال ۳ دومین هیدروفوبیک وجود دارد: H1، H2 و H3. در ناحیه دومین H1 دو ناحیه N-linked glycosylation در اسیدآمینه ۸ و ۱۸ قبل از دومین غشائی شبکه آندوپلاسمی وجود دارد. یک دومین گسترده سیتوپلاسم (۴۵-۱۷۵) و یک دومین کوچک ER (۱-۲۳) وجود دارد. اسیدآمینه ۱۱۴-۱۳۵ به عنوان انتروتوکسین شناسایی شده است. چهار محل آنتی ژن: AS I (۱۵۱-۱۶۹)، AS II (۱۳۶-۱۵۰)، AS III (۱۱۲-۱۳۳) و AS IV (۱-۲۴) وجود دارد (۴۳).

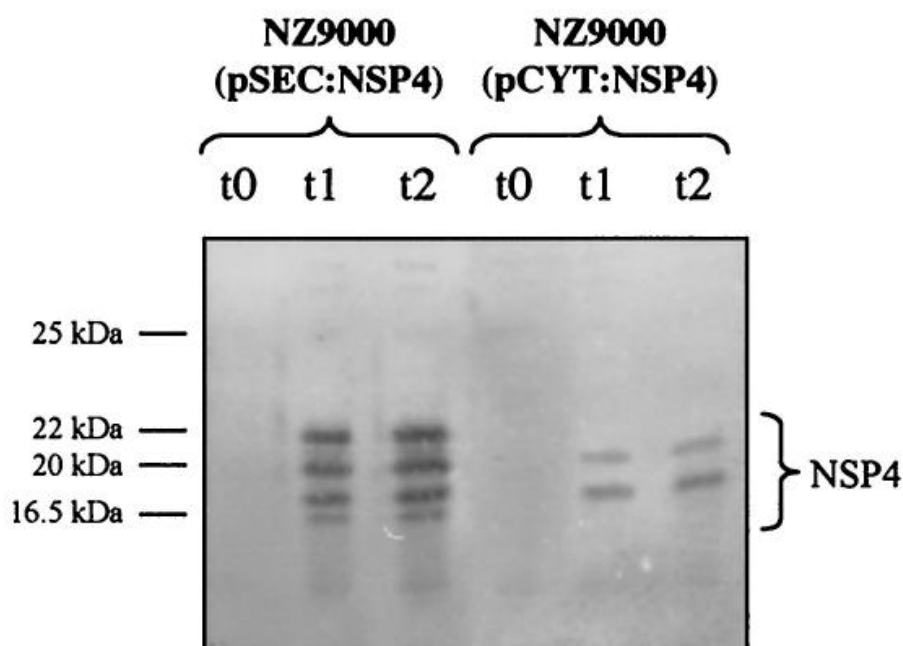
۲-۶-۳- بیان آنتی‌ژن NSP4 در *E. coli*

دانشمندان طی مطالعاتی سعی در بیان پروتئین کامل NSP4 در باکتری *E. coli* نمودند اما پروتئین کامل ناپایدار بود و یا در فاز نامحلول بیان شد که این پروتئین در فاز محلول فعالیت بیولوژیکی ندارد (۴۴). همچنین جهت تخلیص، پروتئین باید در فاز محلول باشد. از این رو در بعضی مطالعات NSP4 را به کمک اوره دناتوره و حل کرده‌اند (۴۵، ۴۶). پروتئین دناتوره ساختار فضایی خودش را از دست می‌دهد. برگرداندن ساختار فضایی، کاری مشکل می‌باشد (۴۴).

توالی کامل NSP4 روتاویروس گاوی سویه RF را ابتدا در pMAL-c2 و pET23b+ کلون و سپس در باکتری B121 بیان کردند. توالی صحیح در وکتور pET23b+ کلون شد اما NSP4 کلون شده در وکتور pMAL-c2 دارای موتانت بود. پروتئین در باکتری حاوی وکتور pET23b-NSP4 بیان و تخلیص شد. سپس با آنتی بادی ضد NSP4 و سترن بلات گذاشته شد، اما شناسایی نشد. بنابراین NSP4 را در وکتور pSEC و pCYT که تحت پروموتور نیسین هستند کلون کردند (شکل ۱۸). وکتور pSEC حاوی سیگنال SPUsp45 می‌باشد. NSP4 در باکتری *Lactococcus lactis* بیان شد. در باکتری حاوی وکتور pSEC چهار باند پروتئین (۱-۲۲ کیلودالتون: NSP4 به همراه سیگنال پپتید ۲-۲۰ کیلودالتون: NSP4 ۳ و ۴-۱۸ و ۱۶.۵ کیلودالتون: NSP4 تخریب شده) و در باکتری حاوی وکتور pCYT دو باند پروتئین (۱-۲۰ کیلودالتون: NSP4 ۲-۱۸ کیلودالتون: پروتئین تخریب شده) مشاهده شد. میزان بیان پروتئین در وکتور pSEC، ۱۰ برابر بیشتر از وکتور pCYT بود، زیرا سیگنال پپتید الحاقی منجر به فرار از پروتئازهای باکتریایی و افزایش مقدار بیان پروتئین در باکتری شده است (۴۷).

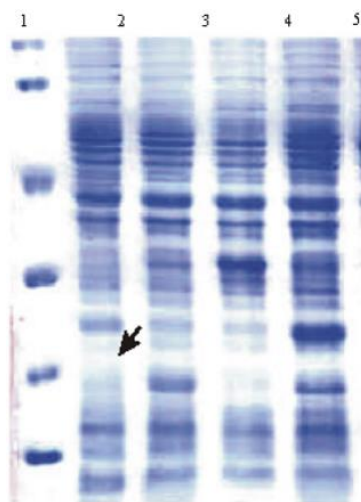


شکل ۱۵: ساختار $pCYT:NSP4$ و $pSEC:NSP4$ ، ژن nuc ، ژن $NSP4$



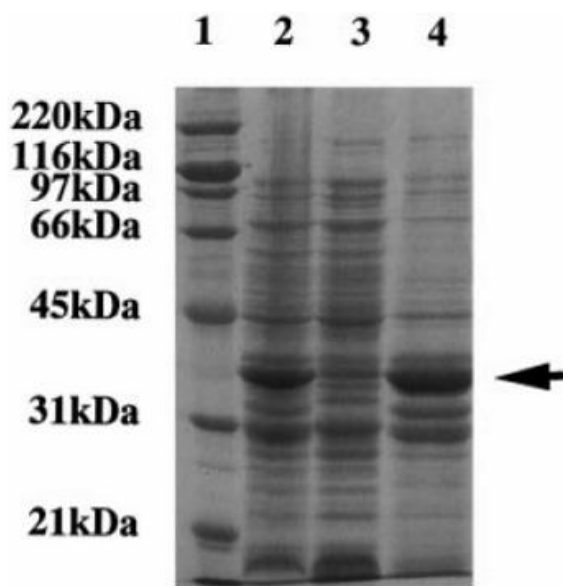
شکل ۱۶: تولید $NSP4$ در باکتری $L. lactis$ در وکتور $pSEC:NSP4$ و $pCYT:NSP4$

در سال ۲۰۰۵ $NSP4$ روتاویروسی انسانی سویه Wa را در وکتور pQE-30 کلون شد. پروتئین $NSP4$ الحاق شده با His-tag در باکتری بیان شد (شکل ۲۰). سپس تحت شرایط طبیعی و دنا توره با استفاده از کروماتوگرافی میل ترکیبی Ni-NTA تخلیص شد. مقدار پروتئین تخلیص شده تحت شرایط دنا توره بیشتر از شرایط طبیعی بود (۴۴)

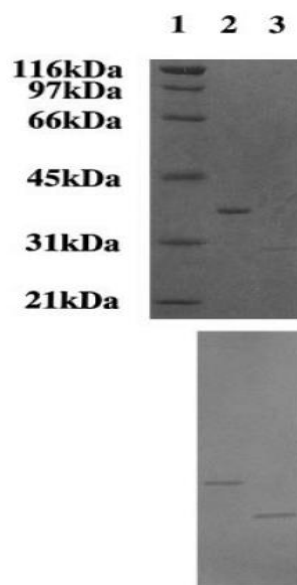


شکل ۱۷: آنالیز بیان پروتئین NSP4 روی ژل SDS-PAGE: (۱) لدر (۲) باکتری القا نشده ۳ و (۵) باکتری القا شده (۴) کنترل منفی

توالی برش خورده ۸۶ تا ۱۷۵ NSP4 موشی EW در وکتور بیانی pGEX-4T-1 کلون شد. سپس GST-EW-NSP4₈₆₋₁₇₅ در باکتری *E. coli* بیان کردند (شکل ۲۱) و با استفاده از گلوپاتیون سفارز تخلیص کردند (شکل ۲۲). پروتئین محلول ۵ میلی گرم در لیتر بود (۴۸).

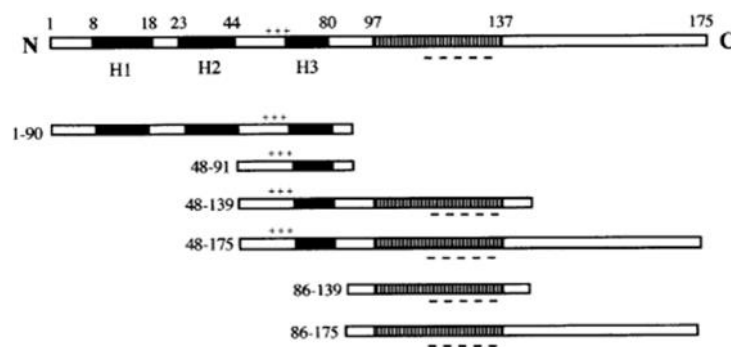


شکل ۱۸. بیان پروتئین GST-EW-NSP4₈₆₋₁₇₅ در *E. coli* (۱) لدر (۲) کل باکتری لیز شده *E. coli* (۳) پروتئین های محلول *E. coli* (۴) بخش نامحلول پروتئین.

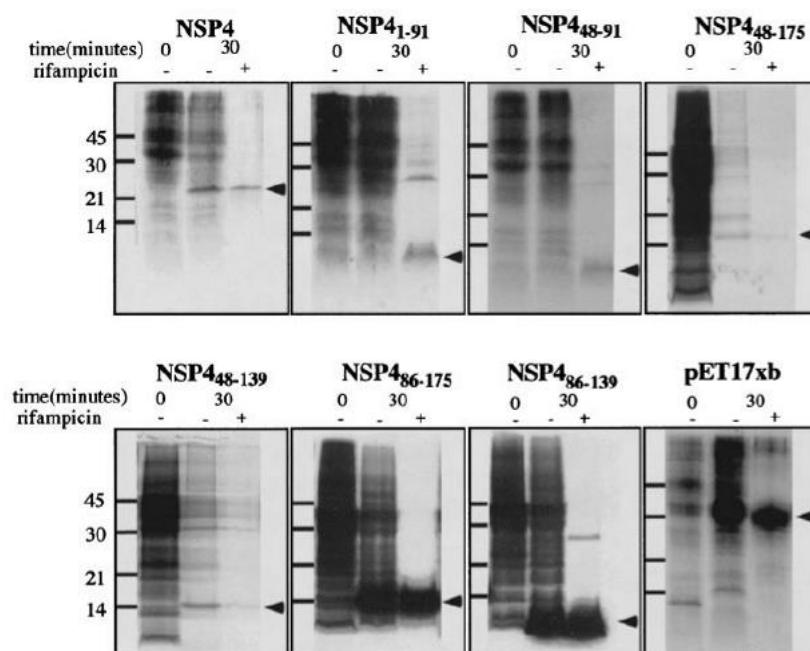


شکل ۱۹. پروتئین تخلیص شده GST-EW-NSP486-175 و GST روی ژل SDS-PAGE (۱) لدر ۲) پروتئین تخلیص شده با GST (۳) پروتئین GST تخلیص شده - عکس دوم: وسترن بلات با آنتی بادی ضد GST

NSP4 کامل و برش خورده روتاویروس سویه میمونی SA11 در وکتور بیانی pET17-xb کلون شد (شکل ۲۳) و در باکتری pLysS BL21(DE3) بیان کردند. نتایج نشان داد که ناحیه برش خورده NSP4 از اسید آمینه ۸۶ تا ۱۳۹ و ۸۶ تا ۱۷۵ بیشترین میزان بیان را داشته است در حالی که NSP4 کامل به سختی بیان شده است (شکل ۲۴). چگالی نوری در محیط کشت بعد از القا NSP4 کامل کاهش یافت. این کاهش در محیط کشت باکتری‌های القا نشده و یا باکتری‌هایی که پروتئین پوششی فاژ T7 را بیان کردند مشاهده نشد. در این مطالعه نتیجه گرفته شد که این پروتئین منجر به بی ثباتی غشا باکتری، آزادسازی لیزوزیم T7، لیز سلولی و در نتیجه کاهش چگالی نوری در محیط کشت شده است (۴۹).

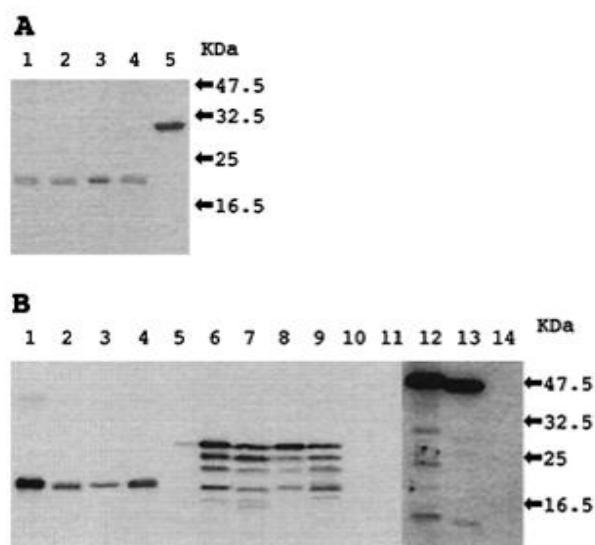


شکل ۲۰. نمایش شماتیک پروتئین کامل NSP4 و نواحی برش خورده NSP4 بیان شده در *E. coli*.



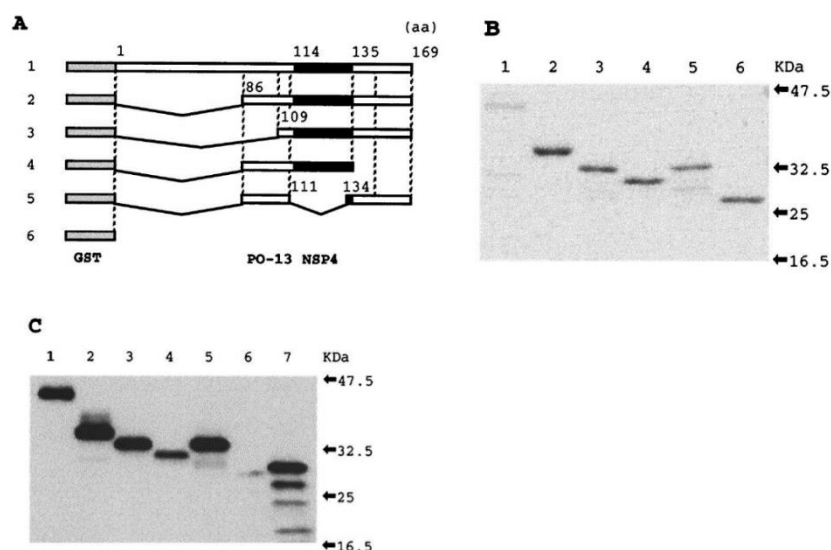
شکل ۲۱. بیان NSP4 کامل و نواحی برش خورده NSP4

توالی کامل NSP4 پرندگان (کبوتر سویه PO-13، بوقلمون Ty-1 و Ty-3 و مرغ سویه ch-1) در وکتور pGEX-2T کلون شد. پروتئین GST-NSP4 را در باکتری بیان و با استفاده از ستون گلاتاتیون سفارز تخلیص شد (شکل ۲۵). سپس NSP4 را با استفاده از آنزیم پروتئاز ترومبین از GST جدا و با اولترا فیلتراسیون تغلیض شد. NSP4 خالص شده PO-13 و Ty-1 ۴۰۰ پیکومول در ۵۰ میکرولیتر و NSP4 خالص شده Ty-3 و Ch-1 ۲۰۰ پیکومول در ۵۰ میکرولیتر بود (۲۸).



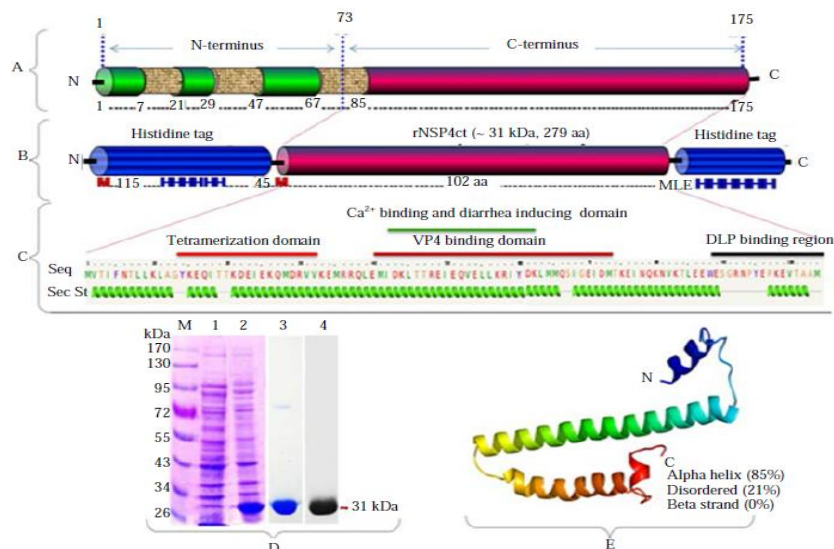
شکل ۲۲. بیان و خالص سازی پروتئین NSP4 پرندگان و پروتئین PO-13 VP8 (A) رنگ آمیزی CBB (B) وسترن بلات NSP4 : PO-13 ، Ty-3 ، Ty-1 و Ch-1 لاین ۱- NSP4-PO-13 لاین ۲- NSP4-Ty-3 لاین ۳- NSP4-Ty-1 لاین ۴- NSP4-Ch-1 لاین ۵- PO-13 VP8 لاین ۶ و ۱۲- لیز سلول های MA104 آلوده با PO-13 لاین ۷ سلول های آلوده با Ty-3 لاین ۸- سلول های آلوده با Ty-1 لاین ۹- سلول های MA104 آلوده با Ch-1 لاین ۱۰ و ۱۳- سلول های MA104 آلوده با SA11 لاین ۱۱ و ۱۴ سلول های کنترل MA104

همچنین نواحی برش خورده PO-13 (توالی اسیدآمینه ۸۶ تا ۱۶۹ از NSP4 سویه PO-13 بدون اسید آمینه ۱۱۲ تا ۱۳۳، توالی اسیدآمینه ۸۶ تا ۱۶۹، توالی اسیدآمینه ۸۶ تا ۱۳۵، ۱۰۹ تا ۱۶۹ و NSP4 کامل) در وکتور pGEX-2T کلون و در باکتری *E. coli* بیان شد و با استفاده از ستون گلوپاتیون سفاروز تخلیص کردند (شکل ۲۶). پروتئین GST را از توالی NSP4 جدا نشد. پروتئین خالص شده GST-PO-13 ۱۳ nmol / ۱ در ۵۰ میکرولیتر بود (۲۸).



شکل ۲۳. بیان و خاص سازی پروتئین‌های الحاقی GST-NSP4 سویه PO-13 (A) نمایش شماتیک GST-NSP4 کامل و برش خورده (B) رنگ آمیزی CBB و وسترن بلات ۱- GST-NSP4 ۲- GST-NSP4₈₆₋₁₆₉ ۳- GST-NSP4₁₀₉₋₁₆₉ ۴- GST-NSP4₈₆₋₁₆₉Δ₁₁₂₋₁₃₃ ۵- GST-NSP4₈₆₋₁₃₅ ۶- GST

کومار و همکاران توالی اسیدآمینه NSP4₇₃₋₁₇₅ روتاویروس گاوی (GenBank accession No. JN626229) را در وکتور pET-32a کلون و به باکتری‌های pLysS (DE3) BL21 (DE3) Origami (شکل ۱۲). در این مطالعه باکتری Tuner (DE3) pLysS و Rosetta-gami (DE3) pLysS ترنسفورم کردند (شکل ۱۲). در این مطالعه باکتری Tuner بهترین باکتری برای بیان NSP4 معرفی شد. پروتئین با استفاده از رزین Ni-NTA agarose resin تخلیص شد و غلظت پروتئین تخلیص شده 36 mg L^{-1} گزارش شد (۵۰). مطالعات کلون و القا بیان پروتئین در جدول ۱ آورده شده است.



شکل ۲۴. طراحی ساختار، بیان، خالص سازی و وسترن بلات پروتئین نو ترکیب NSP4 روتاویروس گاوی (A) پروتئین NSP4 کامل روتاویروس گاوی (B) کربوکسیل ترمینال پروتئین NSP4 با برچسب هگزا هیستیدین در N و C ترمینال (C) توالی ناحیه NSP4ct با پیش بینی ساختار دوم و دومین های آن (D) آنالیز بیان پروتئین، تخلیص و وسترن بلات NSP4-M لدر ۱- سلول *E. coli* لیز شده قبل از القا ۲- سلول *E. coli* لیز شده پس از القا ۳- rNSP4ct خالص شده با کروماتوگرافی میل ترکیبی رزین آگارز Ni-NTA ۴- ایمونوبلات با استفاده از آنتی بادی مونوکلونال ضد پلی هیستیدین پراکسیداز الحاقی (E) ترمینال کربوکسی

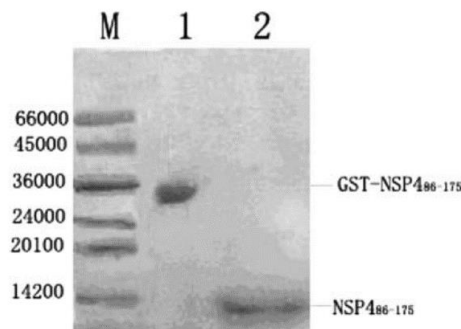
جدول ۱: بیان پروتئین نوترکیب NSP4 بر اساس گزارشات مطالعات مختلف

سویه روتاویروس	توالی NSP4	میزبان	وکتور	بیان	موفقیت / شکست	رفرنس
EW	NSP4 ₈₆₋₁₇₅	<i>E.coli</i> strain DH5a	pGEX-4T-1	پروتئین در فاز محلول: ۱۵ mg پروتئین در فاز نامحلول ۱۰۰ برابر بیشتر بود	موفق	هوری و همکاران ۱۹۹۹
SA11	full-length NSP4 ₁₋₉₀ NSP4 ₄₈₋₉₁ NSP4 ₄₈₋₁₃₉ NSP4 ₄₈₋₁₇₅ NSP4 ₈₆₋₁₃₉ NSP4 ₈₆₋₁₇₅	<i>BL21(DE3)</i> <i>pLysS</i>	pET17-xb	- توالی محلول و	موفق پروتئین تخلیص نشد	ادوارد و همکاران ۲۰۰۰
Ehime 9301 (Group C)	NSP4 ₅₅₋₁₅₀	<i>E. coli</i>	pGEX-4T-1	۸۰۰ mg از پروتئین NSP4 E9301 در ۱.۲ لیتر کشت باکتری <i>E. coli</i>	-موفق	ساساکی و همکاران ۲۰۰۱
RF (bovine)	توالی کامل NSP4	<i>coli E</i> <i>Lactococcus lactis</i>	pET23b+ -SEC -pCYT	در وسترن بلات rNSP4 مشاهده نشد. در وکتور pSEC میزان NSP4 ۱۰ برابر بیشتر از وکتور pCYT بود	ناموفق -موفق عدم تخلیص	انوف و همکاران ۲۰۰۱
PO-13, Ty-3, Ty-1, and Ch-1	Full length PONSP4 ₈₆₋₁₆₉ PONSP4 ₁₀₉₋₁₆₉ PONSP4 ₈₆₋₁₀₉ PONSP4 _{86-169Δ112-133}	<i>E. Coli</i>	pGEX-2T	NSP4 های PO-13 و Ty-1 400 pmol در ۵۰ μl تهیه شد. NSP4 های Ty-3 و Ch-1 200 pmol در ۵۰ μl تهیه شد.	موفق	موری و همکاران ۲۰۰۲

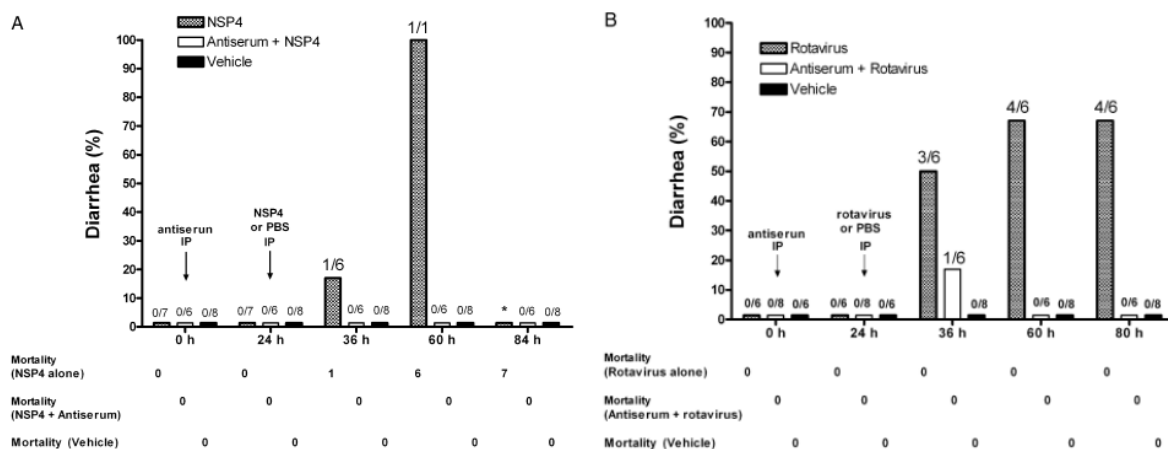
پراتیماری و همکاران ۲۰۰۳	موفق	میزان بیان ۵-۱۵ mg/L در محیط کشت	pGEX-5X1	<i>DH5 a</i>	NSP4 ₈₁₋₁₇₅ (SA11), NSP4 ₈₃₋₁₇₅ (116E), NSP4 ₇₈₋₁₇₅ (RRV)	human 116E, SA11 and RRV
شریفی و همکاران ۲۰۰۵	ناموفق	تحت شرایط دناتوره میزان بیان بیشتر بود.	pQE-30	<i>E Coli DH5á</i>	توالی کامل	Wa
گوزمان و همکاران ۲۰۰۵	موفق	۴ mg/L محیط کشت	pET4215b	<i>Escherichia coli</i> BL21 (DE3) pLysS	توالی کامل	group B rotavirus Adult Diarrhoea Rotavirus (ADRV)
جاگانات و همکاران ۲۰۰۶	موفق	$\Delta N47$ - بیان نشد $\Delta N57$ - قادر به تخلیص نبود به دلیل بیان کم - سطح بیان $\Delta N94 \geq \Delta N85 < \Delta N72 < \Delta N57$	pET22-NH	<i>E. coli strain</i> <i>BL21(DE3)</i>	N-terminal deletion: $\Delta N47$ $\Delta N57$ $\Delta N72$ $\Delta N85$ $\Delta N94$ Deletion in $\Delta N72$ AAH73-85: $\Delta N77$ $\Delta N80$ $\Delta N83$	SA11
هو و همکاران ۲۰۰۸	موفق	تخلیص شد و سترن بلات	pGEX-5X-1	<i>Escherichia coli</i>	NSP4 ₈₆₋₁₇₅	Human rotavirus 02K1 strain of Wa
چینگ و همکاران ۲۰۱۱	ناموفق	عدم حضور پروتئین RV4 NSP4 عدم حضور پروتئین RV5-NSP4	pQE60	<i>E. coli</i> M15 [pREP4],	توالی کامل	pIND-TOPO-RV4-NSP4 and pIND-TOPO-RV5- NSP4
کومار و همکاران ۲۰۱۵	موفق	36 mg/L	pET-32a (+)	<i>Tuner (DE3)</i> <i>pLysS</i>	NSP4 ₇₃₋₁₇₅	bovine RVA (genotype E2)
سهمانی و همکاران ۲۰۱۶	موفق عدم تخلیص	و سترن بلات	pET-32c pGEX-6P-2	<i>E. coli</i> BL21 (DE3)	NSP4 ₁₋₁₁₃ Δ 136-175 توالی کامل	Rotavirus group A (RVA)

۲-۶-۴- بررسی اثر آنتی بادی NSP4

در سال ۲۰۰۸ اثر حفاظتی آنتی بادی ضد NSP4 را برای جلوگیری از اسهال ناشی از روتاویروس و ارتباط بین تغییرات بافتی روده و اسهال ناشی از NSP4₈₆₋₁₇₅ یا روتاویروس را در موش‌هایی که تحت درمان با آنتی‌بادی ضد NSP4 قرار گرفته بودند، ارزیابی شدند. به این منظور توالی اسیدآمینه ۸۶ تا ۱۷۵ NSP4 روتاویروس انسانی سویه Wa در وکتور pGEX-5X-1 کلون شد (شکل ۲۹). سپس پروتئین تخلیص شده را جهت تهیه آنتی بادی anti-NSP4 به همراه Al(OH) در ۲ دز به موش‌های جوان ICR تزریق شد. اثر زود هنگام و دیر هنگام آنتی بادی های ضد NSP4 بر روی موش‌های ۱۲ روزه که توسط NSP4 یا روتاویروس به صورت تزریق داخل صفاقی آلوده شده بودند بررسی شد. مشاهدات نشان داد که تزریق داخل صفاقی آنتی بادی ضد NSP4 باعث مسطح شدن و از هم گسیختگی اپیتلیوم پرز روده و تکثیر سلول‌های کریپت می‌شود که با افزایش تعداد سلول‌های جامی و نفوذ سلول‌های مزمن همراه است. موش‌های ICR که با NSP4 (DD50) آلوده شده بودند در بازه ی زمانی ۳۶ تا ۸۴ ساعت بر اثر اسهال و کم‌آبی مردند. در حالی که با تزریق ۵۰ میکرولیتر آنتی NSP4 به موش‌ها مرگی مشاهده نشد و میزان اسهال به میزان قابل توجهی کم‌تر شد. همچنین ساختار پرزهای روده نیز عمدتاً حفظ شده بودند و نفوذ التهابی مزمن را نشان دادند. اثر محافظتی آنتی بادی ضد NSP4 هم برای مداخله زودهنگام و هم پس از آلودگی با روتاویروس و در طی عفونت به عنوان درمان، کاربرد دارد (۲۵).

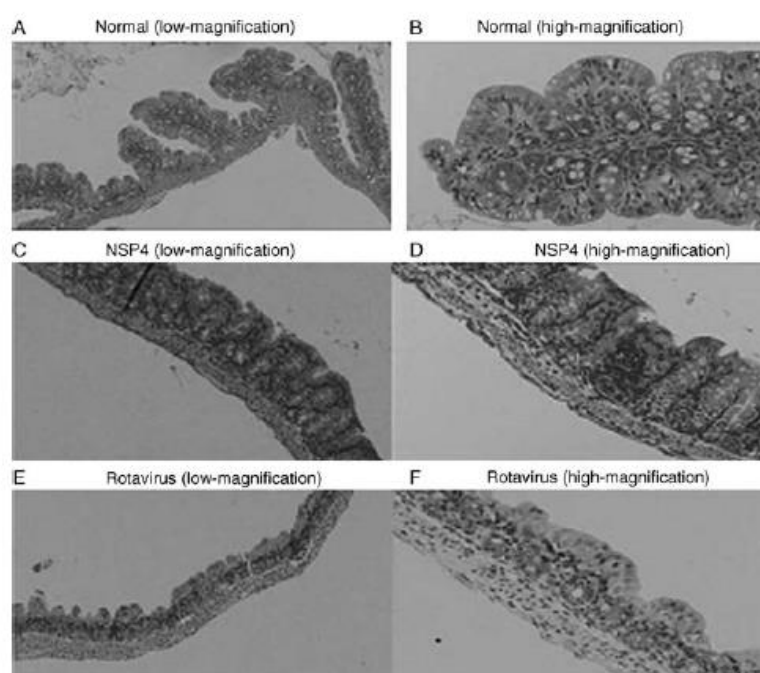


شکل ۲۵: وسترن بلات پروتئین GST-NSP4₈₆₋₁₇₅ تخلیص شده و NSP4₈₆₋₁₇₅ که GST آن با آنزیم Factor Xa برش خورده و سپس تخلیص شده است.

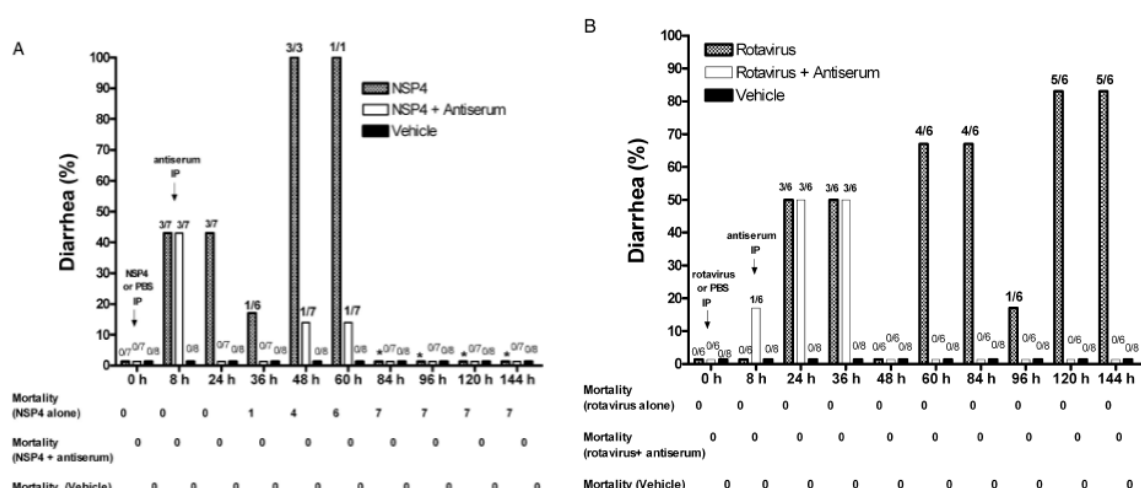


شکل ۲۶: تاثیر زودهنگام آنتی بادی ضد NSP4. به موش‌های ICR در ۱۲ روزگی. ۵۰ میلی لیتر آنتی سرم NSP4 تزریق عضلانی شد. پس از ۲۴ ساعت موش ها با NSP4₈₆₋₁₇₅ یا ویروس روتاویروس در DD50 از طریق تزریق عضلانی آلوده شدند. هم روتاویروس و هم NSP4₈₆₋₁₇₅

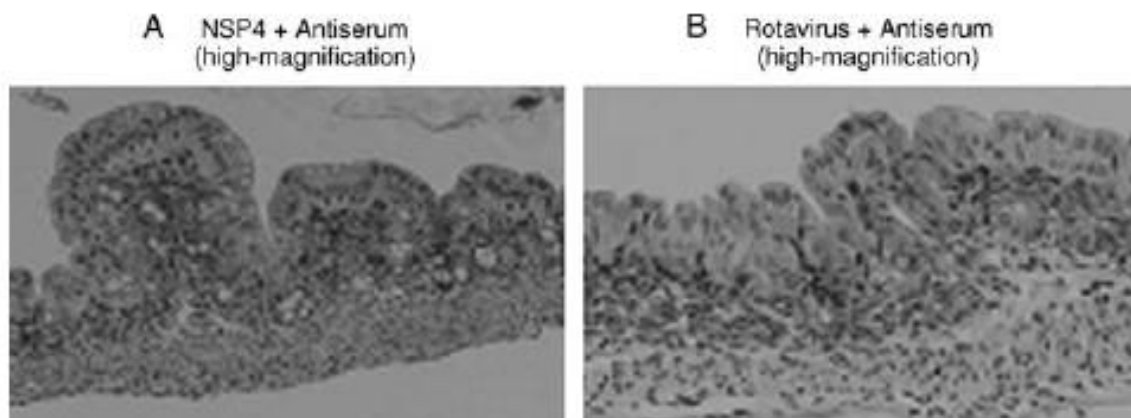
باعث اسهال در موش های ICR نوزاد شدند. مداخله زود هنگام با آنتی سرم NSP4 از اسهال و مرگ و میر جلوگیری می کند. اعداد بالای نمودار نشان دهنده کسیری از موش های مبتلا به اسهال است. اعداد زیر نمودار نشان دهنده مرگ و میر در مقاطع زمانی متفاوت است. مطالعه اسهال ناشی از NSP4 (A) روتاویروس



شکل ۲۷: تغییرات بافتی روده کوچک. (A) گروه موش های کنترل - بزرگ نمایی کم از مخاط طبیعی روده کوچک با ساختار پرزهای حفظ شده. (B) بزرگنمایی زیاد از گروه موش های کنترل روده کوچک نرمال. (C) مخاط روده کوچک موش های آلوده با NSP4₈₆₋₁₇₅ - بزرگ نمایی کم، مخاط روده ی کوچک با پرزهای صاف (D) بزرگ نمایی زیاد از مخاط روده کوچک موش های آلوده با NSP4₈₆₋₁₇₅ - از هم گسیختگی اپیتلیوم پرز و تکثیر سلول های کریپت، همراه با افزایش سلول های جامی و نفوذ سلول های التهابی مزمن (E) بزرگنمایی کم از مخاط روده کوچک موش های آلوده با روتاویروس - آتروفی مخاط روده کوچک و پرزهای صاف (F) بزرگنمایی زیاد از مخاط روده کوچک موش های آلوده با روتاویروس - اپیتلیوم پرزها از هم گسیختگی کم بانفوذ سلول های التهابی مزمن



شکل ۲۸: مداخله دیر هنگام با آنتی بادی anti-NSP4₈₆₋₁₇₅. آنتی بادی ضد NSP4 پیشرفت اسهال را متوقف کرد. موش های ICR در ۱۲ روزگی با NSP4₈₆₋₁₇₅ یا روتاویروس در DD50 از طریق تزریق عضلانی آلوده شدند، ۸ ساعت بعد ۵۰ میلی لیتر آنتی سرم ضد NSP4 در محل های مختلف به موش تزریق شد. اعداد بالای نمودار نشان دهنده کسری از موش های مبتلا به اسهال است. اعداد زیر نمودار نشان دهنده مرگ و میر در مقاطع زمانی متفاوت است. مطالعه اسهال ناشی از NSP4 (A) روتاویروس و تاثیر دیر هنگام آنتی سرم ضد NSP4

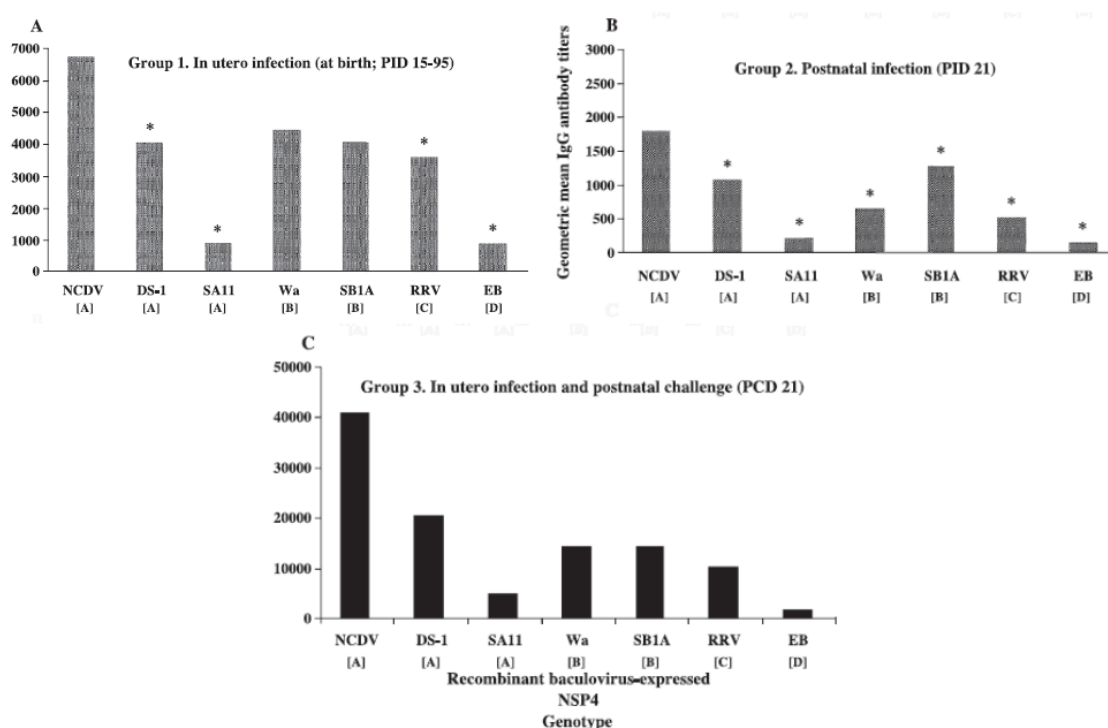


شکل ۲۹: تغییرات بافتی روده کوچک در مطالعه آنتی بادی ضد-NSP4 (A) NSP4₈₆₋₁₇₅ + آنتی بادی ضد NSP4 با بزرگنمایی زیاد. ساختار پرزها عمدتاً حفظ شده با نفوذ سلول‌های التهابی مزمن (B) روتاویروس + آنتی بادی ضد NSP4، با بزرگنمایی زیاد. ساختار پرزها تا حدی حفظ شده با نفوذ سلول‌های التهابی مزمن بدون آتروفی شدید می‌باشد.

یوان و همکاران توالی NSP4 های ژنوتیپ‌های A، B، C و D از سویه‌های گاوی، خوک، انسانی، میمونی و موشی را در وکتور باکولوویروس کلون کردند و در سلول حشره (*Spodoptera frugiperda* 9 (Sf-)) بیان کردند تا پاسخ آنتی‌بادی NSP4 هموتایپیک و هتروتایپیک در گاوها و خوک‌های گنوبیوتیکی که به صورت خوراکی یا داخل آمینیوتیک با روتاویروس آلوده شده بودند بررسی کنند. هنگامی که پاسخ آنتی بادی آنتی ژن NSP4، متعلق به ژنوتیپ مشابه با NSP4 سویه روتاویروسی باشد که حیوان را آلوده کرده پاسخ هموتایپیک و هنگامی که پاسخ آنتی بادی آنتی ژن NSP4، متعلق به ژنوتیپ متفاوت با NSP4 سویه روتاویروسی باشد که حیوان را آلوده کرده پاسخ هتروتایپیک می‌نامند. اگر NSP4 که میزبان را آلوده کرده با NSP4 که برای شناسایی پاسخ آنتی بادی مورد بررسی قرار می‌گیرد متعلق به همان گونه باشد، پاسخ آنتی بادی میزبان همولوگوس و اگر متعلق به گونه‌ی دیگر باشد پاسخ آنتی بادی میزبان هتروولوگوس نامیده می‌شود.

در این مطالعه ۳ گروه از گاوهای گنوبیوتیک را با روتاویروس گاوی (NCDV) آلوده کردند. در گروه اول گاو را در داخل رحم مادر (هفته ۲ تا ۱۴) از طریق تزریق داخل آمونیکوی ویروس، در گروه دوم گاوهای یک روزه از طریق تزریق مستقیم ویروس داخل دوازده (duodenum) و در گروه سوم گاو هم در داخل رحم و هم جهت چالش پس از تولد در یک روزگی با ویروس NCDV آلوده کردند. سپس پاسخ آنتی بادی‌ها نسبت به هفت NSP4 با ژنوتیپ‌ها و یا سویه‌های مختلف که در سلول حشره تولید کرده بودند (روتاویروس انسانی [NSP4[A] DS-1 و [NSP4[B] Wa، روتاویروس میمون [NSP4[A] SA11 و [NSP4[C] RRV، روتاویروس خوک [NSP4[A] SB1A و روتاویروس گاوی [NSP4[A] NCDV و روتاویروس موشی [NSP4[D] EB) بررسی کردند. مطالعات نشان داد که سطوح بالایی از آنتی بادی‌های IgG علیه NSP4 های هموتایپیک و هتروتایپیک در همه‌ی گروه‌های گوساله‌ها مشاهده شد که نشان دهنده‌ی واکنش متقاطع (cross-reactive) طبیعی پروتئین NSP4 می‌باشد. واکنش متقاطع بین آنتی

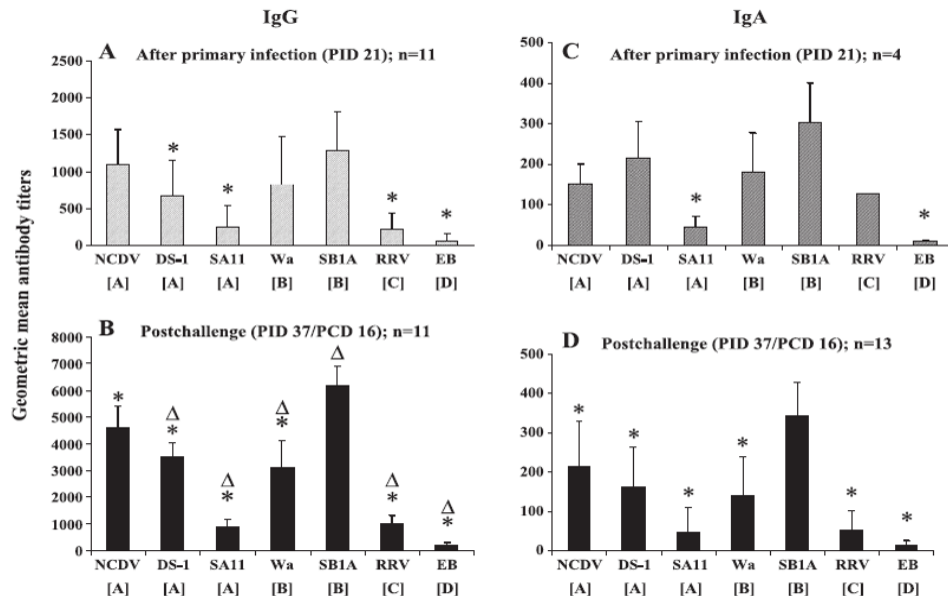
ژن‌ها زمانی رخ می‌دهد که یک آنتی بادی ایجاد شده علیه یک آنتی ژن خاص، میل ترکیبی بالایی نسبت به یک آنتی ژن متفاوت داشته باشد، بنابراین آنتی بادی می‌تواند پروتئینی را تشخیص دهد که با پروتئینی که علیه آن تولید شده است متفاوت است. در این مطالعه، اگرچه پاسخ آنتی بادی IgG در گروه ۳ بیشتر از دو گروه دیگر و در گروه ۲ بیشتر از گروه ۱ بود، الگوی پاسخ آنتی بادی در ۳ گروه مشابه بود. تیتراژ آنتی بادی IgG برای NSP4 هموتایپیک میزبان همولوگوس (NCDV) NSP4[A] بالاتر از سایر گروه‌ها بود. تیتراژ آنتی بادی IgG NSP4 [A] هموتایپیک کمتر از NSP4 هموتایپیک Wa[B] یا SB1A[B] در همه ی گروه‌ها بود که این نشان می‌دهد پاسخ آنتی بادی وابسته به ژنوتایپ نیست (۵۱).



شکل ۳۰: پاسخ آنتی بادی IgG به NSP4ها در گاوهای گنوبیوتیک آلوده به روتاویروس گاوی NCDV (NSP4[A]). تیتراژ آنتی بادی‌های IgG به NSP4 ژنوتایپ [A]، [B]، [C] و [D] با استفاده از بیان ژنوتیپ‌های نوترکیب NSP4 [A] (NCDV گاوی، DS-1 انسانی و SA11 میمونی)، [B] (SB1A خوک و Wa انسانی)، [C] (RRV میمونی)، یا [D] (EB موشی) در باکولوویروس و رنگ آمیزی ایمونوسیتوشیمیایی مشخص شد. (A) تیتراژ آنتی بادی‌های IgG در خون بند ناف گوساله‌های آلوده در رحم در بدو تولد (B) تیتراژ آنتی بادی IgG در سرم گوساله‌های آلوده در یک روزگی و (C) تیتراژ آنتی بادی IgG در سرم گوساله‌هایی که ابتدا در رحم آلوده شده بودند و در سن ۱ روزگی به چالش کشیده شدند PID 21

جهت بررسی پاسخ آنتی بادی‌های هموتیپی در مقابل هتروتایپی و ارزیابی آنتی بادی وابسته به گونه در پاسخ به NSP4، تیتراژ آنتی بادی سرم خوک‌های گنوبیوتیک آلوده شده و به چالش کشیده شده، با استفاده هفت NSP4 تولید شده اندازه‌گیری شد. اسیدآمینه‌های NSP4 سویه خوک به عنوان شناساگر با NSP4 ویروس روتاویروس خوکی OSU یا GOTTFRIED ۹۷٪ انطباق دارد. سرم‌ها پس از ۲۱ روز آلودگی و ۱۶ روز پس از چالش (۳۷ روز پس از آلودگی) با ویروس جمع‌آوری شدند. همان‌گونه که انتظار می‌رفت بالاترین پاسخ تیتراژ آنتی بادی IgG و IgA علیه NSP4 هموتایپیک خوکی (SB1A) میزبان همولوگوس بود. برخلاف انتظار، تیتراژ آنتی بادی IgG NSP4[A] هموتایپیک NCDV بیشتر از NSP4[B]

هموتایپیک Wa بود که نشان دهنده این است که پاسخ آنتی بادی NSP4 وابسته به ژنوتایپ نیست بلکه وابسته به گونه است. پس از به چالش کشیدن NSP4 با ویروس OSU یا Gottfried تیتراژ آنتی بادی IgG ۳/۵ تا ۵ برابر افزایش یافت (۵۱).



شکل ۳: پاسخ آنتی بادی IgG و IgA به NSP4 ها در خوک های آلوده به ویروس خوک (NSP4 [B] OSU/Gottfried) در PID 21 و PID37/PCD 16. تیتراژ آنتی بادی IgG و IgA به NSP4 ژنوتایپ [A]، [B]، [C] و [D] با استفاده از بیان ژنوتایپ های نو ترکیب NSP4 (A) NCDV (گاوی، DS-1 انسانی و SA11 میمونی)، (B) (SB1A خوک و Wa انسانی)، (C) (RRV میمونی)، یا (D) (EB موشی) در باکولوویروس و رنگ آمیزی ایمنوسیتوشیمیایی مشخص شد.

مطالعات هم ترازای نشان داد که تطابق توالی اسید آمینه ۱۳۱ تا ۱۴۱ NSP4 کمتر از توالی کامل NSP4 می باشد و توالی وابسته به گونه در این ناحیه از همه ژنوتایپ های NSP4 به جز NSP4[C] مشاهده شد. براساس آنتی بادی های NSP4، ناحیه ی ۱۳۱ تا ۱۴۱ به عنوان دومین ایمنی غالب که نقش مهمی در واگرایی آنتی ژنی NSP4 ایفا می کند پیشنهاد شده است.

همچنین جهت بررسی محافظت و جلوگیری از اسهال پروتئین NSP4، خوک های گروه اول با ویروس گاتفرید (Gottfried) با NSP4[B], P9[7], G4 آلوده شدند و سپس با ویروس OSU با NSP4[B], P9[7], G5 به چالش کشیده شدند و خوک های گروه دوم با ویروس OSU با NSP4[B], P9[7], G5 آلوده شدند و سپس با ویروس گاتفرید با NSP4[B], P9[7], G4 به چالش کشیده شدند. نتایج، محافظت قابل توجهی را در برابر NSP4 هموتایپیک و VP4 و VP7 هتروتایپیک نشان نداد (البته مدت زمان اسهال از ۱۲ روز به ۴.۲۵ روز و ۹ روز به ۴.۵ روز رسیده است و دفع ویروس نیز کاهش پیدا کرده است). در حالی که هنگامی که با ویروس ترکیبی OSO و گاتفرید آلودگی ایجاد کردند و با ویروس ترکیبی که یکی از پروتئین های VP4 و یا VP7 آن هموتایپیک بود برای چالش قرار دادن خوک استفاده شد (گروه ۳ و ۴) محافظت قابل توجه مشاهده شد (جدول ۴). نتایج نشان می دهد که NSP4 هموتایپیک نتوانست در برابر القا اسهال و دفع ویروس در خوک ها محافظت کند، در حالی که پروتئین های VP4 و VP7 هموتایپیک می تواند حفاظت ایجاد کند (گروه ۵ و ۶).

جدول ۲: مطالعات چالش متقابل سویه‌های روتاویروس خوکی *Gottfried OSU* و *Gottfried reassortant × OSU* در خوک‌های گنوبیوتیک

Group (no. of piglets)	Primary infection (4–5 days old)								Challenge (3 weeks after primary infection)									
	Rotavirus administered							Median days of		Rotavirus administered							Median days of	
	Strain	Origin of the virus	Genotype/serotype			Titer	Diarrhea			Virus shedding	Strain	Origin of the virus	Genotype/serotype			Titer		
NSP4			VP4	VP7	NSP4			VP4	VP7									
1 (4)	Gottfried	pig intestinal contents	[B]	P2B[6]	G4	4×10^6 ffu ^b	12	7.5	OSU	pig intestinal contents	[B]	P9[7]	G5	5×10^6 ffu	4.25	4		
2 (4)	OSU	pig intestinal contents	[B]	P9[7]	G5	5×10^6 ffu	9	10	Gottfried	pig intestinal contents	[B]	P2B[6]	G4	4×10^6 ffu	4.5	3.5		
3 (4)	OSU × Gottfried	cell culture lysates	[B]	P9[7]	G4	5×10^6 pfu ^c	7.25	7.75	OSU	pig intestinal contents	[B]	P9[7]	G5	5×10^6 ffu	none	1.5		
4 (4)	OSU × Gottfried	cell culture lysates	[B]	P9[7]	G4	5×10^6 pfu	7.25	7.75	Gottfried	pig intestinal contents	[B]	P2B[6]	G4	4×10^6 ffu	none	none		
5 (2)	none	NA ^d	[NA]	NA	NA	NA	NA	NA	OSU	pig intestinal contents	[B]	P9[7]	G5	5×10^6 ffu	5.5	10		
6 (2)	none	NA	[NA]	NA	NA	NA	NA	NA	Gottfried	pig intestinal contents	[B]	P2B[6]	G4	4×10^6 ffu	7	7		

L. Han et al. / Virology 330 (2004) 92–104

^a Adapted from Hoshino et al., 1988 (11).

^b ffu = fluorescent-focus unit.

^c pfu = plaque-forming unit.

^d NA = not applicable.

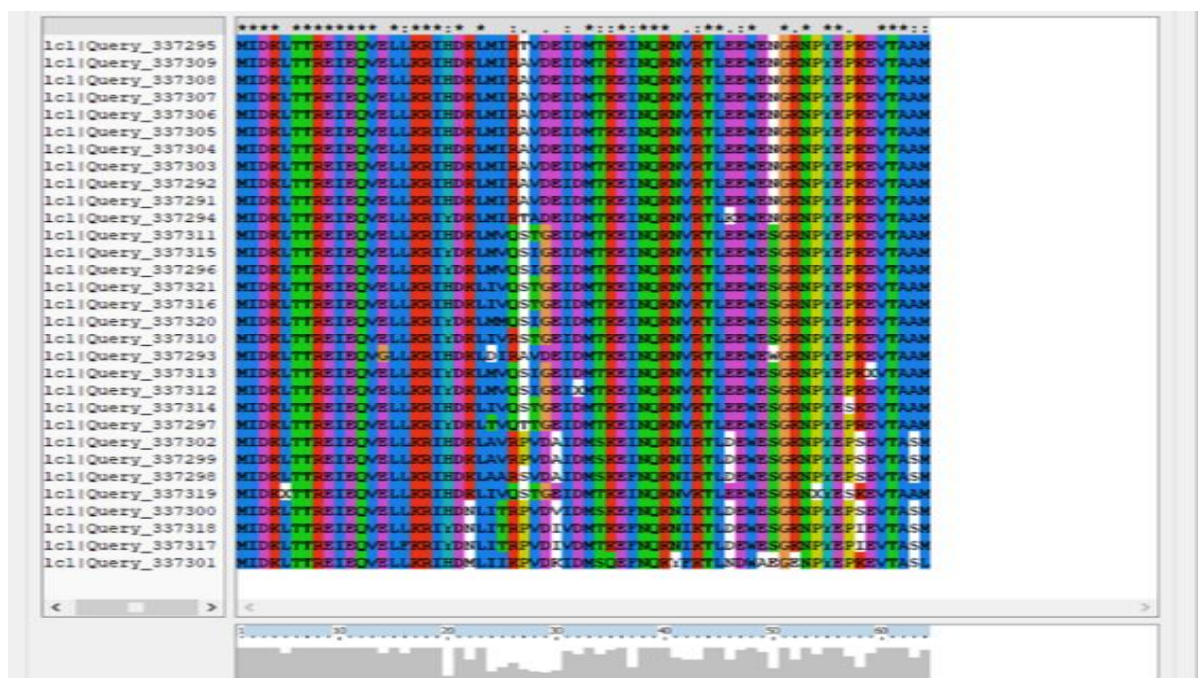
در سال ۲۰۰۵ شریفی و همکاران جهت تولید آنتی‌بادی‌های پلی کلونال، پروتئین تخلیص شده به خرگوش سفید N.Z تزریق کردند. فعالیت بیولوژیکی NSP4 نو ترکیب در موش‌های شیرخوار BALB/C با القای اسهال با استفاده از سویه SA11، NSP4 تخلیص شده و آنتی‌بادی علیه آن مورد بررسی قرار گرفت. هنگامی که آنتی‌بادی ضد NSP4 به موش‌هایی که به صورت خوراکی با ویروس SA11 آلوده شده بودند داده شد، اسهال به طور قابل توجهی کاهش یافت. همچنین هنگامی که به موش‌هایی که به صورت داخل صفاقی NSP4 تزریق کرده بودند آنتی‌بادی ضد NSP4 داده شد، اسهال به طور معناداری کاهش یافت (۱).

۲-۶-۵- بررسی همردیف سازی توالی‌ها (Alignment)

از آنجایی که مطالعات فراوانی برای NSP4 گاوی در ایران وجود نداشت و نتایج مطالعات بررسی همردیفی درصد شباهت بالایی بین توالی NSP4 نشان داد (بیش از ۷۰٪)، توالی NSP4 سویه روتاویروس غالب در ایران UK (AFC41006.1) انتخاب شد. توالی ۱۱۲-۱۷۵ به دلیل حضور ناحیه انتروتوکسین و نواحی آنتی‌ژنیک به همراه مطالعات مقاله‌های NSP4 های الحاقی جهت مطالعه اولیه انتخاب شد (۱، ۳۷، ۴۳، ۵۲، ۵۳). همردیفی توالی با استفاده از سایت <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> انجام شد و با استفاده از نرم افزار ClustalX 2.1 توالی مشاهده شد. توالی NSP4 ها از مطالعات سینگ مالک و همکاران بر روی NSP4 در هند استفاده شد (۵۴).

جدول ۳: هم‌ردیفی توالی بین NSP4 روتاویروس سویه UK گاوی با سایر NSP4ها

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident
AFC41006.1:112-175 NSP4 protein [Bovine rotavirus A][7]	129	129	100%	3.00E-45	100.00%
CAA29959.1:112-175 unnamed protein product [Bovine rotavirus][24]	126	126	100%	3.00E-44	96.88%
BAM74403.1:112-175 NSP4 protein [Bovine rotavirus G6][21]	126	126	100%	3.00E-44	96.88%
BAM74402.1:112-175 NSP4 protein [Bovine rotavirus G6][20]	126	126	100%	3.00E-44	96.88%
BAM74401.1:112-175 NSP4 protein [Bovine rotavirus G6][19]	126	126	100%	3.00E-44	96.88%
ACR54095.1:112-175 nonstructural protein 4 [Bovine rotavirus][18]	126	126	100%	3.00E-44	96.88%
AAM80569.1:112-175 NSP4 [Bovine rotavirus strain RF][17]	126	126	100%	3.00E-44	96.88%
CAA29959.1:112-175 unnamed protein product [Bovine rotavirus][16]	126	126	100%	3.00E-44	96.88%
AFC40973.1:112-175 NSP4 protein [Bovine rotavirus A][3]	126	126	100%	3.00E-44	96.88%
AAM80569.1:112-175 NSP4 [Bovine rotavirus strain RF][1]	126	126	100%	3.00E-44	96.88%
AAD46918.1:112-175 non-structural protein NSP4 [Bovine rotavirus][6]	122	122	100%	7.00E-43	93.75%
AEY75526.1:112-188 c91 nonstructural protein NSP4, partial [Bovine rotavirus A][2]	120	120	100%	9.00E-42	90.62%
AFH89030.1:112-175 NSP4 [Rotavirus A Ind/HR/B111][28]	119	119	100%	2.00E-41	89.06%
ADP69144.1:112-175 non-structural protein 4 [Bovine rotavirus][36]	118	118	100%	4.00E-41	87.50%
ALB39011.1:112-175 NSP4 [Rotavirus A][9]	118	118	100%	4.00E-41	87.50%
AGH15680.1:112-175 NSP4 [Bovine rotavirus][49]	117	117	100%	8.00E-41	87.50%
AFH89028.1:112-175 NSP4 [Rotavirus A Ind/MP/C1][38]	117	117	100%	8.00E-41	87.50%
AFB35172.1:112-175 nonstructural protein 4 [Bovine rotavirus A][46]	117	117	100%	8.00E-41	87.50%
BAA13726.1:112-175 NSP4 [Human rotavirus A][25]	117	117	100%	1.00E-40	87.50%
AAD50680.1:112-175 nonstructural protein NSP4 [Rotavirus A RVA/Cow-tc/USA/B223/1983/C]	116	116	100%	2.00E-40	92.19%
ADP69143.1:112-175 non-structural protein 4 [Bovine rotavirus][33]	116	116	100%	2.00E-40	85.94%
ADP69142.1:112-175 non-structural protein 4 [Bovine rotavirus][32]	115	115	100%	4.00E-40	85.94%
AEC32082.1:112-175 non-structural protein 4 [Bovine rotavirus A][34]	115	115	100%	8.00E-40	85.94%
BAW94620.1:112-175 NSP4 [Rotavirus A][10]	114	114	100%	1.00E-39	85.94%
BAC78397.1:112-175 Non-structural protein 4 [Porcine rotavirus][15]	114	114	100%	2.00E-39	82.81%
OPK41212.1:112-175 NSP4 [Rotavirus A][12]	114	114	100%	2.00E-39	82.81%
OPK41214.1:112-175 NSP4 [Rotavirus A][11]	113	113	100%	3.00E-39	81.25%
AFH89019.1:112-175 NSP4 [Rotavirus A Ind/UKD/C5][45]	110	110	100%	9.00E-38	82.81%
OPK41208.1:112-175 NSP4 [Rotavirus A][13]	107	107	100%	6.00E-37	78.12%
AFB35171.1:112-175 nonstructural protein 4 [Bovine rotavirus A][42]	104	104	100%	1.00E-35	76.56%
AFH89026.1:112-175 NSP4 [Rotavirus A Ind/MP/Bufalo/B212][39]	103	103	100%	3.00E-35	75.00%
AEK32830.1:112-175 NSP4 [Rotavirus A][14]	99	99	100%	2.00E-33	71.88%



شکل ۳۲. هم‌ردیفی UK NSP4₁₁₂₋₁₇₅ با سایر NSP4ها در برنامه ClustalX 2.1

با توجه به توالی NSP4 حفاظت شده و نتایج هم ردیفی که شباهت بالای ۷۰٪ را نشان می داد، تصمیم بر استفاده از توالی NSP4 از یکی از سویه های ویروسی غالب در کشور شد. مطالعات فراوانی سویه های روتاویروس گردش در کشور شباهت به دوسویه [5] RVA/Cow-tc/GBR/UK/1973/G6P7 و [11] RVA/Cow-tc/USA/B223/XXXX/G10P را نشان می داد (۵۵، ۵۶). مطالعات همردیفی توالی NSP4 سویه UK با B223 شباهت ۹۲٪ را نشان داد.

AAD50680.1:112-175 nonstructural protein NSP4 [Rotavirus A RVA/Cow-tc/USA/B223/1983/G10P[11]][4]

Sequence ID: Query_2921 Length: 64 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 64 [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
116 bits(291)	7e-42	Compositional matrix adjust.	59/64(92%)	60/64(93%)	0/64(0%)
Query 1	MIDKLTTREIEQVELLKRIHDKLMIRTVD EIDMTKEINQKNVRTLEEWENGRNPYEPKEV 60				
Sbjct 1	MIDKLTTREIEQV LLKRIHDKL IR VDEIDMTKEINQKNVRTLEEW G+NPYEPKEV 60				
Query 61	TAAM	64			
Sbjct 61	TAAM	64			

شکل ۳۳: همردیفی توالی بین NSP4₁₁₂₋₁₇₅ روتاویروس سویه UK گاوی با B223

همچنین در مطالعه ایی محمد علی برگان و همکاران گزارش کردند که تعدادی از آنتی بادی های مونوکلونال در ناحیه آنتی ژنی NSP4 AS II (اسید آمینه ۱۳۶-۱۵۰) روتاویروس پرندگان با NSP4 ها مختلف پستانداران از جمله گاو واکنش متقابل نشان می دهد (۵۷). همچنین یوان و همکاران پاسخ هموتایپیک و هتروتایپیک توالی NSP4 های ژنوتیپ های A، B، C و D از سویه های گاوی، خوک، انسانی، میمونی و موشی در گاوها آلوده به ویروس NCDV گاوی بررسی کردند. مطالعات آن ها نشان داد که سطوح بالایی از آنتی بادی های IgG علیه NSP4 های هموتایپیک و هتروتایپیک در همه ی گروه های گوساله ها مشاهده شد که نشان دهنده ی واکنش متقاطع (cross-reactive) طبیعی پروتئین NSP4 می باشد (۵۱). بنابراین در طی جلسات متعدد و مطالعات انجام شده NSP4₁₁₂₋₁₇₅ سویه روتاویروس UK انتخاب و ۹۰۰ میکرولیتر در بافر DMSO از پپتید NSP4₁₁₂₋₁₇₅ سویه Wa انسانی تهیه شد.

فصل ۳: ایمونیزاسیون، فرآوری و تخلیص آنتی بادی

۳-۱- آماده سازی آنتی ژن و ایمونیزاسیون

محلول آماده سازی شده از مرحله قبلی برای ایمن سازی در سه نوبت و به فاصله دو هفته مورد استفاده قرار گرفت. سن شروع ایمن سازی در گروه‌های شاهد و کنترل در ۱۶ هفتگی بود که آنتی ژن آماده سازی شده در اولین تزریق به هر مرغ ۵۰۰ میکرولیتر از آنتی ژن محلول به همراه ۵۰۰ میکرولیتر از ادجونت کامل فروند در دو طرف عضله سینه به صورت داخل عضلانی تزریق شد. دومین دوره ایمنی‌زایی در ۱۸ هفتگی از سن مرغ‌ها صورت گرفت و جهت تزریق دوم، ۵۰۰ میکرولیتر ادجونت کامل فروند را با ۵۰۰ میکرولیتر آنتی ژن محلول مخلوط گردید. سومین دوره ایمن‌سازی در مرغ‌ها در سن ۲۰ هفته‌ای صورت گرفت و جهت تزریق ۵۰۰ میکرولیتر ادجونت ناقص فروند و ۵۰۰ میکرولیتر آنتی ژن محلول گردید و به مرغ‌ها تزریق شد. از آنجایی که هدف ما بررسی تولید آنتی بادی در تخم مرغ بود، تخم مرغ‌ها در ۲ هفته بعد از آخرین تزریق (۲۴هفتگی) روزانه جمع آوری شدند و برای خالص سازی ایمونوگلوبین در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ثبت تاریخ، جمع آوری و ذخیره گردید.

۳-۲- فرآوری محلول حاوی آنتی بادی

استخراج آنتی بادی از زرده به روش آکیتا و ناکایی^۱ انجام شد (۵۸). در ابتدا زرده تخم مرغ از سفیده جدا و با آب دیونیزه شسته شد. سپس غشای محافظ آن جدا و دور انداخته شد. حجم زرده اندازه گیری و ۶ برابر آن آب اضافه شد. سپس به آرامی هم زده شده تا مخلوط یک دستی حاصل گردد. pH محلول با کمک اسید کلریدریک ۰.۱ نرمال به ۵.۲ رسانده شد. پس از ۲۴ ساعت سانتریفیوژ با شرایط ۳۰ دقیقه 15000 Xg و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. مایع رویی را جدا کرده و با دستگاه خشک کن انجمادی به پودر تبدیل گردید. دستگاه فریز درایر آزمایشگاهی مدل FD-5010-BT دارای ظرفیت آبیگری کندانسور ۱۰ لیتر در ۲۴ ساعت و دمای ۵۰- سانتیگراد می‌باشد این دستگاه شامل ۳ عدد سینی جهت قرار دادن محصول بصورت بالک است.



شکل ۳۴: دستگاه خشک کن انجمادی

¹ E M Akita, S Nakai

۳-۳ تخلیص آنتی بادی

برای خالص سازی از روش اصلاح شده پولسون^۱ استفاده گردید که سریعتر و درصد بازیابی IgY آن از بقیه روش‌ها بهتر بود (۵۹). مراحل تخلیص به این صورت بوده که ابتدا سفیده تخم مرغ از زرده جدا گردیده که با این روش مقدار انبوهی از پروتئین‌های دیگر حذف می‌شود. سپس زرده را با یک پنس گرفته، در یک استوانه مدرج آن را سوراخ کرده، غشای زرده را بیرون انداخته و حجم زرده داخل ستون یادداشت شد. زرده تخم مرغ‌ها باهم مخلوط گردید. دوبرابر حجم اولیه زرده، بافر فسفات سالین $\text{PH}=7.6$, 100mM افزوده و به خوبی در همزن مغناطیسی هم زده تا محلول کاملاً یکنواخت مات زرد رنگی بدست آمد. سپس 3/5 % (W/V) پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ افزوده شد و تا ناپدید شدن پلی اتیلن گلیکول همزده شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دور 10000 rpm سانتریفیوژ و مایع بدست آمده جمع آوری گردید و حجم مایع فیلتر شده را سنجیده و ثبت شد. در مرحله بعد غلظت پلی اتیلن گلیکول را به 8.5 % (W/V) رسانیده شد. آنقدر محلول با همزن مغناطیسی همزده شد تا هیچ اثری از پلی اتیلن گلیکول در ته و اطراف ظرف باقی نماند. پس از آنکه پلی اتیلن گلیکول به خوبی حل گردید، محلول در دور 10000 rpm به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ و محلول رویی دور ریخته شد و رسوب در ۱۰ میلی لیتر از بافر فسفات سالین حل شد. رسوب بدست آمده مجدداً در پلی اتیلن گلیکول 12% حل گردید و پس از سانتریفیوژ در دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه محلول رویی دور ریخته شد و رسوب دو تا سه بار با بافر فسفات سالین شستشو داده شد و معادل 5 میلی لیتر بافر فسفات سالین اضافه شد و در دمای 20- تا زمان استفاده نگهداری گردید.

۳-۴- بررسی غلظت و تایید آنتی بادی تخلیص شده

۳-۴-۱ تعیین غلظت پروتئین با تست برادفورد

روش برادفورد یکی از روش‌های رنگ سنجی است که برای تعیین غلظت پروتئین استفاده می‌شود. اساس این روش اتصال رنگ کوماسی برلیانت بلو G-250 به پروتئین است که بسیار دقیق، حساس و سریع می‌باشد. بعد از اتصال در pH اسیدی، جذب کوماسی از ۴۶۵ نانومتر به ۵۹۵ نانومتر تغییر می‌کند. برای بررسی جذب نوری از یک منحنی استاندارد، با استفاده از آلبومین به عنوان یک پروتئین خالص استفاده می‌شود. در این مطالعه از محلول برادفورد Bio-Rad استفاده شد. جهت تهیه پروتئین استاندارد در آزمون برادفورد از پروتئین آلبومین سرم گاوی (BSA) با غلظت ۱ mg/ml استفاده می‌شود. جهت تهیه نمونه استاندارد در دو ویال تهیه می‌شود. پس از ۵ دقیقه انکوبه کردن جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده می‌شود. محلولی که فاقد پروتئین سرم گاوی است، به عنوان محلول شاهد در نظر گرفته می‌شود. میانگین

¹ Polson

جذب‌ها در مقابل غلظت پروتئین آلبومین سرم گاوی در نرم افزار اکسل محاسبه می‌گردد و سپس منحنی استاندارد رسم و معادله شیب خطی آن به دست می‌آید. برای تعیین غلظت پروتئین مجهول یک ویال از پروتئین مد نظر تهیه شد. میانگین جذب پروتئین مجهول را در معادله خط گذاشته تا غلظت معین گردد. همانطور که قبلاً ذکر شد پس از رسم منحنی استاندارد جذب نمونه‌ها در ۵۹۵ انجام شد. پس از انجام محاسبات میزان پروتئین ۲۴ میکروگرم در میکرولیتر برآورد شد.

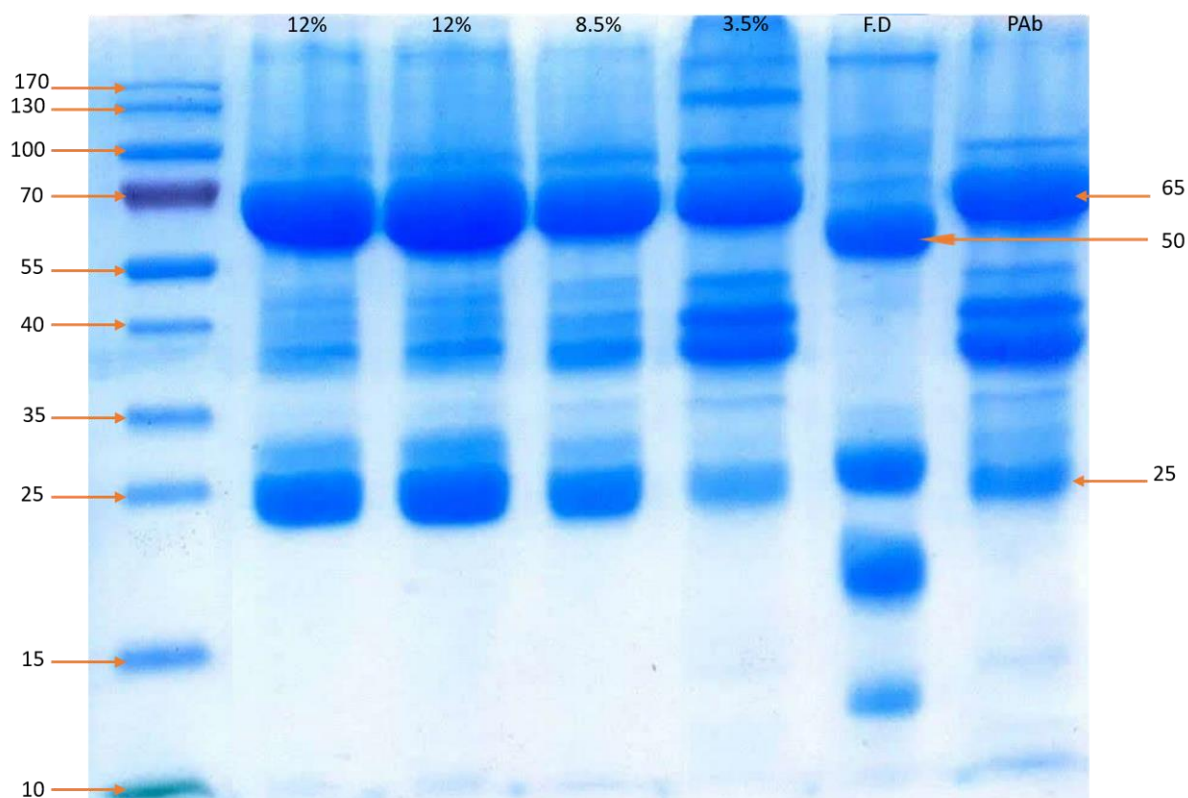
۳-۴-۲- بررسی آنتی بادی استخراج شده با استفاده از ژل پلی آکریل آمید (SDS-PAGE)

به منظور بررسی میزان خلوص آنتی بادی استخراج شده در هر دو روش پولسون و آکیتاناکایی، از تست SDS-PAGE استفاده شد. ژل پلی آکریل آمید بر اساس دو جزء سازنده خود که شامل آکریل آمید و بیس آکریل آمید می‌باشند، دارای قطر منافذ مختلفی هستند. قطر منافذ تعیین کننده دامنه وزنی قابل تفکیک می‌باشد. از این تکنیک برای اطمینان از خالص بودن نمونه‌ها در شرایط احیایی استفاده می‌شود. به منظور بررسی کیفی نتایج استخراج، IgY پروتئین استخراج شده توسط روش SDS-PAGE مورد بررسی قرار گرفت.

برای تهیه ژل پلی آکریل آمید در ابتدا شیشه‌های مخصوص ژل را شسته و با الکل ضدعفونی نموده، سپس با فاصله‌اندازهای ویژه، فضای خالی در سه طرف شیشه تعبیه گردید تا بعداً توسط آگار داغ پوشانده شود. از چند گیره برای محکم نگه داشتن شیشه‌ها، استفاده شد. در مرحله بعد ژل تغلیظ کننده (بالا) با غلظت ۳٪ و ژل جداکننده (پایین) با غلظت ۱۲/۵٪ مورد استفاده قرار گرفت. ژل پایین در حجم کلی ۱۲ میلی‌لیتر در داخل شیشه ریخته شد و فضای بالای آن حدود ۲-۳ سانتی‌متر خالی نگه داشته شد. در انتها برای اینکه سطح ژل صاف نگه داشته شود، ۱ میلی‌لیتر الکل اضافه گردید. مدت زمان لازم که برای پلیمریزه شدن ژل طول می‌کشد، ۴۵-۲۰ دقیقه است. اجرای تشکیل دهنده ژل پایین و بالا در جدول بالا آورده شده است.

سپس نمونه‌ها که شامل آنتی بادی های استخراج شده به روش آکیتاناکایی، پولسون (با غلظت های پلی اتیلن گلیکول ۳.۵، ۸.۵ و ۱۲.۵٪) و نمونه تجاری محصول فرست دیفنس به همراه بافرنمونه و ۵ μ l مارکر پروتئینی در چاهک‌ها به طور جداگانه لود شدند. ژل با محلول رنگ آمیزی به مدت ۲ ساعت شیک شد. سپس شستشو و محلول رنگ بر اضافه گردید تا زمانی که رنگ اضافی خارج و باندها آشکار گردند.

در این روش با توجه به تفاوت وزنی زنجیره سبک و سنگین ایمونوگلوبین Y و اندازه تقریبی آن، می‌توان آنها را بر روی ژل شناسایی نمود و از کیفیت و خلوص IgY بدست آمده اطمینان حاصل کرد. بر اساس روش الکتروفورز روی ژل پلی آکریل آمید وزن ایمونوگلوبین Y به طور تقریبی ۱۸۰ kDa می‌باشد که زنجیره سبک آن حدود ۲۵ kDa و زنجیره سنگین حدود ۶۵ kDa می‌باشند.



شکل ۳۵: SDS PAGE/حیایی همراه با ژل ۱۲٪، ستون اول مارکر، ستون دوم و سوم خالص سازی با ۱۲٪ PEG، ستون چهارم و پنجم مراحل خالص سازی با ۸.۵٪ PEG و ۳.۵٪، ستون ۶ محصول تجاری First Defence. ستون آخر آنتی بادی تخلیص شده به روش آکیتا و ناکایی

مطابق با مقالات رفرنس مشاهده می‌شود که در خالص سازی ۳.۵٪ درصد نسبت به ۱۲٪ تعداد باند بیشتر مشاهده می‌شود و هرچه مراحل خالص سازی بیشتر شود تعداد باندها کمتر و دو باند اختصاصی ۶۵KD مربوط به زنجیره سنگین و ۲۵KD مربوط به زنجیره سبک مشاهده می‌گردد. در ردیف آخر که با روش آکیتا و ناکایی جداسازی صورت گرفت و محلول حاصل خشک کن انجمادی شد و در نهایت پودر حاصل با این آزمون تست گردید مشاهده می‌شود که فرایند فریز درایر کمترین آسیب ممکن را به محتوای پروتئینی وارد می‌سازد. خلوص این روش با مرحله خالص سازی با پلی اتیلن گلیکول ۳.۵٪ برابری می‌کند. همانطور که در عکس مشاهده می‌شود باندهای محصول تجاری مربوط به IgG می‌باشد و دو باند در محدوده ۵۰KD مربوط به زنجیره سنگین و باند ۲۵KD در محدوده زنجیره سبک، موید این موضوع است.

۳-۵ بررسی کیفیت اتصال اختصاصی آنتی بادی

۳-۵-۱- بررسی کیفیت اتصال اختصاصی آنتی بادی علیه *E.Coli* K99

پس از دریافت پودر حاصل، آزمایشی جهت تاثیر گذاری پودر فراوری شده بر روی آنتی ژن F5 (آنتی ژن اختصاصی *E. coli* F5) طراحی شد. این تست با کیت الیزا اختصاصی شرکت بلژیکی Bio-X انجام پذیرفت که مکانیسم آن در فصل قبل توضیحات کامل آن شرح داده شد.

جدول ۴: محتویات کیت الایزا بایوایکس

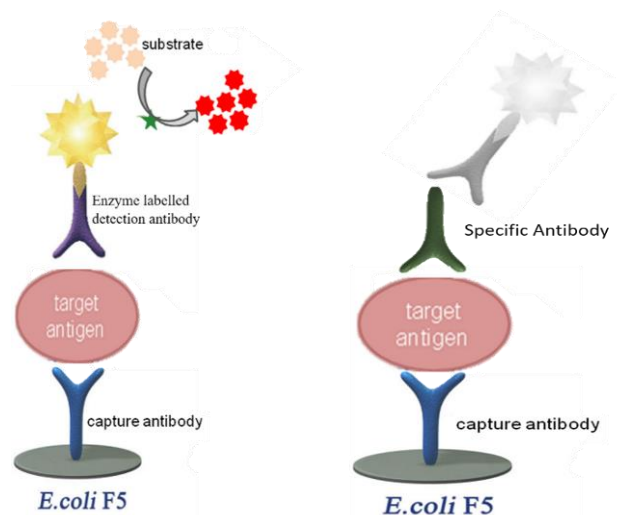
ردیف	نام مواد	واحد	مقدار
۱	میکروتیتر پلیت ۹۶ چاهکی	بسته	یک عدد
۲	Washing solution 20X	ویال	100 ml
۳	Dilution buffer 5X	ویال	50 ml
۴	Conjugate	ویال	12 ml
۵	Positive control	ویال	3 ml
۶	Negative control	ویال	3 ml
۷	Single component TMB	ویال	20 ml
۸	Stop solution	ویال	10 ml

نمونه های مورد بررسی در این تست آنتی ژن کیت و آنتی ژن تهیه شده در آزمایشگاه، آنتی بادی غیر اختصاصی (تهیه شده از تخم مرغ غیر ایمن شده)، کنترل منفی و مثبت کیت بود. نمونه های ذکر شده درون چاهک ها ریخته سپس نمونه پودر آنتی بادی به صورت محلول درون چاهک ها ریخته شد.

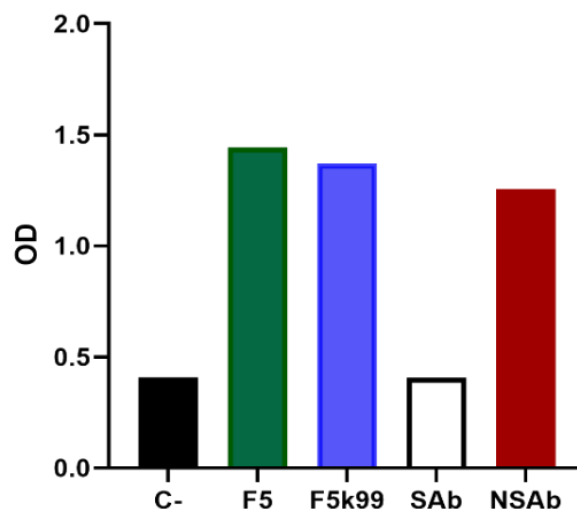
جدول ۵: طراحی الایزا و نتایج خوانش جذب هر چاهک

	sample	OD450 nm
A1	pAb-anti <i>E.coli</i> K99 Specific	0.405
A2	Non-specific pAb	1.256
A3	Ag K99	1.370
A4	control Negative	0.408
A5	Positive control	1.444

انتظار می رود که آنتی بادی درون پودر بتواند به صورت اختصاصی به آنتی ژن متصل گردد و در نتیجه آنتی بادی کونژوگه توانایی اتصال ندارد و OD این چاهک با OD کنترل منفی برابر باشد. برای درک بهتر این تست مراحل الایزا به صورت شماتیک در زیر به تصویر کشیده شده است.



شکل ۳۶: الیزا اختصاصی آنتی بادی علیه آنتی ژن F5. سمت چپ کنترل مثبت و سمت راست نمونه پودر حاوی آنتی بادی اختصاصی



شکل ۳۷: میزان جذب نمونه ها در تست اتصال اختصاصی، جذب در نمونه های: C- کنترل منفی، F5 آنتی ژن اختصاصی کیت، F5 K99 آنتی ژن تهیه شده، SAb پودر فرآوری شده حاوی آنتی بادی اختصاصی و NSAb پودر فرآوری شده از تخم مرغ های شاهد

با توجه به خوانش جذب نمونه ها و در مقایسه با نمونه شاهد و کنترل مثبت و منفی، جذب چاهکی که در حضور محلول حاوی pAb-anti *E.coli* انکوبه شده است در حد نمونه کنترل منفی پایین آمده و این نشان دهنده بلوک شدن آنتی ژن K99 توسط آنتی بادی اختصاصی و مهار شدن آن می باشد. این در حالی است که کاهش جذب نمونه حاوی محلول پلی کلونال غیر اختصاصی نسبت به کنترل مثبت و همینطور Ag K99 به عنوان شاهد تفاوت معنی داری نداشته است که نشان دهنده اختصاصیت بالا محلول حاوی IgG اختصاصی فرآوری شده می باشد.

۳-۵-۲- تست الیزا اتصال اختصاصی NSP4 روتاویروس به آنتی بادی

بمنظور بررسی اثرات اتصال اختصاصی NSP4 موجود در مدفوع گوساله ها به آنتی بادی تولید شده علیه بخش NSP4₁₁₂₋₁₇₅ سویه انسانی تست الیزا مستقیم طراحی گردید. برای این منظور ابتدا نمونه گوساله

های مبتلاء به روتاویروس با کیت اختصاصی BioX که شرح مفصل آن قبلاً ذکر شد، مورد بررسی قرار گرفت و نمونه های روتا مثبت جهت انجام تست دوم مورد استفاده قرار گرفتند. در این تست میزان واکنش آنتی بادی اختصاصی تولید شده را علیه NSP4 موجود در نمونه های مدفوع گوساله های مبتلاء به روتا ویروس در دو غلظت متفاوت از آنتی ژن، آماده سازی و مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی اتصال اختصاصی بین نمونه آنتی ژن NSP4 روتاویروس بعنوان کنترل مثبت و اجرای تست بدون حضور آنتی ژن بعنوان کنترل منفی و هر کدام با پنج تکرار اجراء گردید. جهت قرارگیری آنتی ژن در داخل چاهک ها، ۲۰ میکرولیتر از آنتی ژن NSP4 را با یک میلی لیتر در غلظت پایین و در نیم میلی لیتر در غلظت بالا بافر پوشاننده مخلوط کرده (و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن را در چاهک ها ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق انکوبه می کنیم. پس از گذشت زمان مذکور، چاهک ها را با بافر شستشو، شستشو داده و ۱۰۰ میکرولیتر از بلاکینگ بافر را اضافه نموده و ۱ ساعت در دمای اتاق انکوبه می نماییم. سپس شستشو را انجام داده و آنتی بادی اختصاصی علیه NSP4 را درون چاهک ریخته و ۱ ساعت انکوبه می نماییم. پس از شستشو چاهک ها در مرحله بعد آنتی بادی کنژوگه علیه IgY را ریخته و بعد از گذشت ۱ ساعت و انجام دادن مراحل شستشو، TMB را اضافه کرده و بعد از گذشت ۱۵ دقیقه بدون انجام مرحله شستشو، محلول متوقف کننده را اضافه و در 450nm جذب چاهک ها قرائت می شود.

میانگین میزان جذب نوری در گروه تیمار با غلظت آنتی ژن پایین به میزان ۰.۵۹ گزارش شد و این در حالی است که میزان ها برای گروه کنترل مثبت، کنترل منفی و گروه تیمار (در غلظت بالا) به ترتیب ۲.۹۸، ۰.۵۴ و ۱.۰۲ مشاهده شد. آنتی بادی اختصاصی تولید شده با اتصال با آنتی ژن هدف در گروه کنترل مثبت حداکثر جذب نوری را نشان داد و بعنوان شاخصی از اتصال اختصاصی ثبت گردید. نتایج این بررسی نشان دهنده واکنش بین آنتی بادی های تولید شده با محتوای NSP4 موجود در مدفوع گوساله های مبتلاء می باشد. نتایج بدست آمده امکان اثر گذاری این آنتی ادی ها را نشان میدهد و لذا جهت بررسی اثرات این آنتی بادیها در دستگاه گوارش گوساله محتوای آنتی بادی تولید شده به ترکیب مورد استفاده در خمیر اضافه گردید.

۳-۵-۳- تست الیزا اتصال اختصاصی آنتی بادی علیه کریپتوزپوریدیوم

جهت بررسی اثرات اتصال اختصاصی آنتی بادهای تولید شده با کریپتوزپوریدیوم موجود در مدفوع گوساله از کیت اختصاصی BioX همراه با کمی تغییرات استفاده گردید. برای این منظور ابتدا با کیت اختصاصی BioX (شرح تفصیلی در بخش قبل ذکر شده است) نمونه مدفوع گوساله های کریپتوزپوریدیوم مثبت جدا سازی شد.

سپس ۱۰۰ میکرولیتر نمونه آماده سازی شده در محلول رقیق کننده از مدفوع حاوی کریپتوزپوریدیوم بعنوان نمونه مثبت داخل دوازده چاهک ها قرار می گیرد و به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد. و سپس سه بار شستشو انجام می گیرد. در مرحله بعد از نمونه حاوی آنتی بادی های اختصاصی در شش چاهک (هر چاهک بعنوان یک تکرار) و از نمونه حاوی آنتی بادی غیر اختصاصی در شش چاهک دیگر استفاده می شود. در این تست همچنین نمونه های کنترل منفی و کنترل مثبت با سه تکرار به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به شش چاهک

دیگر اضافه می گردد. پلیت به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شده و سپس سه بار شستشو انجام داده شد. در این مرحله به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی بادی کونژوگه اضافه و مراحل انکوباسیون و شستشو تکرار گردید. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول کروموژن (TMB) اضافه گردید. میکرو تیترا پلیت به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی انکوبه می شود. چنانچه نمونه از نظر حضور آنتی ژن مثبت باشد رنگ محلول داخل چاهک آبی رنگ می شود. جهت خوانش جذب نمونه ها پس از پایان ۱۰ دقیقه انکوباسیون بدون تخلیه مواد ۵۰ میکرولیتر از محلول متوقف کننده را مستقیماً به هر چاهک اضافه می گردد. که در نتیجه آن رنگ آبی به زرد تغییر می کند. مشاهدات نشان داد که آنتی بادی های اختصاصی با بلاک کردن اتصال آنتی بادهای کونژوگه مانع از بروز واکنش رنگی در چاهک حاوی آنتی بادی های اختصاصی گردید و این درحالی است که آنتی بادهای غیر اختصاصی واکنش رنگی مشابهی را با گروه کنترل مثبت از خود نشان دادند.

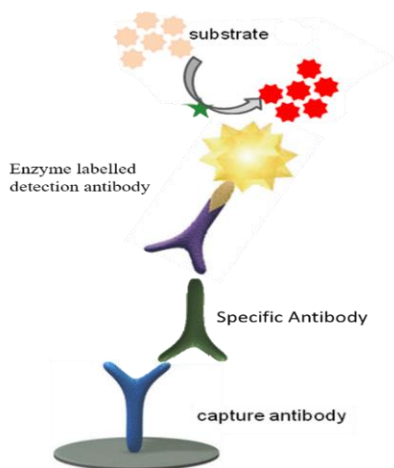
۳-۶- الیزا تعیین تیترا آنتی بادی کل (Total IgY Concentration)

جهت سنجش میزان آنتی بادی کل در نمونه های تخم مرغ شاهد و همچنین تخم مرغ های ایمن شده، تست الایزا با کیت بتیل اجرا شد. برا انجام این تست آنتی بادی Anti chicken IgY در ته چاهک ها با غلظت ۵ میکروگرم کت شد و به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق انکوبه گردید. پس از شستشو محلول بلاک کننده ریخته به مدت ۱ ساعت درون یخچال انکوبه شد. بعد از انجام هر مرحله انکوباسیون و شستشو انجام می گردد. رقیق سازی نمونه ها و استانداردها (Chicken Reference standard) طبق دستور کیت با استفاده از میکروتیوپ های اپندورف انجام می شود. برای رقیق سازی نمونه ها، در ابتدا به همه میکروتیوپ ها، ۹۰۰ میکرولیتر از محلول رقیق کننده و در میکروتیوپ اول ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه را اضافه کرده و تا میکروتیوپ پنجم رقیق کرده، تا به غلظت 10^{-5} برسد.

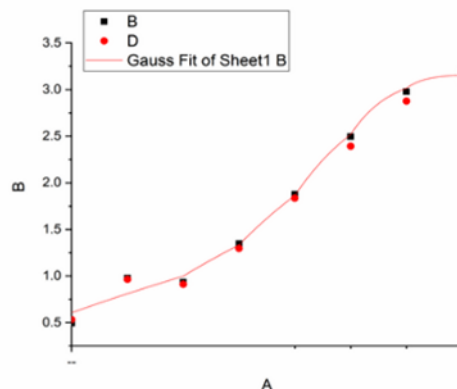
Standard	ng/ml	RS10-102-3 (6.25 mg/ml IgG)	Sample Diluent
Initial	10,000	10 μ l	6.25 ml
1	200	100 μ l from initial	4.9 ml
2	100	500 μ l from std 1	500 μ l
3	50	500 μ l from std 2	500 μ l
4	25	500 μ l from std 3	500 μ l
5	12.5	500 μ l from std 4	500 μ l
6	6.25	500 μ l from std 5	500 μ l
7	3.12	500 μ l from std 6	500 μ l
8	0	Blank	500 μ l

شکل ۳۸ روش تهیه استانداردها و بلنک مطابق کیت بتیل

از نمونه ها و استانداردهای رقیق شده از غلظت 10^{-4} و 10^{-5} در پلیت آنتی بادی طبق پلن برنامه ریزی شده به چاهک های مربوطه به میزان ۱۰۰ میکرولیتر اضافه شد. در مرحله بعد ۱۰۰ میکرولیتر از HRP را اضافه کرده و بعد از ۱ ساعت شستشو انجام شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر TMB، به همه چاهک ها اضافه گشته و به مدت ۹-۱۵ دقیقه انکوباسیون انجام شد. پس از پایان این مرحله بدون تخلیه مواد ۱۰۰ میکرولیتر از محلول متوقف کننده که اسید کلریدریک یک نرمال است را اضافه می کنیم. بلافاصله بعد از افزودن محلول متوقف کننده جذب نمونه ها در ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر خوانش می شود.



شکل ۳۹: تصویر شماتیک مراحل الیزا تعیین تیتراژ آنتی بادی کل

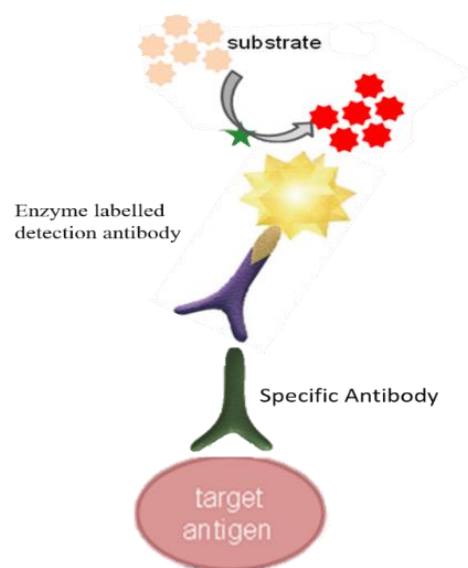


شکل ۴۰: نمودار استاندارد جهت تعیین غلظت آنتی بادی

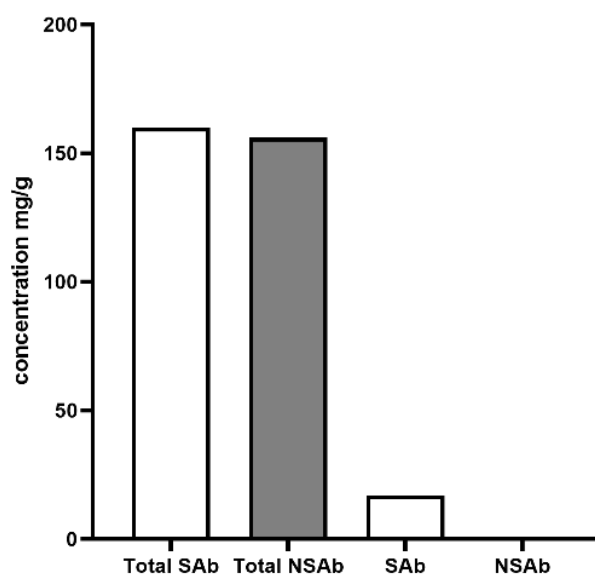
پس از بررسی میزان جذب چاهک ها مشخص شد که میزان جذب نوری در هر دو نمونه شاهد و نمونه حاوی آنتی بادی اختصاصی یکسان می باشد و در میزان کل آنتی بادی IgY تغییری ایجاد نشده است.

۳-۷ الیزا غیر مستقیم (آنتی بادی اختصاصی IgY)

با روش الیزا ساندویچ می توان میزان کل آنتی بادی موجود در زرده تخم مرغ را اندازه گیری کرد. برای تعیین غلظت آنتی بادی علیه آنتی ژن های *E. coli* K99 الیزا Indirect طراحی شد. در این روش آنتی بادی اختصاصی علیه باکتری مورد نظر تیتراژ می گردد. ابتدا میزان ۱۰۰ میکرولیتر آنتی ژن *E. coli* K99 با غلظت 10^8 CFU درون چاهک ها کوت و به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون انجام شد. پس از مراحل بلاک کردن با ۲۰۰ میکرولیتر از محلول بافر Blocking و انکوباسیون ۱ ساعت، نمونه های آنتی بادی تخلیص شده از تخم مرغ های شاهد و تیمار به میزان ۱۰۰ میکرولیتر درون چاهک ها کوت شد. پس از ۱ ساعت انکوباسیون آنزیم HRP Conjugate و مطابق مراحل بالا سوبسترا اضافه و پس از اضافه کردن محلول stop نتیجه با دستگاه Elisa Reader خوانده شد.



شکل ۴۱: مراحل شمانیک اجرای الیزا Indirect



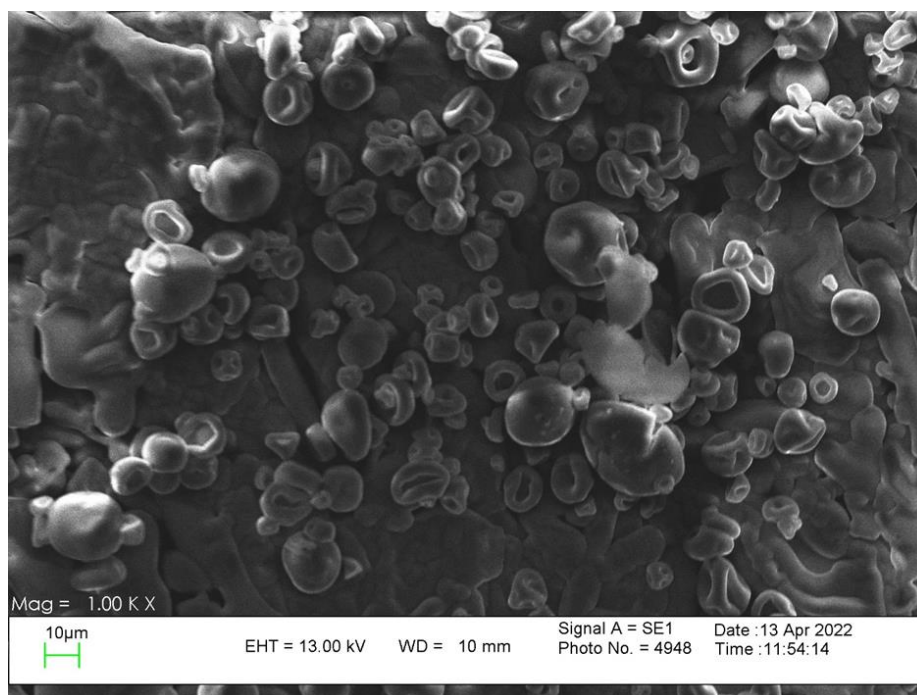
شکل ۴۲: میزان غلظت آنتی بادی اختصاصی. آنتی بادی کل در دو تخم مرغ شاهد و ایمن شده. آنتی بادی اختصاصی علیه آنتیژن F5 در دو تخم مرغ شاهد و ایمن شده

نتایج نشان دهنده این است که ۱۰٪ از آنتی بادی کل شامل آنتی بادی اختصاصی علیه *E.coli* K99 می باشد. همچنین این تست برای تخم مرغ های شاهد نیز انجام پذیرفت. در نمونه های شاهد میزان آنتی بادی اختصاصی علیه این باکتری به صفر میل می نماید.

۳-۸- بررسی ساختار آنتی بادی

۳-۸-۱- آنالیزهای میکروسکوپی

آنالیز SEM یا میکروسکوپ الکترونی روبشی از اعضای خانواده میکروسکوپ‌های الکترونی است که جهت تصویربرداری و تعیین ویژگی‌های سطحی و مورفولوژی نمونه مورد استفاده قرار می‌گیرد. محلول آنتی بادی های استخراج شده پس از فرآوری به روش خشک کن انجمادی جهت بررسی مورفولوژی ساختاری برای آنالیز SEM به آزمایشگاه مرکزی علوم پزشکی دانشگاه اصفهان ارسال شد و تصاویر نمونه‌ها در شکل زیر نشان داده شده است.



شکل ۴۳: نتایج SEM محصول آنتی‌بادی فرآوری شده با تکنیک خشک کن انجمادی

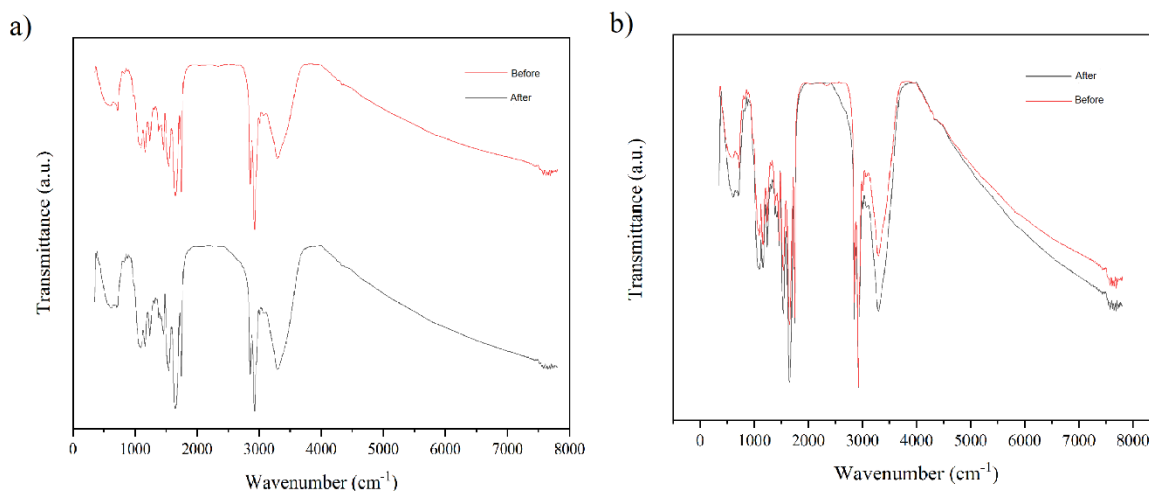
شکل بالا ساختار سه بعدی نتایج SEM آنتی بادی پس از فرآوری با تکنیک را نشان می‌دهد. بی‌نظمی، فرورفتگی و شکاف روی سطح منجمد شده در نمونه‌های فرآوری شده با تکنیک فریزدرای دیده می‌شود که می‌تواند به دلیل فریز شدن نمونه قبل از قرارگیری در دستگاه و ایجاد بلورهای فشرده یخی نمونه باشد (۴، ۵). در مجموع ساختار آنتی بادی در تکنیک فریزدرای قابل تشخیص می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل از آنالیز SEM می‌توان نتیجه گرفت که آنتی بادی IgY به درستی تخلیص شده است و تکنیک فریزدرای تخریب ساختاری در ساختار سه بعدی آنتی بادی IgY ایجاد نکرده‌اند.

۳-۸-۲- آنالیز ساختار ثانویه با استفاده از تکنیک FTIR

اسپکترومتري مادون قرمز تبدیل فوريه^۱ که صورت مخفف آنالیز FTIR نامیده می‌شود، روشی برای تعیین ساختار مولکول‌ها با کمک جذب اشعه‌ی مادون قرمز می‌باشد. در روش طیف‌سنجی مادون قرمز، پرتو IR

¹. Fourier Transform Infrared Spectrometer

از نمونه عبور می‌کند. بخشی از آن توسط نمونه جذب و بخشی دیگر از داخل آن عبور می‌کند. در نتیجه طیف‌ها، جذب و عبور IR توسط مولکول‌های نمونه را نشان می‌دهند. مشابه با اثر انگشت، ساختار مولکولی مواد نیز کاملاً منحصر بفرد می‌باشد. این شاخصه، طیف‌سنجی مادون قرمز را برای آنالیز انواع مختلف مواد مفید می‌سازد. در آنالیز فرکانس باند طیفی مادون قرمز، شدت باند و پهنای باند را می‌توان برای ساختار و دینامیک پروتئین‌ها استفاده کرد. ارتعاش پیوندهای آمیدی پروتئین به طور گسترده‌ای برای تجزیه و تحلیل ساختار پروتئین با استفاده از طیف سنجی مادون قرمز مورد استفاده قرار می‌گیرد. آنالیز FTIR به طور گسترده‌ای برای مطالعه ساختار ثانویه پروتئین‌ها مورد استفاده قرار گرفته است. درواقع پروتئین‌ها یا پلی‌پپتیدها دارای یک زنجیره پیوسته از اسیدهای آمینه هستند که از طریق پیوندهای آمیدی به هم متصل شده‌اند. باندهای طیف جذب تابش مادون قرمز آمید (IR)، آمید I ($1600-1800\text{ cm}^{-1}$)، آمید II ($1470-1570\text{ cm}^{-1}$)، آمید III ($1250-1350\text{ cm}^{-1}$) و A آمید ($3300-3500\text{ cm}^{-1}$)، قله‌های مشخصه مادون قرمز آمید هستند. از آنجایی که باند آمید I به تغییرات کوچک در هندسه مولکولی و الگوهای پیوند هیدروژنی بسیار حساس است، تجزیه و تحلیل کمی ساختار ثانویه پروتئین‌ها معمولاً با بررسی باند آمید I از طریق آنالیز FTIR انجام می‌شود (1, 2, 3). جهت انجام این تست پودر حاوی آنتی-



بادی IgY تخلیص و فراوری شده با تکنیک فریزدرای به دانشگاه اصفهان ارسال شد.

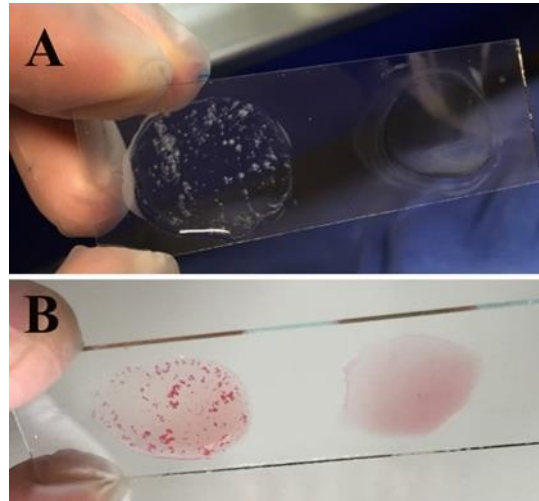
شکل ۴۴: نتایج FTIR آنتی‌بادی قبل و بعد از فرآوری با تکنیک فریزدرای

نتایج FTIR محصولات پلی‌کلونال آنتی‌بادی پس از فراوری با تکنیک فریزدرای را نشان می‌دهد. پیک‌های مرتبط با آمید I ($1600-1800\text{ cm}^{-1}$)، آمید II ($1470-1570\text{ cm}^{-1}$)، آمید III ($1250-1350\text{ cm}^{-1}$) و A آمید ($3300-3500\text{ cm}^{-1}$) در نمونه با جذب در طول موج‌های ثابت با شدت و پهنای باند یکسان دیده می‌شود. در مجموع ساختار ثانویه آنتی‌بادی IgY در تکنیک فریزدرای و قبل از فرآوری یکسان می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل از آنالیز FTIR می‌توان نتیجه گرفت که آنتی‌بادی IgY به درستی تخلیص شده است و استفاده از تکنیک فریزدرای تخریب ساختاری در ساختار ثانویه پلی‌کلونال آنتی‌بادی IgY ایجاد نکرده‌اند.

فصل ۴: واکنش های آنتی بادی استخراج شده در شرایط (*Invitro*)

۴-۱- تست آگلوتیناسیون لابی با آنتی بادی استخراج شده اختصاصی K99

جهت بررسی اثرات اختصاصی آنتی بادی استخراج شده در محیط آزمایشگاه از روش تست آگلوتیناسیون لابی با استفاده از باکتری برداشت شده از محیط کشت صورت گرفت. در مطالعه حاضر تست آگلوتیناسیون اسلایدی با محلول حاوی آنتی بادی فرآوری شده انجام و مشاهده واکنش آگلوتیناسیون در سطح لام نشان دهنده بیان آنتی ژن K99 توسط باکتری و همچنین اتصال اختصاصی آنتی بادی تخلیص شده می باشد.



شکل ۴۵: تست آگلوتیناسیون لابی با محلول ماده موثره حاوی آنتی سرم اختصاصی K99 جهت اطمینان از بیان فیمبریه A آگلوتیناسیون با باکتری کشت داده شده در محیط کشت TSA B. آگلوتیناسیون با باکتری کشت داده شده در محیط کشت باکتری EMB

۴-۲- تست های میکروبی Invitro

۴-۲-۱- بررسی تاثیر مهار کنندگی پودر حاوی آنتی بادی بر رشد باکتری K99 *E. coli*

مطالعه منحنی رشد باکتری ها با ایجاد آگاهی از سینتیک رشد و تعداد باکتری ها در محیط کشت هم از نظر تحقیقاتی و هم از نظر تجاری مهم است. اهمیت منحنی رشد باکتری ها از این جهت است که یک الگوی کلاسیک را نشان می دهد و این الگو منعکس کننده وقایعی است که از لحاظ تکثیر و متابولیسم در هر فاز رشدی اتفاق می افتد. بنابراین با مطالعه تغییراتی که در شیب و شکل منحنی رشد یک باکتری در حضور یک ترکیب آنتی باکتریال ایجاد می شود، علاوه بر اثبات اثر مهارتی ترکیب آنتی باکتریال می توان دیدگاه دقیق تری از اینکه ترکیب آنتی باکتریال چه مرحله ای از رشد و متابولیسم را درگیر می کند دست یافت.

۴-۲-۱-۱- تهیه کشت فعال باکتری K99 *E. coli*

جهت تهیه کشت فعال از باکتری ابتدا استوک باکتری به مدت ۲۴ ساعت در دمای یخچال انکوبه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن به ۵ سی سی محیط مینکا براث منتقل شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. پس از ۲۴ ساعت از محیط براث یک کشت خطی بر روی پلیت مینکا آگار جهت اطمینان از عدم آلودگی انجام پذیرفت.

۴-۲-۱-۲- مراحل آماده سازی محلول حاوی آنتی بادی

پودر حاوی آنتی بادی به میزان ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/ml مورد استفاده قرار گرفت. برای این منظور به ترتیب ۳ و ۱/۵ گرم از پودر حاوی آنتی بادی اختصاصی در ۱۵ میلی لیتر از محیط مینکا برات حل شد. به همین ترتیب از پودر تجاری First Defence یک محلول همگن به غلظت 62.5mg/ml ساخته شد. سپس در 1500 xg و دمای ۴ °C به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. به آرامی سوپرناتانت برداشته شد و محلول با فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر استریل گردید.

۴-۲-۱-۳- بررسی تاثیر مهار کنندگی پودر آنتی بادی بر رشد باکتری *E.coli* K99

۶ میلی لیتر از محلول حاوی آنتی بادی اختصاصی برداشته شد و با حجم مساوی از باکتری در محیط کشت مینکا برات مخلوط گردید (OD 600 nm= 0.07 , CFU/ml= 1.2×10^7) و نمونه در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و شیکر 180 rpm انکوبه شد. جهت بررسی تاثیر مهار کنندگی پودر آنتی بادی اختصاصی یک نمونه کنترل مثبت حاوی باکتری با غلظت مشابه بدون حضور آنتی بادی و نمونه حاوی پودر آنتی بادی غیر اختصاصی در غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم به عنوان شاهد ساخته شد. برای بررسی میزان رشد باکتری ها، در ساعت های ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ پس از انکوباسیون (انتهای مرحله لگاریتمی)، ابتدا جذب نمونه با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد و سپس میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محیط های کشت مایع برداشته و پس از تهیه سریال رقت از آن در محیط مینکا برات و با بهره گیری از روش Spread plate method، کشت از هر رقت روی محیط مینکا آگار انجام گردید و برای یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوباسیون گردید. در نهایت شمارش واحدهای تشکیل دهنده ی کلنی در هر میلی لیتر از نمونه ها در زمان های مورد بررسی به روش چشمی در سطح محیط مینکا آگار انجام شد و با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$N = \frac{\sum C}{V \times 1.1 \times d}$$

N: تعداد میکروارگانیسم های موجود در آزمایش به عنوان میانگین از دو رقت متوالی

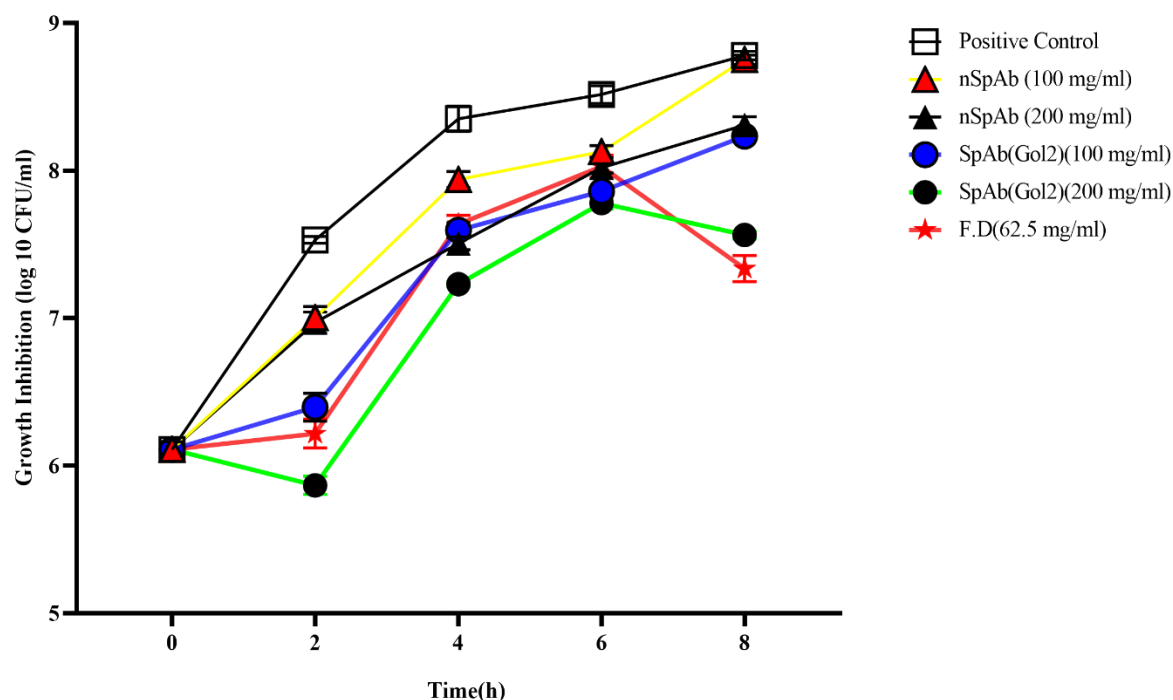
$\sum C$: مجموع کلنی های شمارش شده روی پلیت از دو رقت متوالی که حداقل یکی از پلیت ها ۱۰ کلنی داشته باشد.

V: حجم تلقیح شده در هر پلیت بر حسب میلی متر.

d: رقت معادل با اولین رقت شمارش شده.

با توجه به منحنی رشد باکتری *E.coli* K99، بررسی اثر مهار کنندگی پودر آنتی بادی اختصاصی در مقایسه با آنتی بادی غیر اختصاصی و نمونه تجاری در یک بازه ی زمانی ۸ ساعته انجام گرفت. نوع و غلظت های مختلف آنتی بادی نتایج متفاوتی را در میزان رشد باکتری ایجاد نمود. بین رشد *E.coli* K99 در گروه کنترل مثبت با سایر تیمارها در همه زمان ها تفاوت معنی داری وجود داشت. این در حالی است که تعداد باکتری انکوبه شده در مجاورت غلظت 100mg/ml از آنتی بادی غیر اختصاصی در همه زمان ها

کمتر از گروه کنترل مثبت می‌باشد اما در این غلظت باکتری با اختلاف حداکثری ۰.۵ واحد لگاریتمی الگوی رشدی مشابه با گروه کنترل مثبت داشته و به سرعت رشد باکتری افزایش یافته است و در ساعت ۸ انکوباسیون تقریباً مشابه کنترل مثبت بوده و تفاوت معنی داری مشاهده نمی‌شود. در مقابل رشد باکتری بین دو گروه در حضور غلظت بالاتر از آنتی بادی غیر اختصاصی (200mg/ml) متفاوت و معنی دار بود و بیشترین تفاوت معنی دار به میزان 0.84 واحد لگاریتمی CFU/ml در زمان ۴ انکوباسیون مشاهده می‌شود هر چند شیب کاهش رشد در زمان‌های انکوباسیون بالاتر و با ورود باکتری به فاز لگاریتمی رشد کاهش قابل ملاحظه ای پیدا می‌کند اما نمی‌توان اثر بازدارندگی رشد توسط آنتی بادی غیر اختصاصی را در غلظت‌های بالاتر نادیده گرفت. این میزان اثر گذاری در گروه آنتی بادی اختصاصی حتی در غلظت‌های پایین و در همه زمان‌ها با اختلاف بالاتر و معنی دار تری مشاهده شد. بیشترین میزان اثر گذاری در غلظت پایین (100 mg/ml) مربوط به زمان ۲ بعد از انکوباسیون است به طوری که در این زمان نسبت به گروه کنترل مثبت 1.13 واحد لگاریتمی رشد کاهش داشته است. در زمان‌های انکوباسیون بالاتر شیب کاهش رشد کمتر و نرخ ثابتی پیدا کرده است. در بین تمامی تیمارها غلظت دو برابری آنتی بادی اختصاصی (200mg/ml) بیشترین اثرگذاری را در مهار رشد داشته و بالاترین میزان اثر گذاری در این گروه مشابه با غلظت ۱۰۰ در زمان ۲ ساعت انکوباسیون با کاهش ۱.۶۶ لگاریتمی می‌باشد. هر چند این اثرگذاری در زمان‌های انکوباسیون بالاتر نیز با یک روند ثابت حفظ می‌شود اما می‌توان نتیجه گرفت که آنتی بادی اختصاصی بیشترین تاثیر را در مرحله رشد ایستایی باکتری داشته و از همان ابتدا تکثیر باکتری را مهار می‌کند. از طرفی اثر بازدارندگی رشد وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت این اثر نیز بیشتر و پایدارتر است. آنتی بادی اختصاصی در زمان‌های انکوباسیون ۰-۴ ساعت به طور معنی داری ($p < 0.05$) موثرتر از نمونه تجاری رشد را مهار کرده است و در زمان ۸ ساعت بعد از انکوباسیون تفاوت معنی داری با نمونه تجاری نداشته است لذا می‌توان گفت آنتی بادی مورد استفاده در این مطالعه مشابه با نمونه‌های تجاری دارای فعالیت‌های اتصالیه علیه اپی‌توپ‌های مختلف مشتق شده از سطح باکتری است که مشابه با نمونه‌های تجاری موجود می‌تواند با اتصال به اجزای سطحی مختلف عملکرد اجزایی را که ممکن است برای تحرک و رشد باکتری در مراحل اولیه رشد حیاتی باشد را مسدود نماید.



شکل ۴۶: منحنی مهار رشد باکتری *E. coli* K99 در حضور غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) پودر حاوی آنتی بادی اختصاصی و غیر اختصاصی و نمونه تجاری

۳-۴- تعیین MIC^1 و MBC^2 به روش میکروتیتیر پلیت

آزمون آنتی باکتریال MIC و MBC روشی به منظور سنجش اثرات ضد باکتری ترکیبات و از مهمترین و پرکاربردترین آنالیزهای میکروبیولوژی است. منظور از MIC ، غلظتی از یک ماده آنتی باکتریال است که می‌تواند رشد باکتری را در محیط آزمایشگاهی مهار کند و منظور از MBC ، حداقل غلظتی از آن ماده است که باکتری‌ها را از بین می‌برد. هر چه این مقادیر در آنالیز آنتی بیوگرام در غلظت کمتری باشد، قدرت ضد باکتریایی ترکیب قوی‌تر است. اهمیت آزمون تعیین MIC و MBC امروزه به دلیل افزایش مقاومت دارویی باکتری‌ها بسیار بیشتر شده است.

برای انجام این تست ابتدا از کشت تازه باکتری *E. coli* K99 در محیط مینکا برات کدورتی معادل 1×10^5 CFU/ml بدست آید. با توجه مک فارلند تهیه و به نسبت ۱ به ۱۰۰ رقیق شد، تا کدورتی معادل 1×10^5 CFU/ml بدست آید. با توجه به نتایج بدست آمده از تست مهار رشد از مواد مورد آزمایش استریل شده با فیلتر سر سرنگی با قطر منفذ $0.45 \mu m$ رقت‌های مختلف از پودر آنتی بادی اختصاصی (spAb) و غیر اختصاصی (nspAb) با غلظت نهایی (250, 125, 62.5, 31.25 mg/ml) در محیط مینکا برات تهیه شد. سپس در پلیت ۹۶ خانه پلی استایرن ته صاف ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های مختلف آنتی بادی‌ها، که حاوی ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری است ریخته شد. همچنین چاهک‌هایی حاوی ۲۰۰ میکرولیتر محیط مینکا برات به عنوان کنترل منفی و چاهک‌هایی حاوی محیط کشت و باکتری به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. چاهک‌هایی

¹ Minimum Inhibitor Concentration

² Minimum Bactericidal Concentration

نیز به عنوان شاهد کدورت حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط مینکا و ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت محلول pAb در نظر گرفته شد. برای هر نمونه سه بار تکرار در نظر گرفته شد. سپس درب پلیت گذاشته شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۷ °C و شیکر 180 rpm انکوبه شد. بعد از ۲۴ ساعت کدورت در طول موج ۶۳۰ نانومتر توسط الیزا ریدر خوانده شد.

برای تعیین MBC قبل از خواندن جذب با الیزا ریدر از چاهک‌هایی که رشد در آنها مشاهده نمی‌شود ۲۰ میکرولیتر برداشته و در محیط مینکا آگار کشت داده شد و بعد از انکوبه گذاری پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور رشد یا عدم رشد آن‌ها بررسی شد. سپس حداقل غلظت آنتی بادی که بیش از ۹۹٪ جمعیت باکتریایی اولیه را بکشد به طوری که هیچ رشد قابل مشاهده‌ای از باکتری در پلیت‌ها دیده نشود به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد.

در بررسی نتایج حداقل غلظت مهار کنندگی، مشاهده شد که میزان جذب نوری محیط کشت باکتری در طول موج ۶۰۰ نانومتر با افزایش غلظت ترکیب ضد میکروبی کاهش یافت. بر اساس نتایج جذب نوری مشاهده شده در غلظت‌های مختلف از آنتی بادی اختصاصی، آنتی بادی غیر اختصاصی و جنتامایسین، MIC به عنوان کمترین غلظتی در نظر گرفته شد که بعد از طی زمان گرمخانه‌گذاری در ۳۷ درجه سانتیگراد افزایش جذبی در طول موج ۶۰۰ نانومتر مشاهده نشد و بیش از ۹۰ درصد رشد را نسبت به کنترل مهار کرده باشد. درصد مهار رشد در مقایسه با گروه‌های کنترل طبق فرمول زیر محاسبه شد:

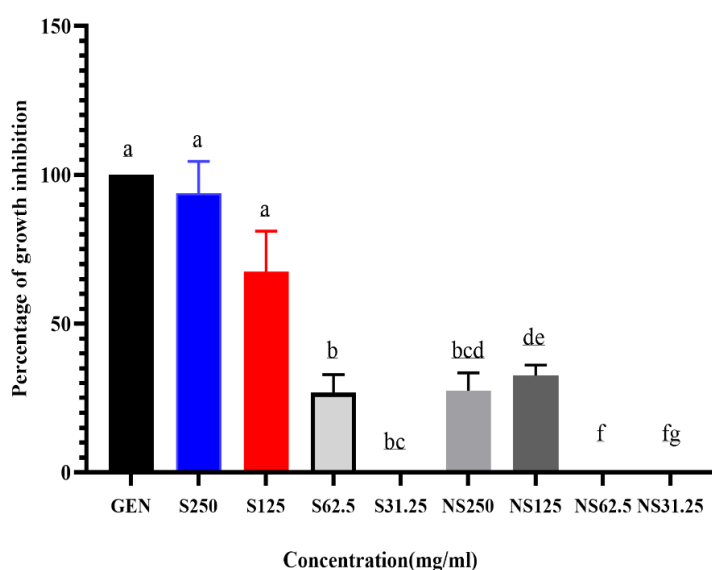
$$\text{درصد مهار رشد} = \frac{(C - B) - (T - E)}{C - B}$$

C: میانگین جذب چاهک کنترل مثبت

B: میانگین جذب چاهک‌های کنترل محیط

T: میانگین جذب نوری چاهک‌های مورد آزمون

E: میانگین جذب چاهک شاهد شامل ترکیب آنتی باکتریال همان غلظت بدون تلقیح باکتری



شکل ۴۷: درصد مهار رشد باکتری *E. coli* K99 در حضور غلظت‌های مختلف از *SpAb* آنتی بادی اختصاصی و *nSpAb* آنتی بادی غیر اختصاصی به روش میکروتیتر پلیت

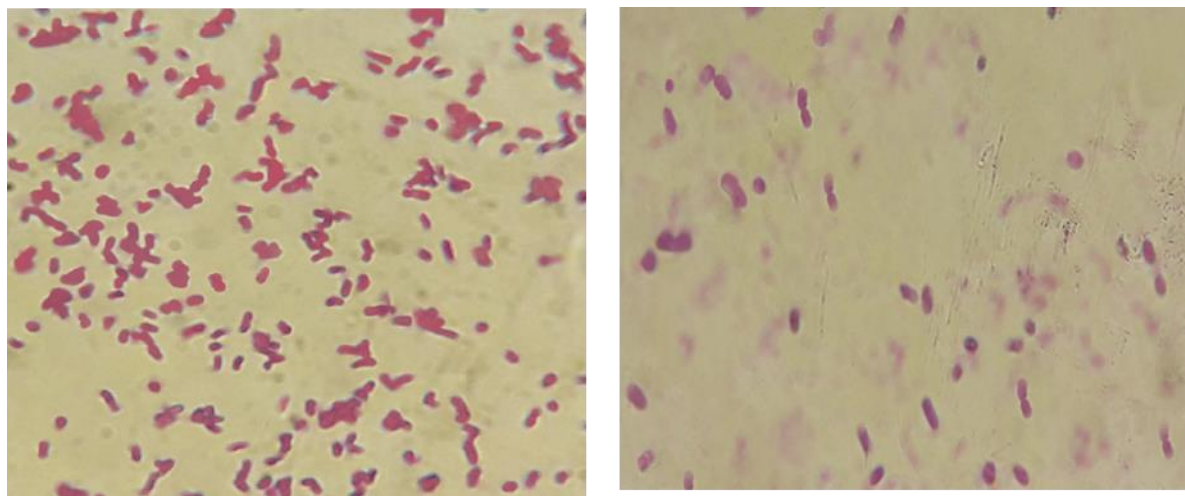
با استنباط از نمودار بالا، حداقل رقت ممانعت کننده رشد باکتری برای آنتی بادی اختصاصی، mg/ml ۲۵۰ می‌باشد، که منجر به کاهش ۹۳/۸۴ درصدی جذب نوری ناشی از رشد باکتری شده است و از نظر مهار رشد تفاوت معنی داری با جنتامایسین ۱۰ میکروگرم نداشته است. همین غلظت در مورد آنتی بادی غیر اختصاصی کمتر از ۵۰ درصد رشد را مهار نموده و تفاوت معنی داری با نمونه اختصاصی و جنتامایسین داشته است. برآیند نتایج مربوط به تست مهار رشد و تست MIC بیانگر آن است که اثر مهار آنتی بادی وابسته به غلظت و زمان می‌باشد زیرا باکتری در زمان ۸ ساعت پس از انکوباسیون همچنان رشد را داشته و در زمان انکوباسیون ۲۴ ساعته رشد بیش از ۹۰ درصد مهار شده است. کوتا^۱ و همکاران در سال ۲۰۲۰ جهت تعیین پتانسیل آنتی باکتریال IgY ضد پروتئین A استافیلوکوکوس آرئوس (spA IgY) به همین روش تست MIC را اجرا و اثر باکتریواستاتیکی در غلظت ۱۵۰ میکرو گرم از آنتی بادی اختصاصی را گزارش نموده‌اند. کمتر بودن MIC گزارش شده احتمالاً به دلیل اختصاصیت آنتی بادی بر ضد یک پروتئین خاص باکتری می‌باشد. از طرفی به نظر می‌رسد ایمونیزاسیون بر ضد آنتی ژن خاص سطح باکتری و تخلیص کاملتر می‌تواند همین اثر بازدارندگی را با مقادیر خیلی کمتر از آنتی بادی اختصاصی نشان دهد. با توجه به اینکه هیچکدام از آنتی بادی‌های اختصاصی و غیر اختصاصی مورد آزمایش در تست MBC باعث مرگ کامل باکتری *E.coli* K99 نشده بودند می‌توان به این نتیجه دست یافت که مشابه با سایر مطالعات آنتی بادی اختصاصی بر روی باکتری *E.coli* K99 اثر باکتریواستاتیک داشته و ویژگی باکتریوسایدی ندارد. در این تحقیق از IgY خام زرده تخم مرغ در برابر آنتی ژن خام باکتری استفاده شده است که ممکن است با اتصال و مسدود کردن پاتوژن از طریق خنثی سازی یا آسیب غشایی به باکتری باعث مهار رشد و تکثیر شده باشد در حالیکه ممکن است در شرایط *Invivo* در کنار سایر اجزای سیستم ایمنی اثر باکتریوسایدی را نشان دهد.

۴-۴ بررسی مورفولوژی سلول باکتری توسط میکروسکوپ نوری پس از تیمار با آنتی بادی

به منظور بررسی اثر آنتی بادی بر مورفولوژی و رنگ پذیری باکتری *E.coli* k99، از محلول باکتری ها قبل و پس از تیمار با پلی کلونال آنتی بادی لام تهیه و سپس رنگ آمیزی انجام گرفت. در این رنگ آمیزی باکتری‌ها بر اساس ساختار دیواره سلولی به ۲ گروه تقسیم می‌شوند. باکتری‌های گرم مثبت که در ساختار دیواره پپتیدوگلیکان دارند و ضخامت دیواره بیشتر است و باکتری‌های گرم منفی که بخش اعظم دیواره سلولی را لیپوپلی ساکارید تشکیل می‌دهد. این تفاوت در ساختار باعث تفاوت در رنگ‌پذیری باکتری می‌شود. گسترش تهیه شده از باکتری روی لام پس از تثبیت با کریستال ویوله به مدت ۱ دقیقه رنگ آمیزی شد در این مرحله همه باکتری‌ها به رنگ بنفش درآمدند، با اضافه کردن لوگول رنگ کریستال ویوله تثبیت شد، پس از افزودن الکل-استون به عنوان ماده رنگبر باکتری‌های گرم منفی که ساختار پپتیدوگلیکانی ضخیمی ندارند بیرنگ شدند و باکتری‌های گرم مثبت همچنان بنفش بودند. اضافه کردن سافرانین باعث قرمز شدن باکتری‌های گرم منفی شد. پس از هریک از مراحل رنگ‌آمیزی، نمونه با آب شستشو داده شد. در نهایت لام ها خشک و در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ مشاهده شدند. نتایج رنگ آمیزی گرم از باکتری

¹ Kota

E.coli K99 نشان دهنده باسیل های گرم منفی بوده، به طوریکه در زیر میکروسکوپ به رنگ قرمز تا صورتی دیده می شوند.



شکل ۴۸: تصاویر میکروسکوپ نوری از رنگ آمیزی گرم باکتری *E.coli* K99، (A) نمونه کنترل با بزرگنمایی ۱۰۰، (B) نمونه تیمار شده با pAb با بزرگنمایی ۱۰۰

همانطور که در شکل بالا مشاهده می شود در نمونه کنترل که فقط شامل کشت باکتری در محیط مینکا برات می باشد باکتری شکل میله ای و منظم خود را حفظ کرده توزیع آرایش و اندازه ذرات یکنواخت می باشد اما زمانیکه باکتری تحت تیمار با غلظت MIC پلی کلونال آنتی بادی قرار گرفته تراکم باکتری به شدت کاهش یافته و اکثر باکتری ها شکل میله ای منظم خود را از دست داده و مورفولوژی به حالت کوکوباسیل درآمده است ضمن اینکه رنگ پذیری باکتری ها به شدت کاهش یافته است و بسیاری از آنها به صورت اجرام نامنظم و تار در پس زمینه تصویر مشاهده می شوند این حالت می تواند مبنی بر تاثیر آنتی بادی بر تمامیت دیواره سلولی و از بین رفتن دیواره سلولی باکتری باشد. مشابه با نتایج ما، میکروگراف های الکترونی تهیه شده توسط هان^۱ و همکاران در سال ۲۰۲۱ از نمونه باکتری انتروتوکسین اشريشا کولای^۲ (ETEC) تیمار شده با IgY اختصاصی ضد ETEC نشان دهنده تخریب در سطوح دیواره باکتری و حتی تار شدن و نامنظم شدن اشکال باکتری می باشد.

¹ Han

² Enterotoxigenic Escherichia coli

فصل ۵: بررسی اثر آنتی بادی های اختصاصی علیه

باکتری *E.coli*K99 در شرایط (*In vivo*)

۵-مقدمه

در راستای نتایج بدست آمده در تست های آزمایشگاهی و موفقیت بسیار مناسب آنتی بادی های اختصاصی در کنترل رشد جمعیت های میکروبی هدف، بررسی اثرات این آنتی بادی ها در بدن حیوانات هنگام مواجهه با باکتری *E.coli* K99 در دستور کار قرار گرفت. برای این منظور ابتدا برنامه کلی شامل نوع نژاد و تعداد موش، نحوه آلوده کردن موش ها با باکتری مورد نظر، آنالیز خوراک و گروه بندی تیمار ها در دستور کار قرار گرفت که در زیر شرح مفصلی از این مراحل ذکر گردیده است.

۵-۱- آماده سازی و اجرای مطالعه

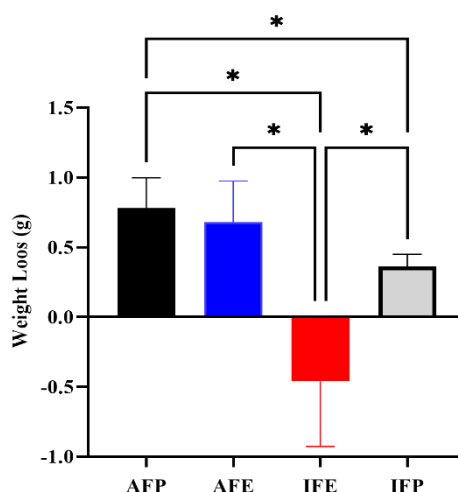
جهت بررسی اثرات کنترلی آنتی بادی های اختصاصی پلی کلونال (pAb) تولید شده علیه باکتری *E.coli* K99 با مصرف خوراکی بر روی ۲۰ سر موش C57BL/6 ماده ۴ هفته ای با وزن تقریبی ۱۳-۱۴ گرم به صورت تصادفی در چهار گروه ۵ تایی انجام گرفت. در این مطالعه موش ها به چهار تیمار مختلف تقسیم بندی شدند و دو گروه از موش ها از خوراک های حاوی ۲۵۰ میلی گرم آنتی بادی با عنوان خوراک های Active مورد تغذیه قرار گرفتند، که از این دو گروه یکی از آنها با دریافت گاواژ ۲۰۰ میکرولیتر از باکتری *E.coli* K99 با غلظت 5×10^9 واحد کلنی در میلی لیتر (CFU) دریافت کرد که با عنوان AFE و گروه دوم با گاواژ PBS که با عنوان AFP شناسایی شدند. در مقابل دو گروه دیگر که با خوراک های حاوی آنتی بادی غیر فعال شده در فرآیند اتوکلاو که در این مطالعه با عنوان خوراک InActive شناسایی شده بود و مشابه با گروه های قبلی با و بدون قرار گیری با جمعیت میکروبی هدف و PBS با عناوین IFE که به عنوان گروه کنترل مثبت و IFP که به عنوان گروه کنترل منفی در این مطالعه شناسایی شدند.

بمنظور عادت پذیری موش ها در شرایط گروه بندی و همچنین عادت پذیری آنها به نوع و ساختار خوراک کلیه موش ها طی یک دوره ۱۲ روزه با خوراک Inactive مورد تیمار قرار گرفتند. خوراک های موش ها مطابق با خوراک رشد اختصاصی پژوهشکده زیست فناوری رویان مطابق با استاندارد خوراک حیوانات آزمایشگاهی آماده سازی شد. پس از دوره عادت پذیری موش ها به مدت ۱۴ روز، تحت تغذیه با خوراک های اختصاصی هر تیمار قرار گرفتند تا با ایجاد غلظت مناسبی از آنتی بادهای در فضاء مخاطی بتوانیم بررسی اثرات ورود جمعیت میکروبی را مورد مطالعه قرار دهیم. در روز چهاردهم طرح، ۴ ساعت قبل از گاواژ باکتری آب و غذای موش ها برداشته شد و ۱۵ دقیقه قبل از گاواژ باکتری، برای خنثی سازی اسید معده به هر موش ۵۰ میکرولیتر سدیم بیکربنات ۱۰ درصد خورانده شد. پس از ۳ ساعت از گاواژ آب و غذا به موش ها برگردانده شد. ۷۲ ساعت بعد مجدداً با روش گاواژ تلقیح مجدد جمعیت میکروبی به موش ها صورت گرفت.

۵-۲- بررسی تاثیر خوراک حاوی آنتی بادی در بهبود علائم بالینی ناشی از *E.coli* K99

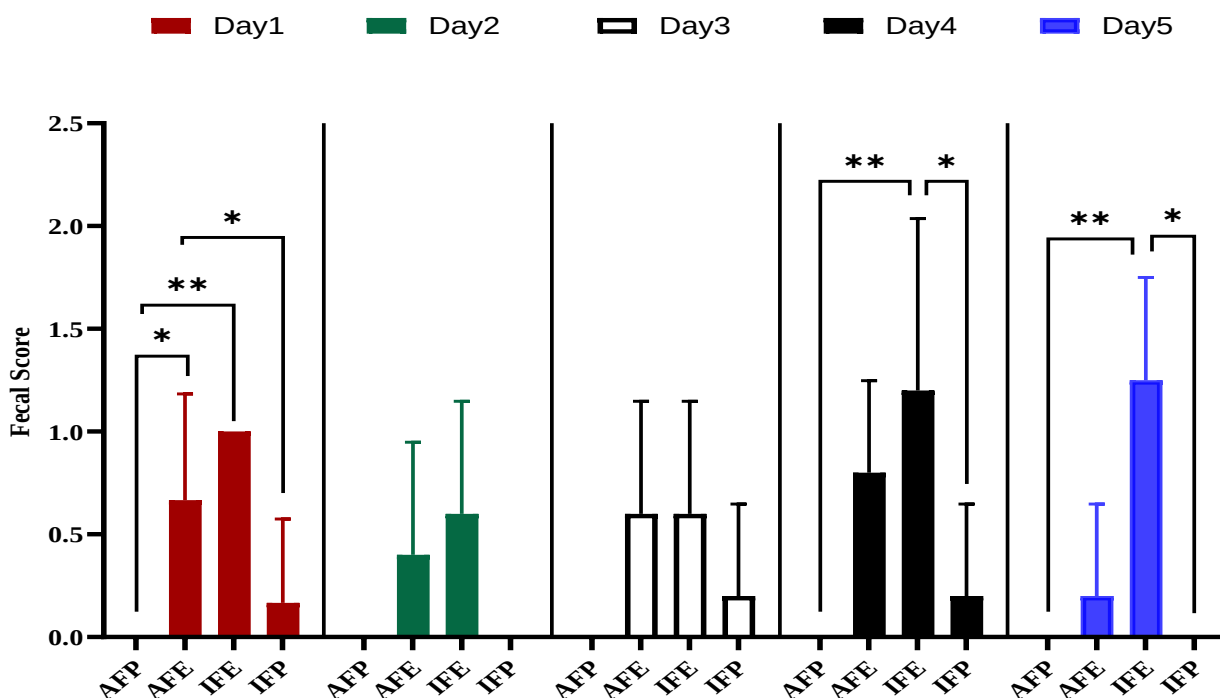
جهت ارزیابی اثر خوراک حاوی pAb اختصاصی ضد *E.coli* K99 در کاهش اثرات منفی ناشی از گاواژ *E.coli* K99 در موش های آلوده شده، پس از چالش علائم بالینی موش ها روزانه با استفاده از یک سیستم

امتیاز دهی که قبلاً توسط Warren و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش شده بود، بررسی شد (۶۰). پس از چالش موش‌ها درجات متفاوتی از علائم بالینی را نشان دادند که شامل بی‌حالی، کاهش اشتها، حالت خمیده بدن و مدفوع نرم بود در حالیکه موش‌های گروه تیمار که خوراک حاوی pAb اختصاصی را قبل از چالش به مدت ۱۴ روز دریافت کرده بودند هیچگونه علائم بالینی از عفونت *E.coli* K99 را نشان ندادند.



شکل ۴۹: نمودار تاثیر خوراک حاوی آنتی بادی اختصاصی و خوراک نرمال بر تغییرات وزن موش‌ها، AFP موش‌های تغذیه شده با خوراک حاوی آنتی بادی، AFE موش‌های آلوده شده با *E.Coli*، IFE موش‌های تغذیه شده با آنتی بادی دی اکتیو شده و IFP موش‌هایی که دریافت نموده اند

تفاوت معنی داری در میزان بقا در بین گروه‌ها مشاهده نشد اما در گروه کنترل مثبت در روز دوم پس از دومین چالش یکی از موش‌ها تلف شد. موش‌های گروه کنترل مثبت آلوده شده با *E.coli* K99 نسبت به موش‌های گروه‌های تیمار شده با خوراک حاوی آنتی بادی (pAb) افزایش وزن بدن خیلی کمتری داشتند. افزایش وزن در گروه تیماری که تنها خوراک حاوی pAb دریافت کرده بودند اما چالش آلودگی با باکتری را نداشتند از همه گروه‌های دیگر بسیار بیشتر و اختلاف معنی داری داشت. با این حال موش‌هایی که قبل از چالش آلودگی با خوراک Active درمان شده بودند کاهش وزن بدن کمتری داشته و حتی نسبت به گروه کنترل منفی افزایش وزن نیز نشان داده اند. جهت امتیاز دهی و بررسی تغییرات مدفوع، نمونه‌های مدفوع پس از چالش روزانه جمع آوری شد و القاء اسهال به صورت زیر نمره گذاری شد: امتیاز صفر: مدفوع طبیعی (مدفوع خشک، گرانول‌های دست نخورده)، امتیاز یک: اسهال خفیف (مدفوع چسبنده و چسبندگی به کاغذ صافی، تغییر رنگ زرد)، امتیاز دو: اسهال متوسط (مدفوع نرم و بی شکل، از هم جدا نشدن مدفوع در آب، حاوی دم مرطوب یا موکوسی، امتیاز سه: اسهال شدید (مدفوع مایع و آبکی و یا فقدان مدفوع). موش‌هایی با نمره مدفوع بیشتر از یک اسهال در نظر گرفته شدند.

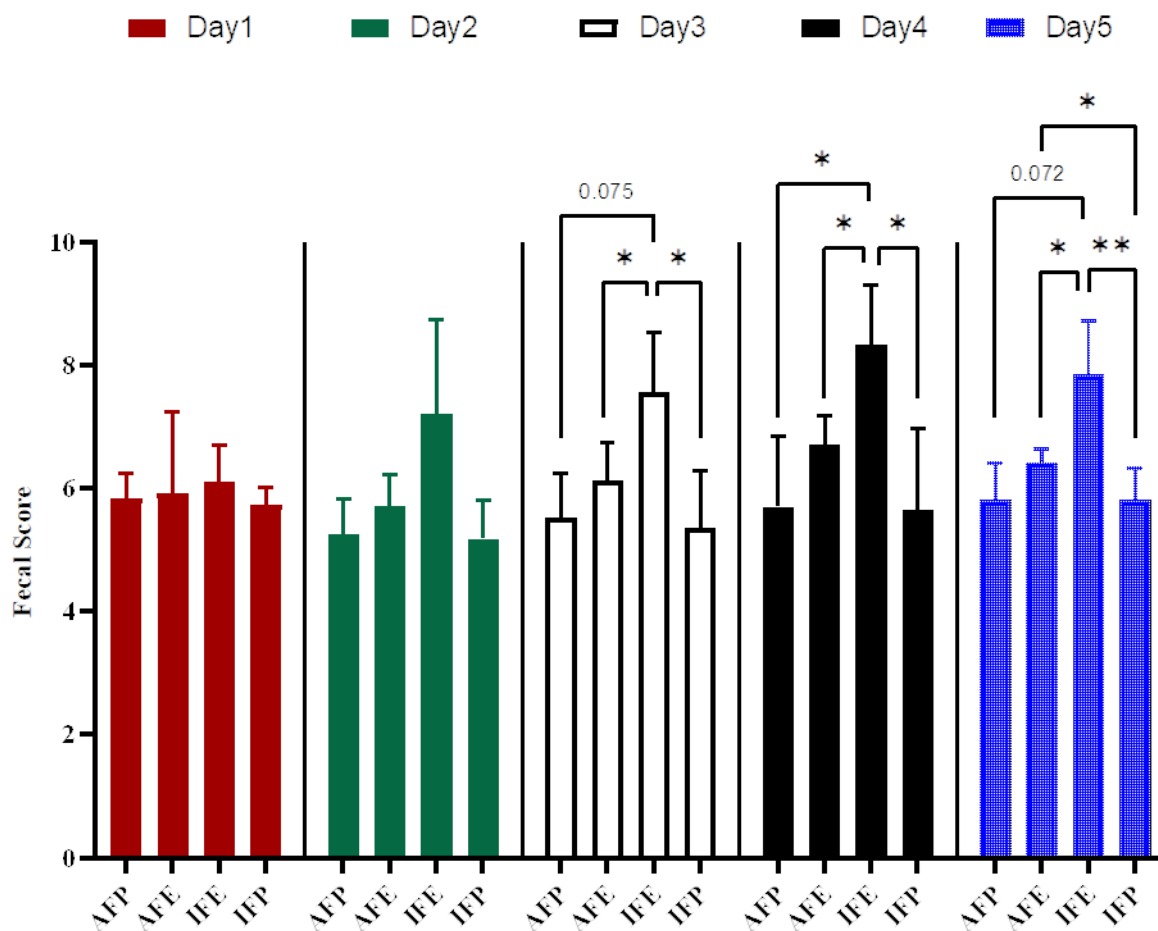


شکل ۵۰: نمودار امتیاز مدفوع موش ها در طی دوره آزمایش AFP موش های تغذیه شده با خوراک حاوی آنتی بادی، AFE موش های آلوده شده با E.Coli IFE موش های تغذیه شده با آنتی بادی دی اکتیو شده و IFP موش هایی که PBS دریافت نموده اند

با توجه به نمودار بالا امتیاز مدفوع موش ها در روز اول پس از عفونت در موش های گروه کنترل مثبت نسبت به گروه تیمار افزایش داشته و این افزایش در اولین روز پس از چالش دوم به میزان بیشتری مشاهده شد البته امتیاز مدفوع در گروه کنترل مثبت نیز از عدد دو بیشتر نشد. در حالیکه امتیاز مدفوع در موش های گروه تیمار افزایش چشمگیری نداشته و فقط پس از چالش دوم امتیاز مدفوع در اکثر موش ها به عدد یک رسیده است.

۵-۳- کشت و بررسی میزان ریزش باکتری در مدفوع

نمونه های مدفوع از گروه های کنترل و تست روزانه به مدت ۵ روز بعد از گاوژ باکتری جمع آوری گردید و کشت داده شد. میزان مرگ و میر، زنده مانی و علائم کلینیکی در هر گروه در این مدت زمان مورد بررسی قرار گرفت. پس از توزین ۱۰۰ میلی گرم مدفوع تازه جمع آوری شده از گروه های تست و کنترل، ۱ میلی لیتر از PBS استریل بر روی نمونه های مدفوعی ریخته و به مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا مدفوع نرم شود و باکتری ها جدا شوند. پس از ته نشین شدن مواد نا محلول از مایع رویی ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و در ۹۰۰ میکرولیتر PBS استریل ریخته شد. سپس میکروتیوب را به خوبی ورتکس کرده و سری رقت های متوالی ساخته شد و ۱۰۰ میکرولیتر از هر سری رقت برداشته و در سطح محیط مک کانکی کشت داده شد. پلیت های کشت داده شده به ۱۸ تا ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده تا باکتری ها رشد نمایند. کلنی های باکتری E.coli در محیط کشت مک کانکی صورتی رنگ مورد شمارش قرار گرفتند و بر همین اساس میزان ریزش مدفوعی باکتری به صورت $\log_{10}$ CFU/g مدفوع بیان شد.



شکل ۵۱: نمودار میزان ریزش مدفوعی باکتری در طی زمان آزمایش AFP موش های تغذیه شده با خوراک حاوی آنتی بادی، AFE موش های آلوده شده با *E.Coli* IFE موش های تغذیه شده با آنتی بادی دی اکتیو شده و IFP موش هایی که PBS دریافت نموده اند

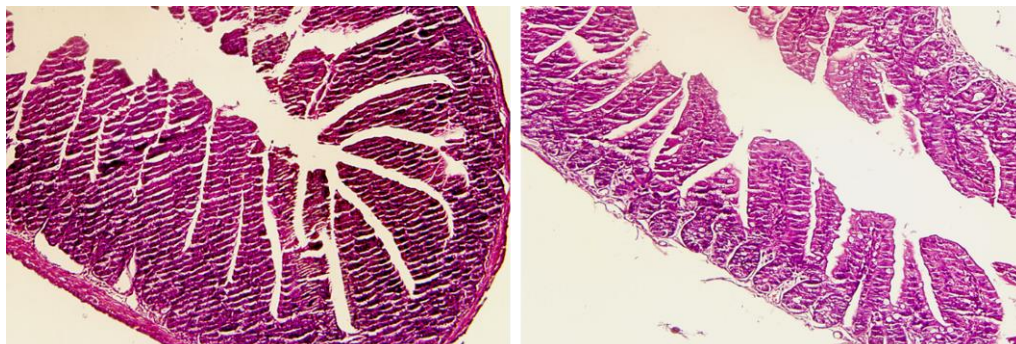
براساس نمودار میزان ریزش مدفوعی باکتری در روز اول پس از عفونت، در مقایسه با گروه کنترل منفی تعداد *E.coli* K99 در مدفوع تمام موش های به چالش کشیده شده افزایش یافت و این افزایش تا روز دوم پس از گاوژ نیز ادامه پیدا کرد. هر چند میزان ریزش باکتری در مدفوع موش هایی که خوراک حاوی pAb ضد *E.coli* K99 دریافت کرده بودند نسبت به گروه کنترل مثبت به طور معنی داری کمتر می باشد. در اولین روز پس از گاوژ دوم باکتری بیشترین میزان ریزش باکتری در مدفوع در هر دو گروه کنترل مثبت و تیمار مشاهده شد هر چند در گروه تیمار کاهش ۱/۶۲ لگاریتمی ریزش مدفوع نسبت به گروه کنترل مثبت نشان دهنده اثر محافظتی pAb اختصاصی در برابر عفونت *E.coli* K99 می باشد. در روز دوم پس از چالش اول روند کاهشی ریزش باکتری در هر دو گروه کنترل مثبت و تیمار دیده شد.

۴-۵- آنالیز های هیستولوژی

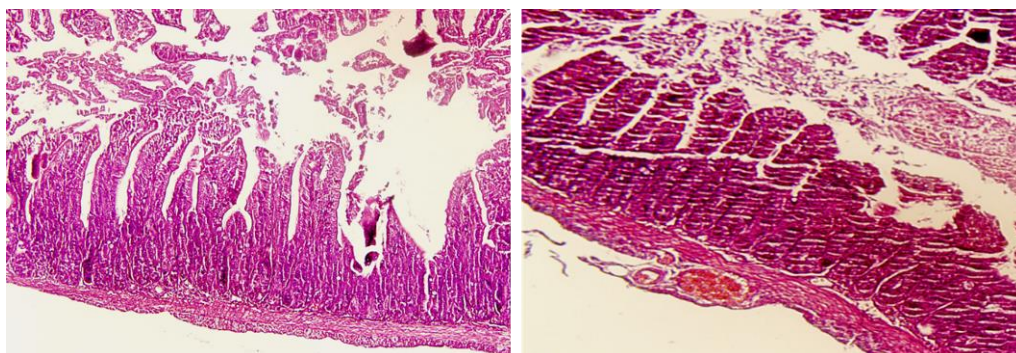
برای ارزیابی بیشتر وضعیت آسیب روده ای، تجزیه و تحلیل ریخت شناسی روده و امتیازهای بافت شناسی انجام شد. قطعات ژژنوم و ایلئوم از روده جدا شد و به آرامی با نرمال سالین (سدیم کلراید ۰.۹٪) شستشو انجام شد. در مرحله بعد قطعات با پارافورمالدئید ۴٪ فیکس گردید. سپس مراحل آگیری و قالب گیری از

بافت ها صورت پذیرفت و پس از آن، برش گیری از بافت و رنگ آمیزی انجام شد. بررسی مرفولوژی ویلی با اندازه گیری ارتفاع ویلی و عمق کریپت و نسبت های مرتبط مطابق با مطالعه هان و همکاران انجام پذیرفت (۶۱).

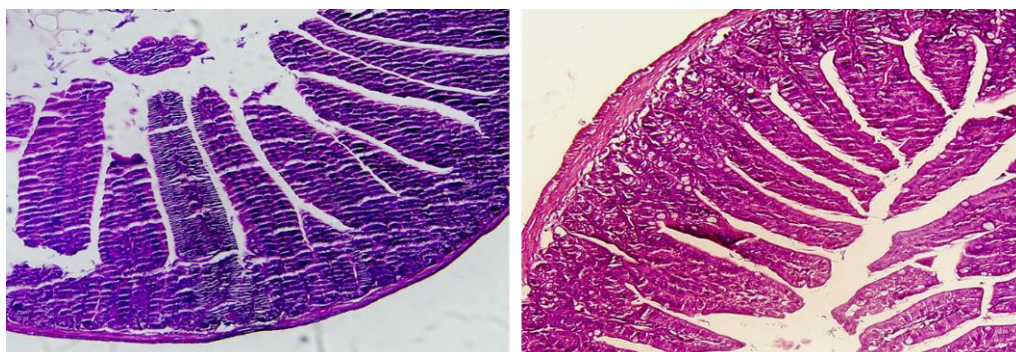
Normal



Infect



Treat



شکل ۵۲: تصاویر هیستولوژی. تصاویر مربوط به ژژنوم در سمت چپ و ایلئوم در سمت راست قرار دارد. عکس اول مرتبط با موش نرمال (بدون دریافت باکتری آلوده کننده و خوراک حاوی آنتی بادی). عکس دوم مرتبط با موش آلوده شده با باکتری. عکس سوم موش آلوده شده با باکتری و دریافت کننده خوراک حاوی آنتی بادی

جدول ۶: بررسی طول ویلی و کریپت در ایلئوم و ژژنوم در موش های Normal موش ها شاهد، Infect موش های آلوده با *E.Coli* Treat موش های تغذیه شده با آنتی بادی

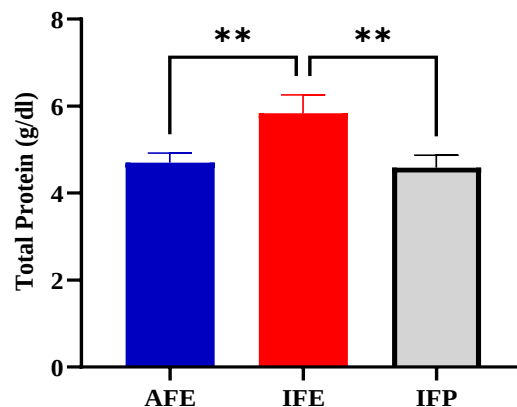
	Normal	Infect	Treat	P-value
Jejunum				
Villus height (μm)	390.6 ^a	263.13 ^b	400.95 ^a	0.029
Crypt depth (μm)	116.7	147.67	136.53	0.06
Villus height/ Crypt depth(μm)	3.86 ^a	2.09 ^b	2.82 ^{bc}	0.023
Ileum				
Villus height (μm)	224 ^b	194.5 ^{bc}	259.6 ^a	0.041
Crypt depth (μm)	122.7 ^b	121.43 ^{ab}	143.47 ^a	0.45
Villus height/ Crypt depth(μm)	1.94	1.6	1.81	0.48

درگیری با انتروتوکسین *E.Coli* (ETEC) به عنوان یکی از عوامل بروز حاد یا تحت حاد از التهاب روده، اسهال و در مورد درگیری شدید در حیوانات جوان یا کودکان با مرگ مشاهده شده است (۶۲). برای بررسی بیشتر نحوه اثر گذاری این جمعیت های میکروبی بررسی دقیق تری بر روی خطر آسیب های روده ای و بررسی تغییرات هیستولوژیک و مورفولوژیک، می تواند به روش های کنترل یا مهار این اثرات توسط جمعیت میکروبی متمرکز شد. در این مطالعه با بررسی کمی و کیفی صفات مرتبط با نمونه های هیستولوژی (تصویر ۷۱ و جدول ۹) نشان داد که طول ویلی در ژژنوم موش های بیمار به طور معنی داری کاهش یافته و این در حالی است که موش تیمار شده با آنتی بادی های اختصاصی تفاوت معنی داری را در طول ویلی نسبت به گروه شاهد نشان ندادند. میل به معنی داری در افزایش عمق کریپت در تیمارهای درگیر با باکتری *E.Coli* در این مطالعه شده مشاهده شده است. این مشاهدات نشان می دهد که در گروه تیمار شده با آنتی بادیهی اختصاصی تعادل بین تخریب و ترمیم سلول ها برقرار می باشد. مشاهدات در ایلئوم نشان دهنده افزایش معنی داری در طول و عمق کریپت ها در گروه تیمار با آنتی بادی می باشد. مشابه با نتایج این مطالعه، کاهش معنی داری در طول ویلی و نسبت طول ویلی به عمق کریپت را در موش های مبتلا به باکتری *E.Coli* را مشاهده کردند (۶۳). همچنین مشاهده شد که مصرف آنتی بادی های اختصاصی به صورت خوراکی باعث بهبود ساختار بافت و مورفولوژی ویلی ها در موش های درگیر با باکتری مورد نظر را دارد.

آنتی بادی های اختصاصی با اگلوتینه کردن جمعیت باکتریای هدف مانع از رشد و اتصال این جمعیت های میکروبی می شوند، این مشاهده در مطالعات نشان داد که اتصال اختصاصی آنتی بادی ها علیه سالمونلا می تواند با اتصال سطحی به این باکتری مانع از تغییرات سطحی آنتی ژن های این جمعیت میکروبی شده و اثرات کشندگی قابل توجهی را از خود بروز دهد (۶۴).

۵-۵- آنالیز پروتئین های سرم

صدها پروتئین مختلف در پلاسمای خون حضور دارند که مجموعاً بنام پروتئین های پلاسما^۱ معروف هستند. این پروتئین ها شامل: پروتئین های فاز حاد^۲ یا APPs، پروتئین های ناقل، فیبرینوژن و فاکتورهای انعقادی دیگر، اجزای کمپلمان، ایمونوگلوبولین ها (Ig) مهارکننده های آنزیمی و ... می باشد. این پروتئین ها اعمال بسیار متنوعی دارند که از آن جمله می توان به عمل انتقال مواد و ترکیبات مختلف در خون، برقراری فشار انکوتیک، عمل تامپونی، عمل دفاعی، واکنشهای انعقادی و فیبرینولیز و اعمال متفرقه اختصاصی دیگر اشاره نمود. بیشترین میزان پروتئین در سرم مربوط به آلبومین است و در دسته دوم گلوبولین ها قرار دارند. این پروتئین گلوبولی کوچک، پروتئین عمده پلاسما محسوب می گردد و بیشتر از نیمی از پلاسما را تشکیل می دهد. از اعمال اصلی آلبومین حفظ فشار اسمزی در فضاهای عروقی و خارج عروقی می باشد که تعادل مداومی بین آن دو ایجاد مینماید. آلبومین همچنین به بسیاری از ترکیبات باند شده و آنها را انتقال می دهد. گلوبولین ها پروتئین های کروی و متنوعی هستند. گلوبولین دارای اجزای آلفا (α)، بتا (β) و گاما (γ) است و الکتروفورز با وضوح بالا، گلوبولین ها را به اجزای پروتئینی به عنوان زیر گروه های β ، α و γ تقسیم می کند. هر یک از سه بخش اولیه گلوبولین حاوی پروتئین های فعال در شرایط مختلف فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیک هستند (۶۵). در این آزمایش اندازه گیری پروتئین های سرم می تواند نشان دهنده اثر باکتری در ایجاد بیماری و اثر آنتی بادی تراپی باشد. با توجه به نتایج قبل تفاوت در بین سه تیمار IFE (موش آلوده شده با باکتری) IFP (موش شاهد و بدون دریافت آنتی بادی) و AFE (موش آلوده شده با باکتری و دریافت کننده خوراک حاوی آنتی بادی) بسیار محرز بود که در ادامه این سه مدل بررسی شدند.

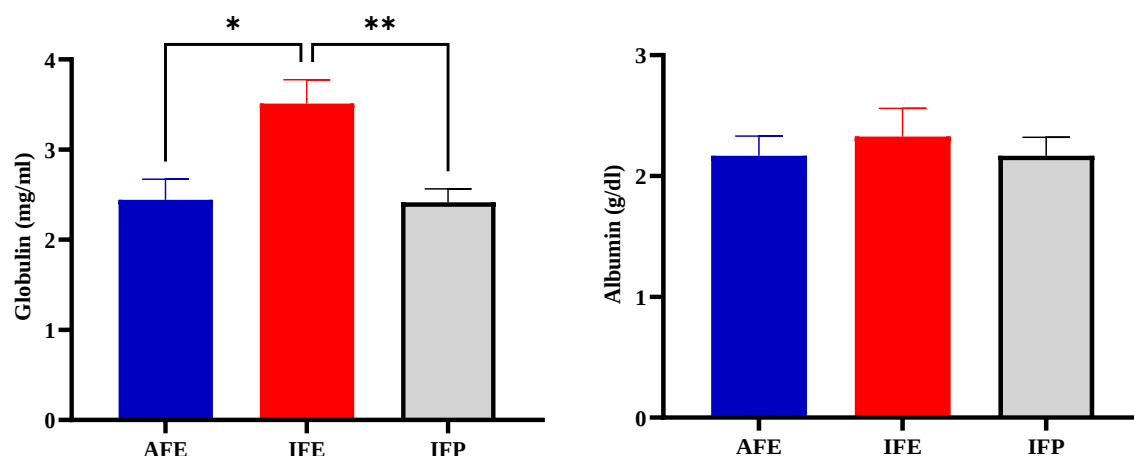


شکل ۵۳: اندازه گیری پروتئین تام در سه گروه ، AFE موش های آلوده شده با *E. Coli* IFE موش های تغذیه شده با آنتی بادی دی اکتیو شده و IFP موش هایی که PBS دریافت نموده اند

1. Plasma Proteins

2. Acute Phase Proteins

همانطور که در نمودار بالا مشاهده می‌شود درگیری با باکتری *E.coli* K99 منجر به افزایش سطح معنی داری از پروتئین های سرم خون در مقایسه با تیمار IFP شده است. این در حالی است که به طور مشخصی استفاده از آنتی بادی ها در خوراک روزانه از میزان درگیری و افزایش پروتئین های سرم جلوگیری کرده و تفاوت معنی داری بین گروه IFP و AFP مشاهده نمی‌شود. در ادامه میزان آلبومین و گلوبولین و نسبت این دو پروتئین مورد بررسی قرار گرفت.



شکل ۵۴: اندازه گیری آلبومین (سمت راست) و گلوبولین (سمت چپ) در سه گروه AFE موش های آلوده شده با *E.Coli* IFE موش های تغذیه شده با آنتی بادی دی اکتیو شده و IFP موش هایی که PBS دریافت نموده اند

با توجه به شکل بالا، می توان دریافت که سطح آلبومین در سه تیمار تفاوت معنی داری ندارد. این در حالی است که در میزان پروتئین تام تفاوت معنی دار است. با توجه به تفاوت معنی دار در سطح پروتئین تام در موش آلوده شده و عدم تفاوت در سطح آلبومین، می توان نتیجه گرفت که این تغییر در سطح گلوبولین ها اتفاق افتاده است که نتایج آزمایشات نیز تایید کننده این مهم می باشند. در مقایسه بین موش های درگیر شده با باکتری و موش های شاهد تفاوت معنی داری در سطح 0.004 (P value = 0.004) می باشد. این در حالی که تفاوت معنی داری در این گروه و گروه آلوده شده با باکتری و دریافت کننده آنتی بادی فعال در خوراک سطح معنی داری 0.029 (P value = 0.029) می باشد. آزمایشات مشابهی در سال ۲۰۲۱ با سویه *E.coli* K88 انجام پذیرفت. مطابق با این تحقیق نیز میزان آلبومین به گلوبولین در هنگام درگیری با جمعیت میکروبی کاهش می یابد که این اثر با آنتی بادی تراپی به سطح نرمال نزدیک می گردد. نتایج آزمون حاکی از افزایش میزان IgG و IgA در مواجهه با آلودگی توسط این باکتری می باشد. نقش بسیار اساسی در ایمنی مخاطی داشته و مانع از اتصال پاتوژن ها به سلول های مخاطی می گردد. با توجه به مطالعات پیشین و نتایج آزمون حاضر می توان افزایش میزان گلوبولین ها در مواجهه با عامل عفونت زای باکتریای را نتیجه افزایش میزان IgA، IgG و IgM دانست. هنگامی که IgY دریافت می شود این پیک کاهش می یابد. در واقع IgY پاسخ التهابی بدن را تعدیل می کند و باعث افزایش دفع پاتوژن در موش های آلوده به این باکتری می شود.

۵-۶- واکنش دهنده های فاز حاد

واکنش دهنده های فاز حاد گروهی از پروتئین های پلاسما هستند که بطور طبیعی توسط کبد تولید میشوند. ساخت این پروتئین های متعدد در پاسخ به محرک التهابی در هر دو وضعیت حاد و مزمن به مقدار زیاد افزایش می یابد. مثال هایی از واکنش دهنده های فاز حاد شامل: ۱- پروتئین های انعقادی (فیبرینوژن^۱، پروترومبین^۲) ۲- پروتئین های ناقل (هپتوگلوبولین^۳، ترانسفرین^۴، سرولوپلاسمین^۵) ۳- اجزاء کمپلمان^۶ (C3, C4) پروتئین های دیگر (فیبرونکتین^۷، سرم آمیلوئید^۸، CRP، A، و فریتین^۹). واکنش دهنده های فاز حاد معمولاً به عنوان یک مقیاس غیر مستقیم از وسعت التهاب بکار می روند. CRP در عفونت های باکتریایی افزایش می یابد (۶۶). در حضور کلسیم، CRP به پلی ساکاریدهایی مانند فسفوکولین^{۱۰} (PCH) موجود در غشا میکروارگانیسم ها متصل می شود و با فعال کردن C1q مسیر مکمل کلاسیک ایمنی ذاتی را تحریک می کند القای رونویسی ژن CRP عمدتاً در سلول های کبدی در پاسخ به افزایش سطوح سایتوکین های التهابی، به ویژه اینترلوکین-۶^{۱۱} (IL-6) رخ می دهد. نقش اصلی CRP در التهاب، متمرکز بر فعال شدن مولکول C1q در مسیر کمپلمان است که منجر به اپسونیزاسیون پاتوژن ها می شود. همچنین می تواند مسیرهای سلولی را با فعال کردن مکمل و همچنین اتصال به گیرنده های Fc IgG آغاز کند (۵۴). CRP به گیرنده های Fc متصل می شود و برهمکنش حاصل منجر به آزاد شدن سایتوکین های پیش التهابی می شود. مطالعات گذشته نشان داده است که CRP موش ها را در برابر عفونت توسط پاتوژن گرم مثبت استرپتوکوک پنومونیه با اتصال به PCh دیواره سلولی پاتوژن و فعال کردن مسیر کمپلمان محافظت می کند. این مطالعه نتیجه گرفت که توانایی CRP جهت محافظت در برابر عفونت در توانایی آن برای اتصال به پلی ساکارید C پنوموکوک در دیواره سلولی باکتری نهفته است.

هپتوگلوبین یکی از پروتئین های پلاسما است که در کبد تولید می شود و با اتصال بسیار محکم به هموگلوبین رها شده از گویچه های سرخ، موجب مهار خاصیت اکسیداتیو آن می شود و از نشت هموگلوبین به توبول های کلیوی جلوگیری می کند. در نهایت ترکیب هپتوگلوبولین-هموگلوبولین توسط سیستم رتیکولاندوتلیال (عمدتاً در طحال) از جریان خون حذف می شود. هپتوگلوبین یکی از پروتئین های فاز حاد است. این پروتئین آهنی که برای رشد باکتری ها لازم است را از محیط رشدشان یعنی خون حذف می کند. باکتری ها در کمبود آهن از بین می روند. از آنجایی که میزان این پروتئین در حالت نرمال بسیار اندک است، افزایش آن نشان دهنده التهاب می باشد. در بسیاری از مطالعات Hp سرم را به عنوان یک پارامتر بالینی

1. Fibrinogen

2. Prothrombin

3. Haptoglobin

4. Transferrin

5. Ceruloplasmin

6. Complement Components

7. Fibronectin

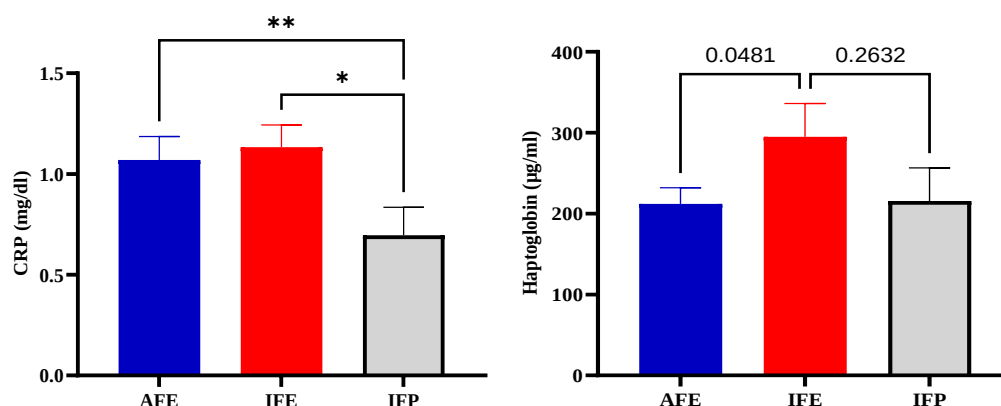
8 Serum amyloid A

9. Ferritin

10. Phosphocholine

11. Interleukin 6

مفید برای اندازه‌گیری وقوع و شدت بسیار التهابی در گاو مبتلا به آنتریت، پریتونیت، اندومتريت، ورم پستان، ذات‌الریه، اندوکاردیت، آبسه‌ها و سایر شرایط عفونی طبیعی یا تجربی گزارش کرده‌اند (۶۷).



شکل ۵۵: اندازه‌گیری هاپتوگلوبین (سمت راست) و CRP (سمت چپ) در سه گروه AFE موش‌های آلوده شده با *E. Coli* IFE موش‌های تغذیه شده با آنتی بادی دی‌اکتیو شده و IFP موش‌هایی که PBS دریافت نموده‌اند

در این آزمایش هدف از اندازه‌گیری هاپتوگلوبولین اندازه‌گیری میزان لیز گلبول‌های قرمز در مواجهه با عفونت می‌باشد. همانطور که در نمودار بالا قابل مشاهده است، میزان هاپتوگلوبولین در مواجهه با *E. coli* k99 افزایش داشته است که این اثر با مصرف خوراک حاوی آنتی بادی تا حد نرمال بهبود پیدا کرده است. در واقع آنتی بادی IgY به خوبی باعث مهار التهاب و لیز RBC ها شده است. در مورد تغییرات میزان CRP در دو گروه موش‌های آلوده شده و دریافت کننده آنتی بادی و موش‌های آلوده بدون دریافت آنتی بادی تفاوت معنی دار نمی‌باشد.

۵-۷- سایتوکین‌ها

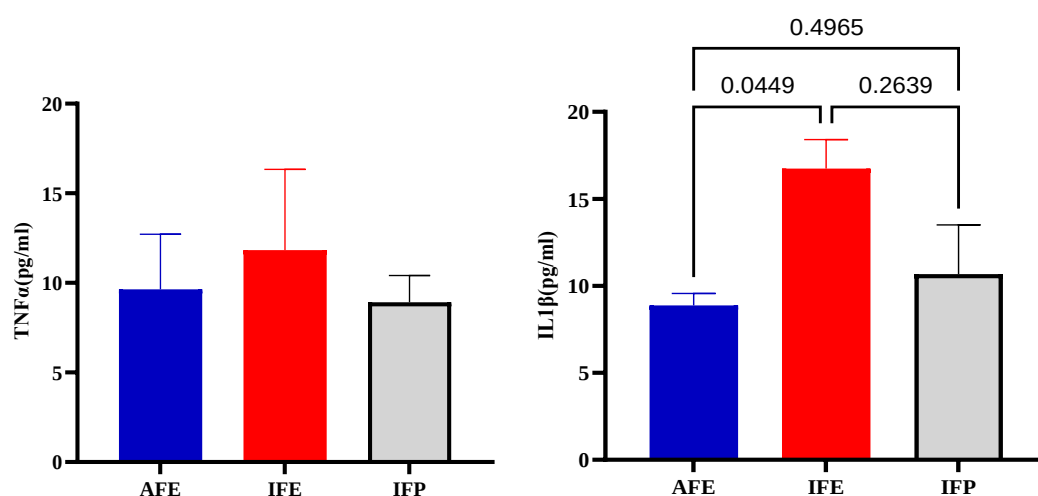
عفونت سیستم ایمنی بدن را فعال می‌کند. پاسخ ایمنی باعث افزایش $IL-1\beta$ ، $TNF-\alpha$ ، $IL-6$ و سایر سایتوکین‌های پیش التهابی برای مقاومت در برابر تهاجم پاتوژن‌های اگزوژن می‌شود که در پاسخ التهابی ایجاد می‌شود. ($TNF-\alpha$)، اینترلوکین ۶ ($IL-6$) و اینترلوکین ۱ بتا سه زیرخانواده از $MAPK^1$ ها شناسایی شده‌اند. این پروتئین‌ها به عنوان پاسخ‌دهنده به استرس در نظر گرفته می‌شوند. و در نتیجه در التهاب دخالت دارند. هر دو فاکتور نکروز تومور آلفا ($TNF\alpha$) و اینترلوکین-۱ ($IL-1$) سایتوکین‌های مورد نیاز برای فعال کردن پاسخ ایمنی ذاتی هستند. فاکتور نکروز دهنده‌ی تومور-آلفا ($TNF\alpha$) یک سایتوکین پیش التهابی^۲ است که در انواع مختلفی از سلول‌های خونساز و غیرخونساز و بدخیم تولید می‌شود به طور کلی، $TNF\alpha$ سیستم‌های کنترلی درگیر در تکثیر سلولی، تمایزایی، التهاب، مرگ و تنظیم ایمنی را فعال می‌کند. مهمترین عمل فیزیولوژیکی $TNF\alpha$ مربوط به سیستم ایمنی می‌شود به طوری که با حضور عوامل پاتوژن، تولید شده و سلول‌های اندوتلیال عروق در محل عفونت، مولکول‌های چسبان مانند سلکتین‌ها را بیان کنند، بنابراین لکوسیت‌هایی مانند نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها می‌توانند به سطح این عروق چسبیده و

¹. Mitogen-activated protein kinase

². Pro-Inflammatory Cytokines

به محل عفونت وارد شوند و همچنین این پروتئین سبب افزایش فعالیت فاگوسیتوزی نوتروفیل ها و ماکروفاژها می شود. $TNF-\alpha$ سلول های اندوتلیال و ماکروفاژها را تحریک می کند تا کموکاین ترشح نمایند. کموکاین ها سبب افزایش میل پیوندی اینترگرین های لکوسیتی برای لیگاند خود و کموتاکسی لکوسیت ها می شوند و همچنین بر روی فاگوسیت های تک هسته ای نیز اثر گذاشته و باعث تحریک ترشح اینترلوکین ($IL-1\beta$) می گردد. $IL-1\beta$ اعمالی مشابه $TNF-\alpha$ دارد، بنابراین نقش اصلی $TNF-\alpha$ ایجاد پاسخ های التهابی موضعی نسبت به پاتوژن ها می باشد.

$IL-1\beta$ به صورت پیش سایتوکاین تولید می شود که در این حالت غیرفعال هستند و قابلیت ترشح شدن را ندارند. این سایتوکاین ها باید به صورت آنزیمی شکسته شوند تا به صورت فعال و قابل ترشح تبدیل شوند. آنزیمی که به طور معمول در این فرآیند شرکت دارد از آنزیم کاسپاز ۱ می باشد.



شکل ۵: اندازه گیری اینترلوکین ۱ بتا (سمت راست) و $TNF-\alpha$ (سمت چپ) در سه گروه AFE موش های آلوده شده با *E. Coli*. IFE موش های تغذیه شده با آنتی بادی دی اکتیو شده و IFP موش هایی که PBS دریافت نموده اند

همانطور که قبلا ذکر شد سایتوکین ها در مواجهه با التهاب افزایش می یابند که نتایج آزمایش در شکل ۳۵ نیز نشان می دهد سطح اینترلوکین ۱ بتا در مواجهه با عامل پاتوژن *E. coli* k99 به طور معنی داری افزایش یافته است و پس از دریافت خوراک حاوی آنتی بادی این میزان تا حد نرمال کاهش می یابد. با توجه به نمودار بالا می توان دریافت که میزان $TNF-\alpha$ در سه تیمار تفاوت معنی داری نداشته اند. هرچند که میزان آن در دو تیمار شاهد و موش تیمار بسیار نزدیک می باشد

فصل ۶: مطالعات و ساخت خمیر حاوی آنتی بادی

۶-۱- توسعه و تولید محصولات پایه خمیر

در دسترس بودن مخاط گوارشی با ویژگی هایی چون خون رسانی عالی، دسترسی به سیستم باب کبدی، ترمیم سریع امکان و دسترسی موضعی و سیستماتیک دارویی را فراهم نموده است. پیشرفت های فناوری در اتصالات مخاطی، رهایش پایدار دارو، افزایش دهنده های نفوذپذیری و ناقل های دارورسان، باعث افزایش کارآمدی داروها برای درمان بیماری های گوارشی و سیستمیک می شود. هنگام درمان بیماری های گوارشی، این پیشرفت ها منجر به افزایش اثربخشی درمانی، کاهش هدر رفت دارو و چشم انداز استفاده از عوامل بیولوژیکی مانند ژن ها، پپتیدها و آنتی بادی ها می شود. این فناوری ها همچنین مجموعه داروهایی را افزایش می دهند که می توانند در سراسر مخاط دستگاه گوارش برای درمان بیماری های سیستمیک استفاده شوند. تحویل مخاطی دارو ها از طریق دهانی در حال حاضر یک راه مطلوب برای تجویز غیر تزریقی داروها و عوامل اورژانسی است که در آن نیاز به شروع سریع اثر است. دسترسی به مخاط از طریق دهان دارای خواص بسیاری است که آن را به مکانی جذاب برای دارورسانی تبدیل می کند، اما چالش های متعددی را برای محققانی که در حال بررسی تکنیک های تحویل جدید برای غلبه بر آن هستند، فراهم می کند.

بسیاری از فرمول های مختلف از جمله اسپری ها، قرص ها، دهان شویه ها، ژل ها، خمیرها و چسب ها در حال حاضر برای انتقال به داخل و یا در سراسر مخاط دستگاه گوارش استفاده می شوند. سیستم تحویل مورد استفاده بستگی به برنامه ای دارد که دارو برای آن ساخته شده است. سیستم هایی که برای تحویل موضعی به بیماری های مخاطی طراحی شده اند، در مقایسه با تحویل موضعی برای کاربردهای سیستمیک، به رفتارهای فارماکوکینتیک متفاوتی نیاز دارند. در حال حاضر تعداد کمی از داروها وجود دارد که به طور معمول از طریق از طریق مخاطی و به صورت دهانی مصرف می شوند. با توسعه فناوری های جدید از جمله آنزیم مهارکننده ها، افزایش دهنده های نفوذپذیری و ناقل های دارورسانی، امید می رود کاتالوگ داروهایی که می توانند به طور ایمن و کارآمد به مخاط دهان منتقل شوند، افزایش یابد. اگر این امر محقق شود، نه تنها درمان بسیاری از بیماری های مخاط دهان را بهبود می بخشد، بلکه تحویل سیستمیک داروهایی را که در حال حاضر نیاز به تجویز تزریقی دارند، به شیوه ای قابل قبول تر برای بیمار امکان پذیر می کند.

۶-۲- مطالعه محصولات خمیر

تولید محصول خمیر دارو جهت درمان بیماری های گوارشی در دام های تازه متولد شده در شرایط بروز اسیدوز و اسهال در دام نیازمند شناسایی مواد اولیه غذایی و دارویی تاثیر گذار بر فرمولاسیون محصولات مشابه خمیر در سراسر دنیا می باشد. لذا مطالعات مواد تشکیل دهنده (مواد موثره اصلی و مواد جانبی) و درصد مورد استفاده از آنها در محصول ضد اسهال مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند. به علاوه محدودیت های استفاده از هر یک از مواد موثره اصلی و مواد جانبی (دوز پیشنهادی مورد استفاده از ترکیبات توسط سازمان غذا و دارو) در محصول مورد توجه قرار گرفت.

به طور کلی کلیه محصولات ضد اسهال دام با فرمت خمیر از اجزاء اصلی مانند، جاذبین رطوبت، قند های محلول سریع جذب، الکترولیت های ضروری، اسید های آمینه موثر در فرآیند فیزیولوژیکی مانند جذب

الکترولیت های در روش جذب سیم پورت و یا موثر در رشد میکروویلی های روده ای، اسید های چرب کوتاه زنجیره و یا پیش سازهای آنها، ویتامین های محلول در چربی به منظور توسعه میزان ایمنی مخاطی و ویتامین های محلول در آب گروه B بمنظور بهبود فرآیند متابولیسم در دام های مبتلا به اسهال و نهایتا مواد موثره اصلی در این فرآیند بمنظور کنترل عوامل پاتوژنیک و یا افزایش سطح ایمنی مخاطی می باشد. در اغلب خمیر های ضد اسهال دام بمنظور پیشگیری و درمان بیماری اسهال دام استفاده از جمعیت های میکروبی (پروبیوتیک ها) در کنار مخمرها و سایر پریبیوتیکها بسیار متداول می باشد. در تعداد از محصول اختصاصی جهت درمان بیماری اسهال در دام استفاده از آنتی بادی های اختصاصی پلی کلونال جهت درمان بیماری اسهال در دام می باشد که شرکت های مختلف و محدودی در دنیا که توانایی خرید یا تولید این ماده موثره را داشته باشند در محصول خود از این ماده اولیه استفاده نموده اند.

به عنوان مثال مواد تشکیل دهنده خمیر اسهال Gastroquin acute که تعادل میان آب و الکترولیت را تثبیت می نماید و دارای اثرات مثبت بر قوام مدفوع است شامل روغن آفتابگردان، دکستروز، مخمر (خشک)، کلرید سدیم، کلرید پتاسیم ویتامین E و کمپلکسی از ویتامین های گروه B، ساکارومیس سرویسیه و عصاره شاه بلوط شیرین می باشد. همانطور که ملاحظه می شود در فرمولاسیون این خمیر از پروبیوتیک ساکارومیس سرویسیه جهت ایجاد تعادل میکروبی-فیزولوژیکی در روده بزرگ استفاده شده است. همچنین ویتامین ها و الکترولیت ها که در حالت اسهال از دست می روند، توسط منابع استفاده شده در این محصول دوباره تامین می شوند. در واقع استفاده از مکمل خوراکی جهت تثبیت تعادل آب و الکترولیت می تواند هم برای پیشگیری و هم درمان پس از ناراحتی های گوارشی به کار گرفته شود. درصد روغن گزارش شده در این خمیر ۵۸.۰۶٪ می باشد. نصف این خمیر خوراکی برای کره اسب ها و تمام آن برای اسب بالغ در صورت بروز مشکلات گوارشی (اسهال) تجویز می گردد. بنابراین، درصد روغن محصول خمیر یک دوز مصرف ما جهت استفاده در دام تازه متولد شده سبک و سنگین حدود ۳۰٪ تنظیم شد. نمونه دیگر در فرمولاسیون محصولات مشابه خمیر خوراکی شارکول-کوالین ساخته شده در کانادا می باشد. در این خمیر کوالین و شارکول به نسبت ۲:۱ (w/w) استفاده شده اند. در ازای هر ۴۵ کیلوگرم وزن مقدار ۳۰ mL از این محصول در راستای رفع مشکلات گوارشی در دام استفاده می شود. نمونه دیگر محصول خمیری ضد اسهال FullBucket Equine ADD Bioclay Plus می باشد. این خمیر در ایجاد تعادل میکروبی-فیزولوژیکی، خنثی سازی و حذف سموم، اتصال و حذف پاتوژن و جایگزینی الکترولیت ها پس از ایجاد مشکلات گوارشی در اسب مورد استفاده واقع شده است. در این محصول از خاک رس به عنوان جاذب زیستی، از منابع پروبیوتیکی و الکترولیت ها به عنوان عامل ایجاد کننده تعادل میکروبی-فیزولوژیکی در روده و همچنین از ایمونوگلوبولین های جهت بهبود سیستم ایمنی استفاده شده است. به طور مشابهی در فرمولاسیون نهایی خمیر از الکترولیت ها، منابع پروبیوتیکی و ایمونوگلوبولین ها اختصاصی جهت ایجاد تعادل میکروبی-فیزولوژیکی و بهبود سیستم ایمنی در راستای خنثی سازی و حذف پاتوژن ها استفاده شده است. خمیر آنتی بادی خوراکی Vetoquinol Newborn Calf یک خمیر خوراکی است که در اسرع وقت پس از تولد به گوساله های تازه متولد شده داده می شود تا به پیشگیری از اسهال ناشی از E. coli کمک کند. به علاوه این خمیر آنتی بادی خوراکی و لیستین جهت حمایت و تقویت سیستم ایمنی می باشد.

۶-۳- فرمول پایه خمیر

در راستای نتایج بدست آمده از فازهای مطالعات و آشنایی با محدودیت های مصرف محصولات پودری برای دام سبک و سنگین تازه متولد شده جهت مخلوط کردن با شیر و مصرف دارو، تکمیل فرمولاسیون در فرمت خمیر در دستور کار قرار گرفت. مطالعات اولیه با هدف تدوین فرمولاسیون خمیری در راستای تامین الکترولیت های مورد نیاز و درمان اسهال دام صورت پذیرفت. بر اساس مطالعات انجام شده منابع مورد نیاز جهت ایجاد فرم خمیری در محصول شامل گزانتان، پروپیلن گلیکول و کربوکسی متیل سدیم مورد استفاده قرار گرفت. متأسفانه پس از ساخت فرم خمیری مورد نظر ایجاد نشد. جهت رفع مشکل موجود، فرمول پایه خمیر از شرکت گلتاش (تولید کننده محصولات صنعتی و بهداشتی واقع در اصفهان) دریافت و جهت ایجاد فرمت خمیر اختصاصی برای پیشگیری و درمان در دام در راستای اطلاعات بدست آمده در فاز قبلی فرمولاسیون تکمیل گردید.

۶-۴- نهایی سازی نمونه با ماده موثر و تولید نمونه

پس از تدوین فرمول پایه خمیر در مراحل بعدی فرمولاسیون، خمیر دارویی گاما در چند فرمول متوالی در بازه های زمانی مختلف ساخته و مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت. در هر یک از مراحل ساخت خمیر، جهت دستیابی به ویژگی های عملکردی و فیزیکوشیمیایی مطلوب، فرمولاسیون پایه بهینه سازی و ارتقا یافت. در فرمولاسیون جدید مواد بر اساس ترکیبات بررسی شده اصلی و جانبی با پایه آب تکمیل و در چند مرحله بر اساس میزان حلالیت، روانی، امکان اختلال، کلوخه شده و واکنش میکس شدند و در هر مرحله از میکس مواد جهت تست شرایط عمومی و پایداری، فیزیکی و شیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفت. چهار فرمول اولیه ساخته شده نهایتاً پس از حصول بهترین ترکیب در مطالعه پایدار حالت عمومی مصرف به مدت ۱۲ ساعت در شرایط دمایی اتاق و دمای یخچال (۴ درجه سانتیگراد) قرار گرفت. نمونه قرار گرفته در یخچال حالت خمیری خود را حفظ کرد اما نمونه قرار گرفته در دمای اتاق خشک شد همچنین نمونه خمیر قرار گرفته در یخچال نیز پس از گذشت یک سال به شدت سفت و غیر قابل استفاده شده بود. جهت جلوگیری از مشکل ایجاد شده در پایداری خمیر و همچنین بر اساس مطالعات انجام شده روی محصولات تجاری مشابه، فرمول جدید خمیر در دو پایه آب و روغن تدوین شد.

با توجه به غلظت مواد اولیه مورد استفاده در فرمولاسیون خمیر احتیاج به یک حلال برای ایجاد یک ترکیب همگن، فرمولاسیون پایه آب برای اجرای پروژه توصیه شده بود ولی با توجه به عدم ماندگاری محصول و ترکیب فرمولاسیون محصول مشابه بر پایه روغن مورد ارزیابی قرار گرفت. در فرمولاسیون روغن در ابتدا جهت حصول استفاده از مناسب ترین غلظت روغن بمنظور حداکثر رساندن حمل مواد و همگن شدن آنها در فرمولاسیون خمیر، از روغن سویا در فرمولاسیون پایه روغن استفاده شد. پس از انجام تست پایداری به روی هر دو محصول خمیر در پایه آب و روغن (به مدت ۶ ماه درون یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد)، فرمول پایه آب با مرور زمان سفت و غیر قابل استفاده گزارش شد. اما فرمول خمیر در پایه روغن ویژگی های پایداری مطلوب را از خود نشان داد. جهت جلوگیری از مشکل ایجاد شده در پایداری خمیر و همچنین بر اساس مطالعات انجام شده روی محصولات تجاری مشابه، فرمول جدید خمیر در دو پایه آب و روغن تدوین

شد. بر اساس مطالعات نهایی انجام شده روی محصولات تجاری مشابه، استفاده از لیستین بواسطه اثر حداکثری بر جذب ترکیبات به فرمولاسیون خمیر اضافه و فرمول پایه خمیر نهایی شکل گرفت.

۶-۵- ارزیابی ویژگی های ظاهری خمیر

۶-۵-۱- تست تعیین تغییرات PH خمیر

این شاخص میزان اسیدی و بازی بودن محصول را نشان می‌دهد. تعیین PH خمیر در بازه های زمانی مختلف بیانگر فعالیت میکروارگانیسم ها در خمیر می‌باشد (پاتوژن ها یا پروبیوتیک‌ها). از طرف دیگر pH خمیر جهت محصول خمیر خوراکی به نحوی باید تنظیم شود که کمترین فعالیت باکتری های پاتوژن را در آن pH داشته باشیم. pH مناسب بر اساس استاندارد ملی ایران در محدوده ۴ تا ۹ با توجه به نوع محصول متغیر است. جهت اندازه گیری pH خمیر از روش استاندارد اندازه گیری محصولات نیمه جامد مانند خاک استفاده می کنیم. ابتدا نمونه خمیر را به نسبت ۱:۲ با آب مقطر مخلوط می نماییم. سپس pH اندازه گیری و ثبت می گردد. جهت بررسی تاثیر فرایند رقیق سازی در مقدار pH، سری رقت سازی انجام می گردد و تاثیر ضریب رقت در مقدار pH بررسی می شود. رقیق سازی خمیر به نسبت ۱:۲ تاثیر معناداری در میزان pH ایجاد نکرد و pH خمیر ۷.۲ تا ۷.۴ گزارش گردید که مطابق با مقدار pH فیزیولوژیک بدن و مناسب بر اساس محدوده گزارش شده در استاندارد ملی ایران می باشد.

۶-۵-۲- تعیین درصد آب خمیر

تیتراسیون کارل فیشر برای اندازه گیری محتوای آب در طیف بسیار وسیعی از نمونه های غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می گیرد. تیتراسیون کارل فیشر روشی برای اندازه گیری مقدار آب در نمونه های جامد، مایع و گاز است. در تعداد کثیری از نمونه ها همچون مواد شیمیایی، داروها، روغن ها، پلاستیک ها و مواد غذایی را می توان با استفاده از تیتراسیون کارل فیشر اندازه گیری کرد. این روشی ارجح برای استفاده در کنترل کیفیت صنایع می باشد که اصول آن اکسیداسیون گوگردی اکسید توسط ید در حضور آب و در یک محلول بافر می باشد. آب به صورت استوکیومتری تبدیل شده و بنابراین مقدار آن به صورت غیرمستقیم تعیین می گردد. با حضور مقدار اضافی ید در محیط، نقطه پایانی تیتراسیون فرا می رسد که با استفاده از روش های چشمی، پتانسیومتری یا الکتروشیمیایی قابل تشخیص است. تیتراسیون کارل فیشر روش انتخابی برای تعیین محتوای آب مواد اولیه و نیز محصولات دارویی مانند مواد پایه، نمک های معدنی، حلال ها، اکسی پیان ها است. تعیین آب در مواد واسطه نیز بسیار مهم است چون محتوای آب موجود در آنها خصوصیات کیفی فرآورده ها نظیر خصوصیات چسبندگی یا میزان روان بودن آنها را تحت تاثیر قرار می دهد. این موضوع در هنگام فرمولاسیون دارو بصورت پودر، قرص یا خمیر بسیار اهمیت دارد. در محصولات دارویی نهایی، تعیین میزان آب برای بررسی خصوصیات فیزیکی مطلوب و نیمه عمر دارو بسیار مهم است. محتوای آب مواد داروهای خوراکی بر پایداری، زمان نگهداری، ظاهر، بافت و مزه و نیز دیگر خصوصیات فیزیکی شیمیایی این مواد تاثیر دارد.

رطوبت موجود در مواد شامل دوبخش مجزا از هم می‌باشد. بخشی که به مواد مختلف چسبیده که همان رطوبت درگیر و جذب شده است (Bound water) و بخش دیگر بصورت آزاد وجود دارد (Unbound water) که به فعالیت آبی مربوط می‌شود. البته اندازه‌گیری این دونوع رطوبت به تفکیک مشکل است. با توجه به اینکه آب آزاد موجود در محصول روی واتراکتیویته موثر است، این نوع رطوبت محصول در درجات مختلف حرارت دارای فشار بخار مشخص است لذا می‌توان از روی میزان فشار بخار اب محصولات مختلف در هر درجه حرارت شاخص برای کمیت آب آزاد محصول در نظر گرفت. البته میزان فشار بخار آب محصول درصد رطوبت آزاد محصول را مشخص نمی‌کند. لکن معرف کم و زیاد بودن آن می‌باشد، یعنی در هر درجه حرارت هر چه میزان فشار بخار آب محصول بیشتر باشد، میزان آب آزاد نیز بیشتر است با توجه به این توضیحات واتراکتیویته (aw) چنین تعریف می‌شود: نسبت فشار بخار آب در ماده غذایی به فشار بخار اشباع شده در همان درجه حرارت. میزان آب موجود، درجه حرارت و غلظت مواد محلول بر روی واتر اکتیویته موثر است. واتر اکتیویته مهمترین شاخص دوام و استقامت مواد غذایی، دارویی درمقابل فساد و کپک زدگی می باشد و با کنترل آن علاوه بر افزایش زمان ماندگاری تا چند ماه کیفیت محصول از نقطه نظر رنگ و طعم، بافت و غیره به میزان زیادی بالا خواهد رفت. با کاهش واتراکتیویته تا حد استاندارد و مطلوب و کنترل آن می‌توان زمان ماندگاری محصول را حتی با رطوبت بالا تا چند ماه افزایش داد. امروزه بیشترین عامل فساد میکروبی، کپک‌زدگی و کهنگی در مواد غذایی به خصوص فرآوردهای آردی بالا بودن واتر اکتیویته است. تقریباً تمام فعالیت میکروبی در aw کمتر از ۰.۶ متوقف می‌شود. این رقم برای اکثر کپک‌ها از ۰.۷، مخمرها از ۰.۸ و باکتری‌ها کمتر از ۰.۹ می‌باشد. همچنین فعالیت آب به محدود کردن و یا آهسته کردن واکنش‌های نامطلوب در محصول کمک می‌کند. از اینگونه واکنش‌ها می‌توان به واکنش قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی (واکنش میلارد)، اکسیداسیون چربی‌ها و دنا توره شدن پرتئین‌ها اشاره کرد. مقدار aw که سبب حداکثر میزان قهوه‌ای شدن در مواد غذایی می‌شود به نوع ماده غذایی بستگی دارد. اما به طور کلی در aw پایین تحریک موادی که وارد واکنش می‌شود کمتر است که کاهش قهوه‌ای شدن را به همراه دارد. معمولاً حداکثر قهوه‌ای شدن در فعالیت آبی ۰/۶ تا ۰/۷ صورت می‌گیرد. در مواد غذایی با رطوبت متوسط (رطوبت ۴۰-۲۰) نظیر کیک‌ها، خرما و بعضی پنیرها حداکثر این واکنش را در خود نشان می‌دهند. شکستن اتوکاتالیتیک (خود به خودی) تری گلیسریدهای چربی‌ها و روغن‌ها و تبدیل آنها به اسیدهای چرب قوی تحت تاثیر aw می‌باشد. در aw بالا اسید چرب ناشی از واکنش‌های فوق الذکر افزایش پیدا کرده و موجب ایجاد بو و طعم نامطلوب می‌شود. اکثر آنزیم‌ها در فعالیت آب کمتر از ۰.۸۵ بی اثر هستند. به کار گرفتن مواد جذب کننده رطوبت در مواد غذایی سبب می‌شود تا بدون کاهش آب میزان فعالیت آب در آنها کم شود. موادی مثل نمک، قند، گلیسرول و پروپین گلیگون می‌توانند این کار را انجام دهند. این مواد معمولاً در مورد آن دسته از مواد ۱۵-۳۵ درصد و فعالیت آنها ۰/۶-۰/۸ است و همچنین موادی که باید برای مدتی طولانی نگهداری شوند (مثل بیسکوئیت‌ها) مورد استفاده قرار می‌گیرد. بسته‌بندی مواد غذایی و دارویی از نقطه نظر aw بسیار مهم است. موادی دارای aw پایین هستند به سهولت جذب رطوبت می‌کنند و باید در ظروف شیشه‌ای که در مقابل نفوذ رطوبت مقاوم باشند یا در بسته بندی PVC نگهداری شوند. یک مثال در این مورد قهوه فوری است که تحت رطوبت نسبی ۵۰ درصد میزان رطوبت آن به یک حد بحرانی می‌رسد و

در این شرایط محصول حالت کلوخه‌ای به خود می‌گیرد. فراورده‌هایی که به راحتی جذب رطوبت نمی‌کنند می‌توانند در ظروف و مواد پلی‌اتیلنی بسته‌بندی شوند. در مورد بعضی مواد که رطوبت نسبی متعادل برای آنها بیش از رطوبت محیط اطرافشان است، بسته‌بندی باید نقش جلوگیری کننده در از دست رفتن رطوبت را ایفا کند. در محصولاتی که دارای اجزا مختلف هستند دقت در ΔW هر یک از اجزا می‌تواند به محدود کردن مهاجرت رطوبت کمک کند. تعیین محتوای آب محصول نهایی خمیر از متد تیتراسیون کارل فیشر استفاده شد و این تست به صورت برون‌سپاری به انجام رسید. درصد آب محصول خمیر $1/3\%$ گزارش شده است.



شکل ۵۷: محاسبه میزان آب خمیر نهایی فرموله شده با استفاده از دستگاه کارل فیشر

۶-۵-۳- تعیین درصد رطوبت خمیر

رطوبت کنترل نشده، به راحتی باعث واکنش شیمیایی داروها شده و حتی منجر به تولید سم می‌شود و این مسئله به راحتی قابل تشخیص نیست. سرعت بسیاری از واکنش‌های شیمیایی به سطح رطوبت هوا بستگی دارد، بنابراین کنترل دقیق این پارامتر، منجر به کنترل بهتر فرآیند و در نتیجه راندمان بالاتر می‌شود. میزان رطوبت در تمامی مراحل تولید دارو، از مرحله ساخت تا بسته‌بندی و انبارداری، حتی مراحل توزیع و رساندن به دست مصرف کننده، باید تحت هر شرایطی حفظ شود، از آنجایی که سلامت دارو گزینه مهم و حیاتی می‌باشد و فساد در آن تلفات زیان باری بر جای خواهد داشت، بنابراین کنترل دائمی و مستمر رطوبت و درصد آب محصول بسیار حائز اهمیت است. افزایش رطوبت در مرحله ساخت دارو، موجب تغییر شکل داروها، نرم شدن، حالت خمیری و یا چسبندگی پودر داروها به اطراف می‌شود. رطوبت بالای ۶۰ درصد با افزایش رشد میکروارگانیسم‌ها و باکتری‌ها همراه خواهد بود، این اتفاق بر اثر بخشی دارو اثر سوء دارد و به راحتی باعث ایجاد مسمومیت در مصرف کننده می‌شود. البته در رطوبت‌های پایین‌تر هم برخی از قارچ‌ها و باکتری‌ها فرصت رشد پیدا می‌کنند که آن هم به نوبه خود می‌تواند برای سلامتی زیان بار باشد. به عنوان مثال آنتی بیوتیک‌ها و آسپرین‌ها به هیچ عنوان نباید در معرض رطوبت بالا قرار بگیرند، رطوبت نه تنها باعث کاهش شدید اثربخشی آنها می‌شود بلکه امکان تولید مواد مضر در این داروها نیز افزایش می‌یابد. همچنین قرار گرفتن دارو در معرض رطوبت بالا، منجر به تغییر رنگ، شکل ظاهری، بو و بافت دارو می‌شود.

تعیین درصد رطوبت (خوراک دام - اندازه‌گیری رطوبت و سایر مواد فرار) به صورت برون‌سپاری در دانشکده علوم و صنایع غذایی دانشگاه اصفهان به انجام رسید. منظور از انجام این تست، میزان کاهش وزن نمونه پس از خشک کردن به روش ارائه شده در این استاندارد می‌باشد. در این تست مقدار رطوبت و مواد فرار بصورت درصد وزنی بیان می‌شود. شن مورد استفاده در این آزمایش قبلاً با اسید شسته شده است. به طور خلاصه ابتدا یک لایه نازک شن و یک میله شیشه‌ای را داخل یک ظرف قرار می‌دهیم. ظرف و محتویات آن را به همراه درپوش ظرف به مدت 1 ± 30 دقیقه در دستگاه خشک‌کن برقی که در 103°C درجه سلسیوس تنظیم شده قرار گرفت تا خشک شود. سپس درپوش روی ظرف قرار گرفته و از خشک‌کن خارج شد و به دسیکاتور منتقل شد. و پس از رسیدن ظرف به دمای آزمایشگاه، ظرف و محتویات آن و درپوش، با دقت یک میلی‌گرم توزین می‌شود. در مرحله دوم درون این ظرف حدود 10 گرم نمونه خمیر آماده شده را با دقت یک میلی‌گرم توزین می‌کنیم. با استفاده از میله شیشه‌ای، نمونه را با شن کاملاً مخلوط می‌نمائیم. میله شیشه‌ای را داخل ظرف گذاشته و ظرف را در حالیکه درپوش در کنار و یا زیر آن است، به مدت 1 ± 4 ساعت در دستگاه خشک‌کن الکتریکی که دمای آن در 103°C درجه سلسیوس تنظیم شده، قرار می‌دهیم. درپوش را روی ظرف قرار داده و از دستگاه خشک‌کن به دسیکاتور منتقل می‌کنیم و تا زمان رسیدن دمای ظرف به درجه حرارت آزمایشگاه صبر می‌نمائیم و سپس با دقت یک میلی‌گرم آن را توزین می‌کنیم. مقدار رطوبت و مواد فرار نمونه را با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود.

$$W = \frac{m3 - (m5 - m5)}{m3} \times 100$$

که در آن :

W برابر با مقدار رطوبت و مواد فرار نمونه بر حسب درصد وزنی.

m3 برابر با جرم آزمونه به گرم.

m4 برابر با جرم ظرف همراه با درپوش، شن و میله شیشه‌ای به گرم.

m5 برابر با جرم ظرف همراه با درپوش و نمونه آزمونه خشک شده، شن و میله شیشه‌ای به گرم.

نتیجه تعیین درصد رطوبت خمیر اجرا شده مطابق با تست استاندارد ۸۴۳۸ ملی ایران، ۵/۸۹۸۶ درصد وزنی گزارش شده است که در محدوده مورد قبول استاندارد ملی ایران گزارش شده است (>10).

۴-۵-۶- تعیین ویسکوزیته خمیر

افزایش ویسکوزیته می‌تواند مزایا و معایبی را به همراه داشته باشد. درک معنای دقیق ویسکوزیته و انواع مختلف رفتار جریان برای داروساز در انتخاب ترکیبات فرمولاسیون مناسب بسیار مفید است. برای آماده‌سازی ترکیبات با فرمولاسیون موضعی، ویسکوزیته مناسب برای دستیابی به صافی و قوام مطلوب ضروری است. به عنوان مثال برای آماده‌سازی خمیر یا پماد با مصرف موضعی، ویسکوزیته مناسب برای دستیابی خواص مطلوب ضروری است. قوام آن باید به حدی باشد که در تماس با ناحیه آسیب دیده باقی بماند و

احساس خوبی را نیز برای بیمار ایجاد کند. از طرف دیگر خوش طعم بودن و ایجاد احساس مطلوب در دهان مصرف کننده هنگام استفاده از فرآورده‌های مایع یا خمیری خوراکی اغلب با فرموله کردن این فرآورده در ویسکوزیته مناسب افزایش می‌یابد. درواقع ویسکوزیته بالا در هنگام حل کردن داروها برای ساخت محلول‌ها یک نقطه ضعف است. زیرا انتشار و در نتیجه سرعت انحلال با افزایش ویسکوزیته کاهش می‌یابد. به همین دلیل است که در زمان ساخت داروها آنها را مستقیماً در حلال با ویسکوز بالا حل نمی‌کنند، بلکه ابتدا آن را در حداقل مقدار آب یا سایر حلال‌های دیگر با ویسکوزیته پایین حل می‌کنند و سپس در حلال با ویسکوز بالا حل می‌کنند. اگر هدف فرمولاسیون افزایش ویسکوزیته باشد، ممکن است از یک مایع با ویسکوزیته بالا، مانند گلیسرین، یا محلول آبی غلیظ یک میکرومولکول محلول، مانند ساکارز یا سوربیتول استفاده شود. اگر به یک سیستم ساختاریافته برای به تأخیر انداختن سرعت ته‌نشینی یا خامه شدن ذرات یا قطرات روغن در سیستم‌های پراکنده نیاز باشد، انتخاب و افزودن یک عامل القا کننده ویسکوزیته که جریان شبه پلاستیک یا تیکسوتروپیک می‌دهد، مورد نیاز است. ویسکوزیته اندازه‌گیری مقاومت در برابر جریان یک سیستم تحت تنش اعمال شده است. هر چه یک مایع چسبناک تر باشد، نیروی اعمالی مورد نیاز برای ایجاد جریان با سرعت خاصی بیشتر است. ویسکوزیته یک مفهوم واقعاً ساده است. در واقع مایع‌های نازک یا با ویسکوزیته‌ی پایین، به سهولت جریان می‌یابند، در حالی که مایع‌های با ویسکوزیته‌ی بالا، در برابر جریان یافتن، مقاوم هستند. در مایعات، ویسکوزیته به معنای غیر رسمی غلظت شناخته می‌شود. برای مثال، ماده‌ای مانند عسل، ویسکوزیته بالاتری نسبت به آب دارد ویسکومتر یا ویسکوزیتمتر وسیله‌ای برای سنجیدن میزان ویسکوزیته مایعات است. آب بسیار رقیق‌تر از عسل بوده و عسل بسیار غلیظ‌تر از آب می‌باشد در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد ویسکوزیته آب : ۸۹۴ cP و ویسکوزیته عسل : تقریباً ۷۰۰۰ cP. هرچه ویسکوزیته مایعی کمتر باشد، آن مایع رقیق‌تر و روان‌تر است. به مایعی که غلیظ باشد در اصطلاح گرانرو یا ویسکوز گفته می‌شود. ویسکوزیته دینامیک اندازه‌گیری مقاومت سیال در برابر جریان در حالی است که یک نیروی بیرونی اعمال می‌شود. واحد اندازه‌گیری ویسکوزیته معادل یک صدم پویز و با cP نماد شده است. واحد SI آن پاسکال ثانیه (Pa.s) یا میلی‌پاسکال ثانیه (mPa.s) است.

$$\text{Pa.s} = 1000 \text{ mPa.s}$$

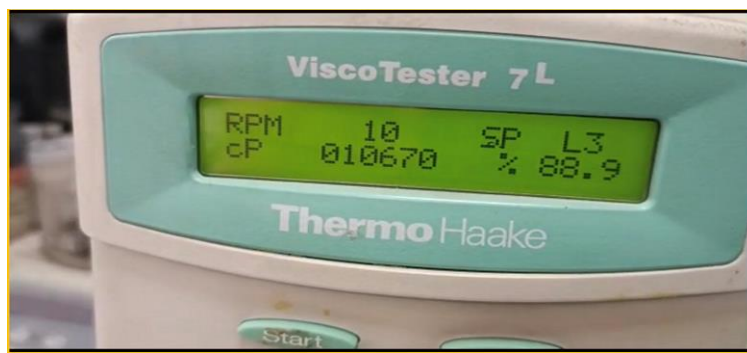
واحد دیگری که به طور معمول مورد استفاده قرار می‌گیرد پواز (P) یا سانتی پواز (cP) است:

$$P = 100 \text{ cP}$$

رابطه بین دو واحد :

$$1\text{cP} = 1\text{mPa.s}$$

تعیین ویسکوزیته محصول خمیر توسط دستگاه ویسکوزیتمتر به صورت برون‌سپاری در شهرک علمی و



تحقیقاتی به انجام رسید. ویسکوز نمونه خمیر نهایی ما پس از ساخت CP ۱۰۶۷۰ گزارش شده است.

شکل ۵۸: محاسبه ویسکوز خمیر نهایی فرموله شده با استفاده از دستگاه ویسکوزمتر

فصل ۷: تاثیر خمیر حاوی آنتی بادی بر سلامت گوساله های تازه متولد شده

۷- تست فارمی

بمنظور انتخاب محل فارم تست در سطح استان اصفهان با بررسی ویژگی هایی مانند تعداد راس گوساله موجود، تعداد تولد در دوره، میزان درگیری با پاتوژن های بیماری زا، میزان تلفات، تیم مدیریتی و اجرایی و سطح دسترسی به امکانات دامداری مورد ارزیابی قرار گرفت. مذاکرات در ارتباط با کلیات طرح با دامداری های منتخب صورت گرفت و نهایتا گاوداری نصر واقع در شهرستان نجف آباد اصفهان جهت همکاری موافقت لازم را اعلام نمود. دوره اجرای طرح بمنظور بررسی سلامت عمومی، وزن کشی ها، برنامه خمیر دهی، خون گیری، جمع آوری نمونه های مدفوع، بررسی وضعیت اسکلت و اسکور مدفوع پیش بینی شد و فرم های مرتبط طراحی و مورد استفاده قرار گرفت (پیوست شماره ۱۰).

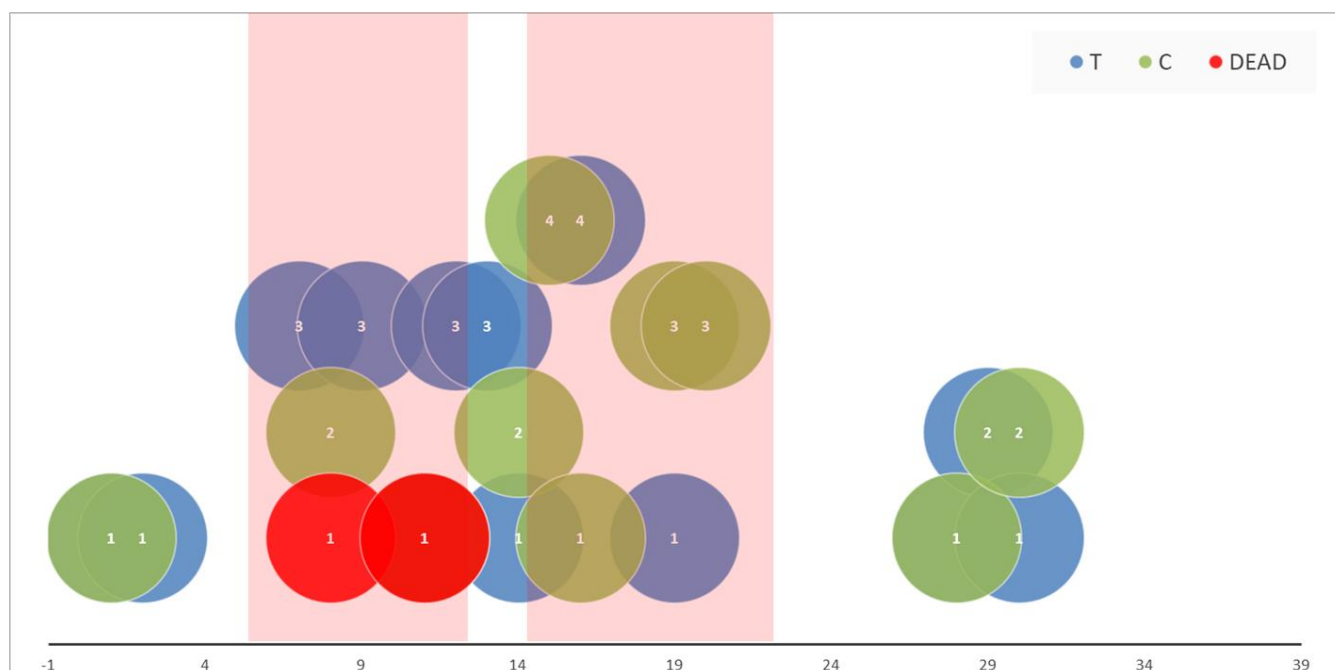
۷-۱- شرایط نگهداری و برنامه خمیر شیر دهی

گوساله های هلشتاین (با میانگین وزنی 1.8 ± 41) پس از تولد از مادر جدا و وزن کشی می شوند. این گوساله های به مدت ۳ روز در آغوز خانه بصورت انفرادی نگهداری می گردند. گوساله پس از ۳ روزگی و از ابتدای روز چهارم به محل نگهداری گوساله های شیر خوار منتقل می گردند. تغذیه گوساله های شیرخوار با شیر پاستوریزه (۱۱.۵٪ ماده خشک، ۲.۸٪ پروتئین خام، ۳.۱ درصد چربی) انجام می شود.



۷-۲- نحوه ورود گوساله ها و تعیین صفات مورد اندازه گیری

گوساله ها پس از تولد به دو گروه تیمار و کنترل تقسیم بندی شدند. در گروه تیمار، گوساله ها در روز تولد و پس از خوردن ۲ نوبت آغوز، خمیر حاوی آنتی بادی تولید شده را دریافت کردند. مصرف خمیر در روزهای ۳، ۵ و ۷ نیز به میزان یک عدد در روز تکرار شد. در مقابل گروه کنترل هیچ گونه خمیری دریافت نکرد. جمعا تعداد ۲۵ عدد گوساله در گروه تیمار و ۲۰ عدد گوساله در گروه کنترل وارد شدند. برنامه ورود و روزهای درگیری با بیماری به صورت شماتیک در زیر آورده شده است.



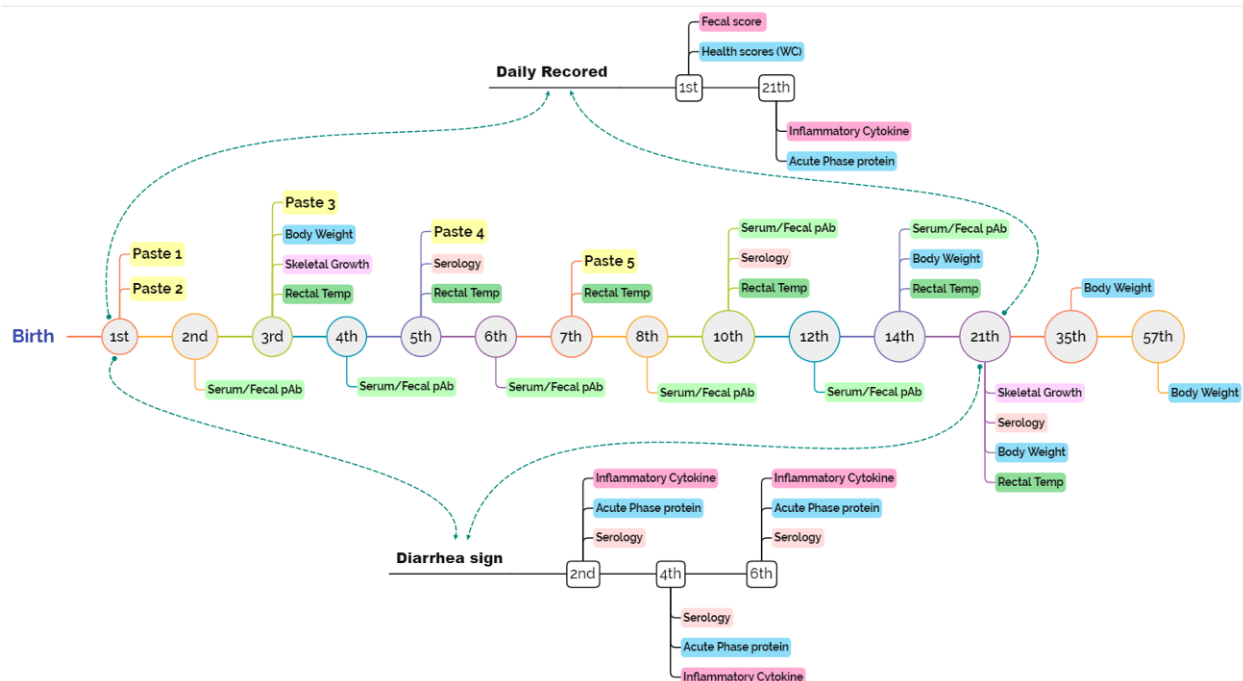
شکل ۶۰: نحوه ورود گوساله ها به طرح. گوساله ها در گروه تیمار (مصرف کننده خمیر-T) با رنگ آبی و گوساله های گروه کنترل با رنگ سبز (C) و گوساله های تلف شده از گروه کنترل با رنگ قرمز (هیچ تلفات گوساله ای در گروه تیمار مشاهده نشد) طی ۳۲ روز و با دو پیک بروز بیماری (پس زمینه صورتی رنگ) اجراء گردید.

همانطور که در شکل بالا مشخص است در طول دوره تست، دو دوره پاندمی اسهال را شاهد بودیم. پاندمی اول در روزهای ۵ تا ۱۲ پس از شروع و دوره بعدی در روزهای ۱۵ تا ۲۲ ادامه پیدا کرد که در ادامه شرح مفصل تست ها در این دوره ها ارائه خواهد شد. در طول دوره آزمایش هر روز قبل از وعده شیردهی صبحگاهی، سلامت گوساله ها بر اساس سلامت چشم، گوش ترشحات بینی، اسکور مدفوع و دمای رکتال مطابق با جدول نمره دهی سلامت گوساله دانشگاه ویسکانسین بررسی و ثبت گردید همچنین شاخص های مرتبط با رشد اسکلت مانند طول بدن، ارتفاع جدوگاه، ارتفاع و عرض هیپ و دور سینه نیز در روز سوم پس از تولد و روز ۲۱ بررسی شد. شاخص هایی مانند افزایش وزن نیز در دستور کار قرار گرفت که در زیر طرح کلی به صورت شماتیک به تصویر کشیده شده است:

Calf Health Scoring Criteria			
0	1	2	3
Rectal temperature			
100-100.9	101-101.9	102-102.9	≥103
Cough			
None	Induce single cough	Induced repeated coughs or occasional spontaneous cough	Repeated spontaneous coughs
Nasal discharge			
Normal serous discharge	Small amount of unilateral cloudy discharge	Bilateral, cloudy or excessive mucus discharge	Copious bilateral mucopurulent discharge
			
Eye scores			
Normal	Small amount of ocular discharge	Moderate amount of bilateral discharge	Heavy ocular discharge
			
Ear scores			
Normal	Ear flick or head shake	Slight unilateral droop	Head tilt or bilateral droop
			
Fecal scores			
Normal	Semi-formed, pasty	Loose, but stays on top of bedding	Watery, sifts through bedding
			

http://www.vetmed.wisc.edu/dms/fapm/fapmtools/Scalf/calf_health_scoring_chart.pdf

شکل ۶۱: جدول نمره دهی سلامت گوساله دانشگاه ویسکانسین



شکل ۶۲: خلاصه ی شماتیک برنامه طرح

نمونه های خون با استفاده از لوله خلا از سیاهرگ و داج گوساله ها جمع آوری شد. نمونه ها با دور ۱۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و تا زمان انجام آنالیزها، در فریز ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. آنالیز ها شامل: اندازه گیری پروتئین کل با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر، و همچنین میزان آلبومین، گلوبولین و IgG در روزهای ۳، ۵، ۱۰ و ۲۱ پس از تولد بود که شرح مفصل روش اندازه گیری و روش های آزمایشگاهی در هر قسمت بیان شده است می باشد. در گوساله هایی که به اسهال مبتلا شده بودند نیز آنالیز های قبل به همراه اندازه گیری های اینترلوکین ۱، بتا، اینترلوکین ۶، اینترفرون گاما، TNFα، CRP و هاپتوگلوبولین در روزهای ۲، ۴ و ۶ بیماری اندازه گیری شد.

۷-۳- آنالیز آغوز

با توجه به اینکه IgG در بعضی از پستان داران از جمله گاو، نمی تواند از جفت عبور کند، نیازمندی گوساله از طریق IgG موجود در آغوز تامین می گردد. بر اساس پژوهش های انجام شده آغوز خوب باید حامل ۵۰ گرم IgG در هر لیتر باشد. جهت سنجش کیفیت آغوز، بلافاصله پس از دوشش آغوز ۴ نمونه به صورت تصادفی انتخاب و جهت آنالیز به آزمایشگاه ارسال شد.

جهت اندازه گیری میزان IgG ابتدا کیت را از یخچال خارج نموده تا به دمای محیط برسد سپس به تعداد نمونه ها چاهک های از پیش کوت شده برداشته و به چاهک اول ۵۰ میکرولیتر Blank و به چاهک های بعد ۵۰ میکرولیتر از نمونه و در آخر نمونه های استاندارد را با تکرار به همین میزان درون چاهک ها اضافه می نماییم. سپس به چاهک ها HRP-conjugate اضافه نموده و به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ °C انکوبه می شود. سپس مراحل شستشو انجام شده و در مرحله بعد ۹۰ میکرولیتر از سوبسترای TMB اضافه می شود و بعد از ۲۰ دقیقه محلول Stop اضافه خواهد شد و در طی زمان ۵ دقیقه پلیت در ۴۵۰ نانومتر خوانش می شود.

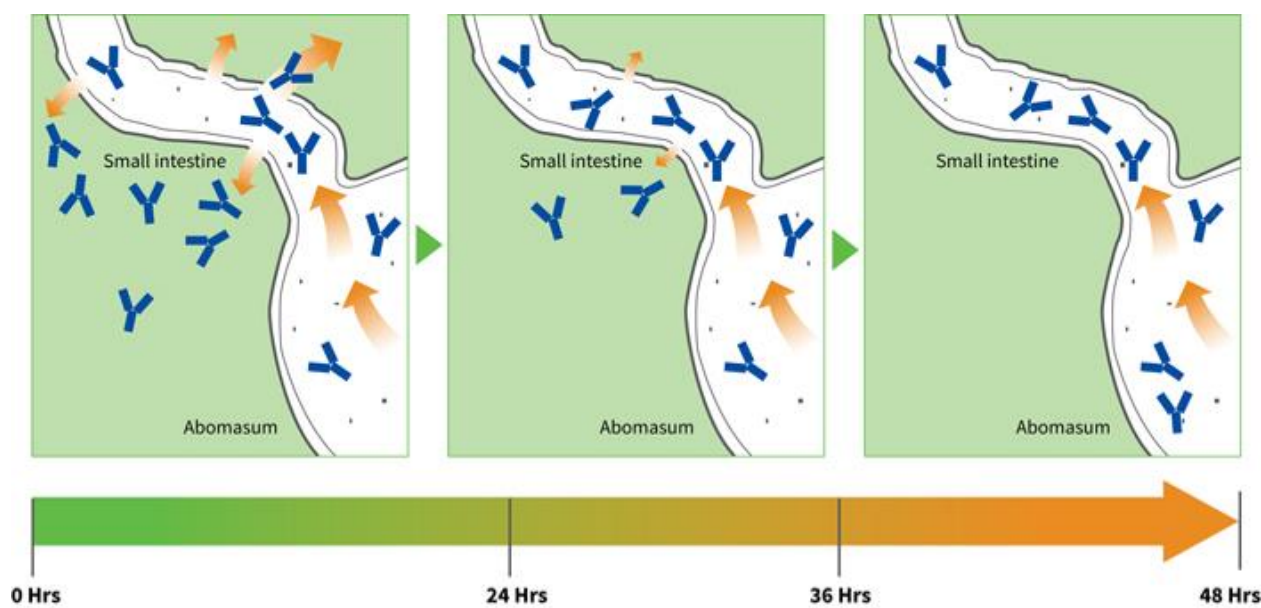
پس از بررسی نمونه ها مشخص گردید از بین ۴ نمونه ارسال شده، یک نمونه از آغوز کاملاً بی کیفیت، دو نمونه از آغوز ها با کیفیت نه چندان مطلوب و فقط یک نمونه آغوز کیفیت مطلوب دارد.

جدول ۷: آنالیز آغوز و بررسی میزان آنتی بادی و پروتئین کل

نمونه ها	IgG (mg/ml)	T.pro (g/dl)
۱	۴۴.۲	۶.۱
۲	۴۳.۷	۶
۳	۳۴.۰۸	۴.۱۳
۴	۵۲.۸۹	۷.۲۰

۷-۴- بررسی حضور IgY در نمونه های سرم و مدفوع

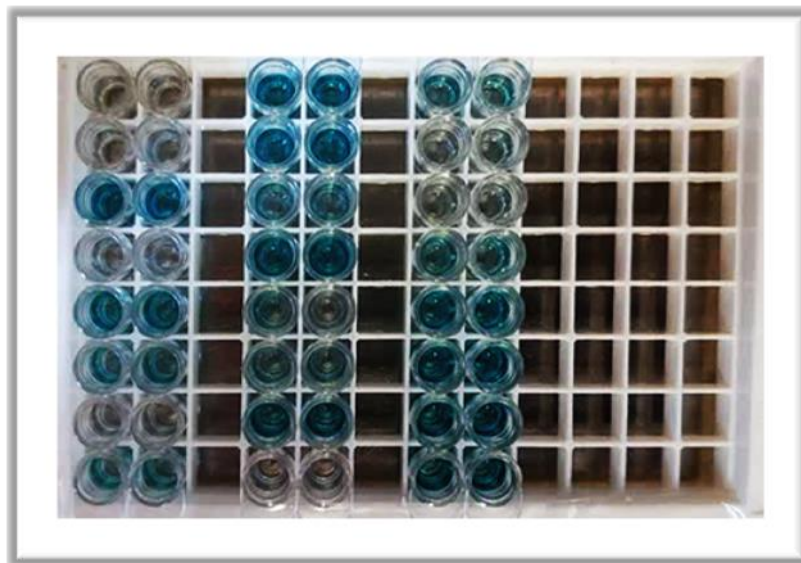
مطالعات گذشته نشان می دهد که اولین ساعت ها پس از تولد گوساله بسیار طلایی هستند (۶۸). زیرا در اولین ساعت ها هنوز اتصالات بین سلولی سست است و با خوراندن آنتی بادی های موثر، می توان سلامت گوساله را تضمین نمود. بنابر این به محض خوردن اولین آغوز در هر وعده ۱ خمیر به گوساله خورانده شد.



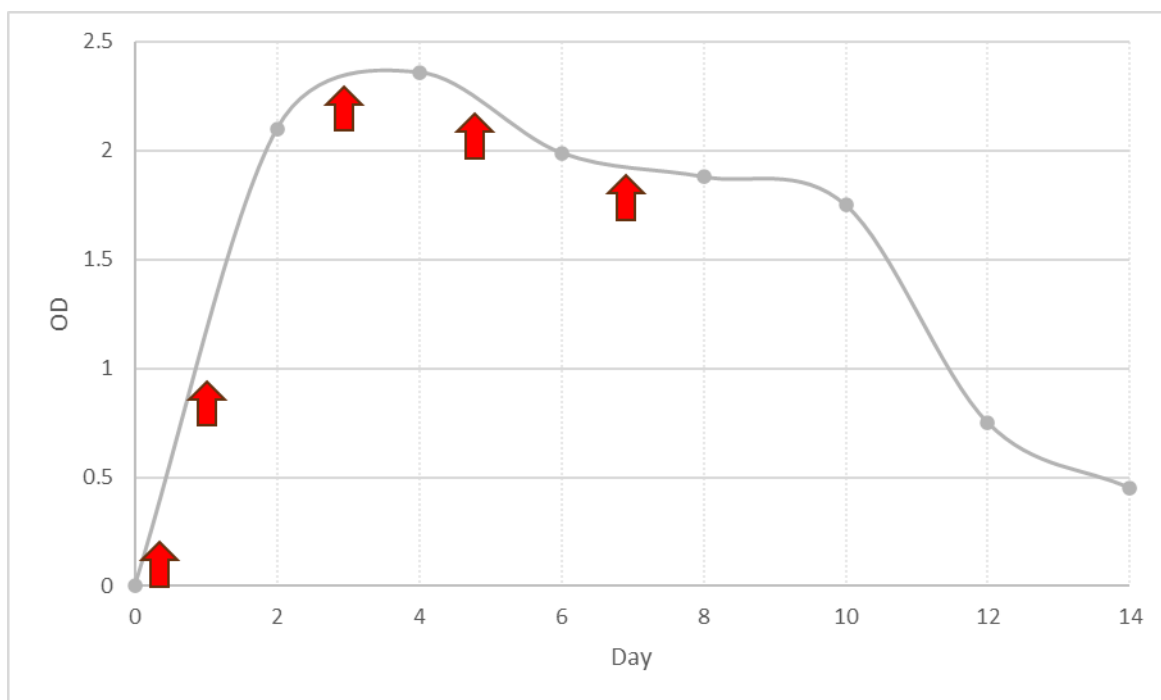
شکل ۶۳: نحوه ورود آنتی بادی ها به خون از طریق اتصالات سلولی

از آنجایی که IgY به صورت طبیعی در خون گوساله یافت نمی شود، شناسایی آن در خون فرض پیشین را تایید می کند. به این منظور ۲۴ ساعت پس از خوراندن خمیر در هر وعده، میزان IgY در خون و در مدفوع اندازه گیری شد. برای تحقق این امر آزمایشات الایزا طراحی شد. مراحل انجام این آزمایش مانند تست الایزا تعیین غلظت آنتی بادی در قسمت های قبل ذکر گردید. جهت آماده سازی نمونه های مورد بررسی، نمونه های خون جمع آوری شده با دور ۱۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند سپس سرم در ویال های

استریل جمع آوری شد. همچنین بررسی حضور آنتی بادی IgY در مدفوع نیز پس از جمع آوری نمونه با توجه به غلظت آنتی بادی موجود در خمیر، ۰.۴ گرم از مدفوع را با ۳۰ میلی لیتر آب مقطر به خوبی مخلوط شد. سپس برای یکدست شدن و جلوگیری از ورود مواد جامد به چاهک های الایزا، سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. به طور خلاصه ابتدا غلظت مناسب از آنتی بادی با بافرپوشاننده مخلوط و به میزان ۱۰۰ ماکرولیتتر در هر چاهک کوت شد. پس از گذشت ۱ ساعت نمونه های سرم و یا مدفوع ریخته شد و در نهایت آنزیم HRP و سوبسترای TMB، پس از متوقف کردن واکنش با اسید HCl ۱ مولار، OD نمونه ها با دستگاه الایزا ریدر قرائت شد.

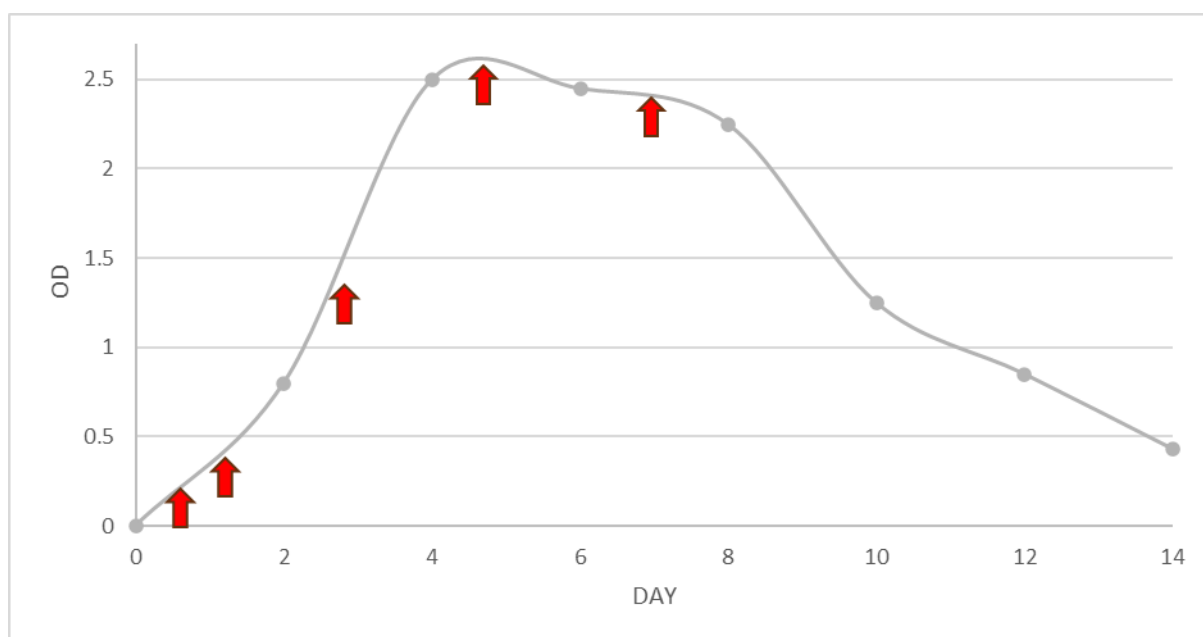


شکل ۶۴: الیزا تشخیص حضور آنتی بادی در نمونه های خون و مدفوع



شکل ۶۵: الیزا حضور IgY در نمونه های سرم در روزهای مختلف پس خمیردهی

نتایج آنالیز نمونه های سرم نشان می دهد که غلظت ایمونوگلوبولین در روزهای ۲ و ۳ زیاد شده است و دوزهای جبرانی خمیر در روزهای بعد نتوانسته است روند کاهشی در روزهای بعد را پوشش دهد. این نتیجه به خوبی فرض اول یعنی عبور آنتی بادی از بین اتصالات سلولی و حضور آن را در خون تایید می نماید. بطوریکه پس از ایجاد اتصالات محکم آنتی بادی های خورنده شده در روزهای بعد نتوانسته به خون راهی پیدا نماید.



شکل ۶۶: تست الیزا جهت تشخیص IgY در نمونه های مدفوع

آنالیز نمونه های مدفوع نشان دهنده این است که ۲۴ ساعت پس از خوردن هردوز خمیر، OD بالاتری گزارش می شود بطوریکه در روزهای ۲، ۴، ۶ میزان OD افزایش و پس از آن تا روز ۱۴ این میزان به صفر تمایل پیدا می کند.

۷-۵- بررسی سن ابتلا، شدت و مدت بیماری در دو گروه تیمار و شاهد

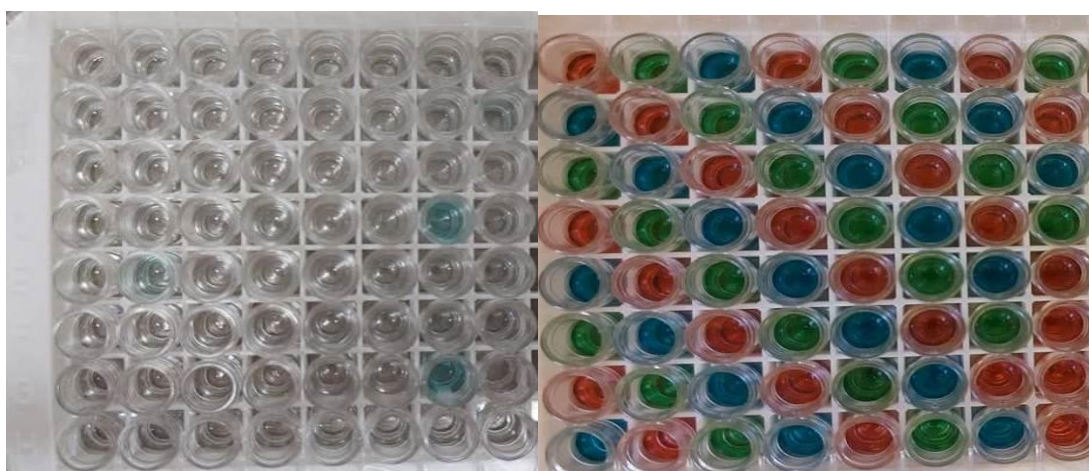
همانطور که قبلا ذکر شد سلامت گوساله ها بر اساس پژوهش انجام شده و سیستم نمره دهی در دانشگاه ویسکاس انجام پذیرفت. بر این اساس سلامت گوساله ها با بررسی نمره وضعیت چشم، گوش ترشحات بینی، دمای رکتال و شکل مدفوع انجام شد (شکل شماره ۶۳).

کل دوره	هفته سوم	هفته ۲	هفته ۱	
۰.۱۹	۰.۰۷۳	۰.۲	۰.۲۸	گروه آزمایش
۰.۲۰	۰.۰۵	۰.۱۷	۰.۳۴	گروه کنترل
۰.۷۷	۰.۶۰	۰.۶۴	۰.۲۴۰	P-Value
۰.۲	۰.۰۷	۰.۲۱	۰.۳	گروه آزمایش
۰.۲۲	۰.۰۸	۰.۲	۰.۳۳	گروه کنترل
۰.۹۸	۰.۹۹	۰.۹۹	۰.۹۱۰	P-Value
۰.۲۶	۰.۱۶	۰.۲۸	۰.۳۴	گروه آزمایش
۰.۲۶	۰.۱۸	۰.۲۱	۰.۳۸	گروه کنترل
۰.۹۹	۰.۹۹	۰.۵۷	۰.۹۱۰	P-Value
۰.۱۸	۰.۱۲۵	۰.۲۲	۰.۱۹	گروه آزمایش
۰.۲۰	۰.۱۱	۰.۲۳	۰.۲۶	گروه کنترل
۰.۷۹	۰.۹۳	۰.۹۴	۰.۴۶۰	P-Value

جدول ۸: بررسی سلامت گوساله بر اساس جدول نمره دهی ویسکاس

همانطور که در جدول بالا نشان داده شده است وضعیت چشم، گوش ترشحات بینی و دمای رکتال در ۲ گروه تفاوت معنی داری ندارد. در بررسی ظاهر مدفوع تفاوت ها نمایان شد. در طی پاندمی های اسهال، از ۲۵ گوساله گروه تیمار ۱۲ عدد به اسهال دچار شدند که از این بین اسکور بالاتر از ۲ به تعداد کمتری نسبت اسکور ۱ یافت شد. در طی این مدت از تعداد ۲۰ گوساله گروه شاهد ۱۱ عدد به اسهال مبتلا شدند که ۲ گوساله تلف شد. همچنین میزان اسکور بالای ۲ و ۱ در این گروه یکسان بود. نتایج نشان دهنده کاهش شدت بیماری (کمتر بودن گوساله ها با اسکور بالای ۲، نبودن مرگ و میر) و همچنین افزایش سن ابتلا به

بیماری بود. جهت تشخیص پاتوژن عامل بیماری از تست الایزا با کیت BIO-X استفاده نمودیم. به طور خلاصه جهت انجام این آزمایش ابتدا چاهک های مخصوص که از قبل با آنتی بادی مورد نظر پوشش داده شده را برداشته و طبق دستورالعمل کیت نمونه های مدفوع با اسکور بالاتر از ۱ و ۲ را انتخاب کرده و ۱۰۰ ماکرولیتراز آنها را با ۱۰۰ ماکرولیتراز محلول دایلوژن بافر مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کردیم. سپس ۱۰۰ ماکرولیتراز محلول را در چاهک ها ریختیم سپس از آنتی بادی کونژوگه مخصوص به هر پاتوژن که با رنگ مخصوص به خود نمایان می شوند اضافه نمودیم. تغییر رنگ پس از اضافه کردن TMB نشان دهنده حضور آنتی ژن بیماری زا می باشد.



شکل ۶۷: الیزا تشخیص پاتوژن بیماری زا

نتایج نشان داد از ۱۲ گوساله مبتلا به اسهال در گروه تیمار، ۴ عدد به روتاویروس، ۱ عدد به E.coli و ۷ عدد با عوامل نامشخص درگیر بیماری شده اند. در گروه شاهد از ۱۱ عدد گوساله مبتلا، دو عدد تلفات مشاهده شد. از بین ۹ عدد گوساله دیگر ۳ عدد به روتا ویروس و ۲ عدد به E.Coli مبتلا شدند. جدول ۹: بررسی سن ابتلا و میزان تلفات در گوساله ها. ND نشان دهنده عدم تشخیص پاتوژن بیماری زا، $Sc > 1$ نشان دهنده اسکور مدفوع بالاتر از ۱ و $Sc > 2$ نشان دهنده اسکور مدفوع بالاتر از ۲ می باشد

	تعداد	تعداد کل	Sc>2	Sc>1	تلفات	ND	Cryptosporidium	E.Coli	Rotavirus	سن ابتلا	گوساله	مبتلا
گروه آزمایش	۲۵	۱۲	۱۶۲	۲۵۸	۰	۷	۰	۱	۴	۸.۱۶	۱۲	۲۵
گروه کنترل	۲۰۰	۱۱	۳۳۷	۳۷۷	۲	۴	۰	۲	۳	۴	۱۱	۲۰۰
P-Value	-	-	۰.۰۳	۰.۰۹	-	-	-	-	-	۰.۰۰۰۷	-	-

۷-۶- بررسی سطح پروتئین های پلاسما در گوساله های سالم و مبتلا به اسهال

آلبومین بعنوان یک حامل و تامین کننده هموستاز در جریان خون و گلوبولین بعنوان یک خط دفاعی در مقابل بیماری ها عمل می کنند و نسبت این دو پروتئین سرمی بعنوان شاخصی از سلامت شناخته می

شوند. در این مطالعه آنالیز میزان پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین و همچنین سطح IgG در گوساله های سالم در روزهای ۵، ۱۰ و ۲۱ (جدول شماره ۱۰) و در گوساله های مبتلا به اسهال در روزهای ۲، ۴ و ۶ پس از بروز علائم بیماری (جدول شماره ۱۱) اندازه گیری شده است.

مشاهدات ما در گوساله های سالم حاکی از آن است که تغییرات معنی داری در سطح پروتئین کل و آلبومین و گلوبولین در بین گروه های تیماری و کنترل مشاهده نشده است، هرچند که افزایش در میزان سطح گلوبولین در دوره های مختلف اندازه گیری مشاهده شده است. اما افزایش معنی دار در سطح IgG بخصوص در روز پنجم در گوساله مصرف کننده خمیر حاوی آنتی بادی مشاهده گردید. همچنین در بررسی دامنه غلظت IgG در دو گروه مشخص گردید که میانگین غلظت IgG برای گروه کنترل ۱۹.۷۵ میلی گرم در میلی لیتر است اما در این گروه غلظت ۱۶ تا ۲۱ میلی گرم در میلی لیتر مشاهده شده است و این در حالی است که در گروه تیمار کمترین و بیشترین غلظت بدست آمده ۲۱ و ۳۸ میلی گرم در میلی لیتر می باشد. بر اساس مطالعات گذشته سه سطح برای میزان IgG برای گوساله ها در هفته ابتدایی پس تولد مشخص شده است. میزان IgG کمتر از ۱۸ میلی گرم بر میلی لیتر بعنوان سطح نامطلوب از غلظت IgG، بین ۱۸-۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر بعنوان سطح قابل قبول و بیشتر از ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر نیز بعنوان سطح مطلوب می باشد (۶۹). لذا در مقایسه دو تیمار مشاهده شده است که استفاده از خمیر حاوی آنتی بادی باعث افزایش غلظت آنتی بادی در گوساله های تا سطح دامنه مطلوب می شود.

جدول ۱۰: بررسی سطح پروتئین های پلاسما در گوساله های سالم در روزهای ۵، ۱۰ و ۲۱ روزگی

روزهای نمونه گیری		۵	۱۰	۲۱	میانگین
Total Protein (g/dl)	گروه آزمایش	۵.۶۷	۵.۱۱	۴.۸۵	۵.۱۱
	گروه کنترل	۵.۲۸	۴.۷	۴.۶۱۴	۴.۹۶
	P-Value	۰.۲۳	۰.۲۰	۰.۴۶	۰.۶۴
Albumin (g/dl)	گروه آزمایش	۲.۰۲	۱.۹۸	۲.۱۸	۲.۰۴
	گروه کنترل	۲.۰۹	۱.۹۸	۲.۱۸	۲.۰۳
	P-Value	۰.۴۵	۰.۹۸	۰.۹۵	۰.۹۲
Globulin (g/dl)	گروه آزمایش	۳.۶۴	۳.۱۳	۲.۶۷	۳.۲۱
	گروه کنترل	۳.۵۹	۲.۷۲	۲.۴۴	۳.۰۴
	P-Value	۰.۸۵	۰.۲۳	۰.۴۹	۰.۶۱
IgG (mg/ml)	گروه آزمایش	۲۷.۴۳	۲۲.۳۳	۲۰.۱۶	۱۸.۰۲
	گروه کنترل	۱۹.۷۵	۲۰.۴	۲۰.۵۶	۱۷.۶۱
	P-Value	۰.۰۵	۰.۶۲	۰.۹۲	۰.۹۰

همچنین مشاهدات در گوساله های مبتلا به اسهال نشان می دهد که درگیری بیماری در گوساله های شاهد باعث افزایش در میزان پروتئین کل می گردد. این افزایش ناشی از تغییرات در سطح گلوبولین و همچنین ناشی از افزایش سایر پروتئین های پلاسما می باشد. تفاوت معنی دار مشاهده شده بین گروه تیمار

و کنترل نشان دهنده اثرات معنی دار مصرف خمیر حاوی ایمنوگلوبولین بر کاهش تحریک و ترشح ایمنوگلوبولین های در بدن شده است.

روزهای نمونه گیری		۲	۴	۶	میانگین
Total Protein (g/dl)	گروه آزمایش	۵.۱۶	۴.۶۶	۴.۵۲	۴.۷۳
	گروه کنترل	۵.۹۵	۶.۰۵	۵.۶۷	۵.۹۲
	P-Value	۰.۰۳	۰.۰۰۰۴	۰.۰۰۰۲	۰.۰۰۱۹
Albumin (g/dl)	گروه آزمایش	۲.۲۶	۲.۱۲	۲.۰۹	۲.۱۳
	گروه کنترل	۲.۰۷۳	۲.۰۷	۲.۰۷	۲.۱
	P-Value	۰.۰۴	۰.۵۴	۰.۸	۰.۷۴
Globulin (g/dl)	گروه آزمایش	۲.۷۶	۲.۵۴	۲.۴۲	۲.۵۷
	گروه کنترل	۴.۰۷	۳.۹۸	۳.۶	۳.۸۹
	P-Value	۰.۰۰۰۷	۰.۰۰۰۲	۰.۰۰۰۲	۰.۰۰۰۷

جدول ۱۱: بررسی سطح پروتئین های پلاسما در گوساله های بیمار در روزهای ۲، ۴ و ۶ پس از بیماری

۷-۷- بررسی پروتئین های فاز حاد در گوساله های مبتلا در دو گروه شاهد و تیمار

پروتئین های فاز حاد در واکنش سریع به افزایش سطح التهاب در بروز بیماری های عفونی، التهابی و آسیب های بافتی توسط بافت کبد ترشح می شوند و به عنوان یک شاخص التهابی در بروز بیماری ها مورد ارزیابی قرار می گیرند. پروتئین های فاز حاد با افزایش سطح التهاب عمومی افزایش حداقلی ۲۵ درصد دارند و با باعث تحریک مستقیم سایتوکین های پیش التهابی می شوند (۷۰). مشاهدات این مطالعه نشان می دهد که افزایش در سطح التهاب در گوساله های مبتلا به اسهال در روز دوم در بالاترین سطح ممکن بودند و به تدریج میزان پروتئین های فاز حاد کاهش می یابد. مصرف آنتی بادی های موثر در خمیر مصرف شده باعث کاهش میزان ترشح این دسته از پروتئین ها شده و اثرات معنی داری را در روز دوم نشان می دهد.

بر اساس مطالعات پیشین درگیری عفونی در دستگاه گوارش، باعث افزایش ترشح ایمنوگلوبولین ها بخصوص IgG می شود. IgG با اتصال به آنتی ژن ها باعث غیر فعال نمودن جمعیت های میکروبی و سپس با اتصال به رسپتورهای اختصاصی FCγR در سلول های APC¹ (نوتروفیل ها) باعث شروع روند ترشح سایتوکین های پیش التهابی می شود، که از این دسته می توان به افزایش ترشح IL-1β اشاره نمود. نتایج بدست آمده از این مطالعه نیز افزایش در سطح IL-1β در گروه کنترل بخصوص در روز دوم بروز بیماری را نشان می دهد. قابل توجه است که در تیمار مصرف کننده خمیر کاهش معنی داری در سطح IL-1β در مقایسه با گروه این مشاهده ناشی از عدم اتصال اختصاصی در اتصال رسپتور های Fc آنتی بادی های IgY با رسپتور های اختصاصی FCγR در سلول های APC می باشد. این در حالی است که تغییرات معنی داری در ترشح سایتوکین التهابی در این مطالعه مشاهده نشده است.

¹ Antigen presenting cells

جدول ۱۲: بررسی میزان پروتئین های فاز حاد در گوساله های بیمار در روزهای ۲، ۴ و ۶ پس از بیماری

روزهای نمونه گیری		۲	۴	۶	میانگین
CRP (mg/l)	گروه آزمایش	۴.۰۰۳	۲.۶۵	۱.۶۰	۲.۷۴
	گروه کنترل	۴.۹۸	۳.۱۱	۱.۷۶	۳.۲
	P-Value	۰.۰۲۵	۰.۲۷	۰.۶	۰.۲۶
Haptoglobin (mg/dl)	گروه آزمایش	۱۳۸.۱	۹۷.۶۸	۶۸.۹۶	۸۹.۸۱
	گروه کنترل	۱۵۰	۱۱۶.۵	۷۲.۱۹	۱۱۲.۹
	P-Value	۰.۴۹	۰.۲۷	۰.۸۵	۰.۱۸
IL-1 β (pg/ml)	گروه آزمایش	۲۱.۹۶	۱۹.۳۱	۱۲.۰۵	۱۸.۵۹
	گروه کنترل	۳۴.۹۷	۲۱.۸۹	۱۶.۳۴	۲۳.۳۶
	P-Value	۰.۰۰۵	۰.۵	۰.۲۲	۰.۲۱
IL-6 (pg/ml)	گروه آزمایش	۲۳.۱۹	۱۵.۳۲	۱۰.۰۲	۱۲.۸۹
	گروه کنترل	۲۳.۱۱	۱۴.۵	۱۰.۲۳	۱۴.۳۶
	P-Value	۰.۹۵	۰.۶۳	۰.۹۳	۰.۳۹
TNF- α (pg/ml)	گروه آزمایش	۴۳.۳۹	۳۴.۷۸	۲۲.۶۳	۳۳.۲۴
	گروه کنترل	۴۴.۴۷	۳۶.۴۲	۲۴.۱۴	۳۳.۳۸
	P-Value	۰.۷۷	۰.۶۶	۰.۶۶	۰.۹۶
IFN- γ (pg/ml)	گروه آزمایش	۶۱.۸۳	۳۶.۷۱	۲۰.۱۷	۳۷.۷
	گروه کنترل	۶۲.۷۵	۳۰.۹۸	۱۵.۷۷	۳۶.۶۸
	P-Value	۰.۸۵	۰.۲۵	۰.۳۵	۰.۸۸

۷-۸- بررسی وزن، اسکلت بدن در دو گروه تیمار و شاهد

جهت بررسی میزان افزایش وزن بدن گوساله ها در روز تولد، ۱۴، ۲۱، ۳۵ و ۵۷ روزگی به صورت دقیق وزن شدند. بررسی ها نشان داد که افزایش وزن در بازه زمانی ۰-۱۴ روزگی کاملاً معنی دار است بگونه ای که در گروه کنترل شاهد کاهش وزن هم بودیم. در حیوانات و در اینجا در گوساله ها محور التهاب حضور دارد. در واقع این محور ارتباط مستقیمی با سن حیوان دارد. هرچه سن افزایش پیدا کند این محور نیز قوی تر خواهد شد و با افزایش قدرت آن افزایش وزن نیز در پی خواهد بود. با مصرف خمیر این محور تقویت شده و مانع از کاهش وزن گوساله ها گردیده است. با افزایش سن گوساله ها و افزایش قدرت محور التهابی، این کاهش وزن در گوساله های کنترل نیز جبران خواهد شد هرچند که در پایان وزن کشی میانگین وزن گروه تیمار ۱/۵ کیلوگرم بیشتر بود اما مطابق با آنالیزهای آماری این اختلاف معنی دار نبود. بررسی های اسکلت در دو گروه نیز در روز سوم پس از تولد روز ۲۱ نیز انجام پذیرفت. آنالیز ها نشان دهنده افزایش طول بدن، افزایش ارتفاع هیپ بود. در بقیه موارد اختلافی بین دو گروه تیمار و شاهد مشاهده نشد.

	وزن اولیه	۱۴	۲۱	۳۵	۵۷
گروه آزمایش	۴۰.۸	۰.۷۷	۲.۶۳	۹.۸۹	۲۵.۳۴
گروه کنترل	۴۱.۰۷	-۱.۴۰۳	۱.۲۳	۸.۶۲	۲۳.۸۱
<i>P-Value</i>	۰.۸۱	۰.۰۴	۰.۱۹	۰.۲۴	۰.۱۵

شکل ۶۸: بررسی تغییرات وزن در دو گروه شاهد و تیمار در روزهای ۱۴، ۲۱، ۳۵ و ۵۳ پس از تولد

۷-۹- نتیجه گیری و بحث

استفاده از محصول خمیر حاوی آنتی بادی با افزایش در غلظت ایمنوگلوبولین ها در سرم و مدفوع باعث افزایش در سطح پروتئین های سرم بخصوص ایمنوگلوبولین های سرم خون گوساله های سالم در ۵ روز ابتدایی پس از تولد گردید. این افزایش در سطح ایمنی گوساله ها باعث کمتر شدن میزان و شدت ابتلاء به اسهال و میزان تلفات در گوساله ها باشد. با بررسی دقیق تر مشاهده کردیم که گوساله های مبتلاء به اسهال که از خمیر های حاوی آنتی بادی استفاده نمودند، سطح بالاتری از ایمنوگلوبولین را دارند و به خاطر وجود غلظت بالای آنتی بادی در خون و لومن، سطح التهاب و ترشحات سایتوکایینی پیش التهابی پایین تری را از خود نشان دادند. این مزایا صرفاً در جهت کنترل در میزان و شدت ابتلاء به اسهال و تلفات نبوده و گوساله های سالم شرایط مناسبی در روند رشد اسکلتی و وزن بهتری را تجربه کردند. این نتایج نشان دهنده اثرات مفید استفاده از مکمل خمیر حاوی آنتی بادی به منظور افزایش سطح ایمنی، سلامت و رشد در گوساله ها بخصوص در سه هفته ابتدا پس از تولد می باشد.

Reference

۱. Afchangi A, Arashkia A, Shahosseini Z, Jalilvand S, Marashi SM, Roohvand F, et al. Immunization of mice by rotavirus NSP۴-VP۶ fusion protein elicited stronger responses compared to VP۶ alone. *Viral Immunology*. ۲۰۱۸;۳۱(۳):۲۳۳-۴۱.
۲. Shahrani M, Dehkordi FS, Momtaz H. Characterization of *Escherichia coli* virulence genes, pathotypes and antibiotic resistance properties in diarrheic calves in Iran. *Biological Research*. ۲۰۱۴;۴۷:۱-۱۳.
۳. Uetake K. Newborn calf welfare: A review focusing on mortality rates. *Animal Science Journal*. ۲۰۱۳;۸۴(۲):۱۰۱-۵.
۴. Lübbert C. Antimicrobial therapy of acute diarrhoea: a clinical review. *Expert review of anti-infective therapy*. ۲۰۱۶;۱۴(۲):۱۹۳-۲۰۶.
۵. Dunkel B. Diagnosis and treatment of non-infectious and infectious foal diarrhoea. *Pferdeheilkunde*. ۲۰۰۸;۲۴(۴):۵۲۹.
۶. Acres S, Isaacson R, Babiuk L, Kapitany R. Immunization of calves against enterotoxigenic colibacillosis by vaccinating dams with purified K۹۹ antigen and whole cell bacterins. *Infection and immunity*. ۱۹۷۹;۲۵۱۲۱-(۱)۶.
۷. Smyth C, Olsson E, Moncalvo C, Söderlind O, Orskov F, Orskov I. K۹۹ antigen-positive enterotoxigenic *Escherichia coli* from piglets with diarrhea in Sweden. *Journal of Clinical Microbiology*. ۱۹۸۱;۱۳(۲):۲۵۲-۷.
۸. Croxen MA, Finlay BB. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology*. ۲۰۱۰;۸(۱):۲۶-۳۸.
۹. Cho Y-i, Yoon K-J. An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of veterinary science*. ۲۰۱۴;۱۵(۱):۱-۱۷.
۱۰. De Graaf F, Wientjes F, Klaasen-Boor P. Production of K۹۹ antigen by enterotoxigenic *Escherichia coli* strains of antigen groups O۸, O۹, O۲۰, and O۱۰۱ grown at different conditions. *Infection and immunity*. ۱۹۸۰;۲۷(۱):۲۱۶-۲۱.

- ۱۱ Arrowood MJ, Sterling CR. Isolation of *Cryptosporidium* oocysts and sporozoites using discontinuous sucrose and isopycnic Percoll gradients. *The Journal of parasitology*. ۱۹۸۷;۳۱۴-۹.
- ۱۲ Rasmussen KR, Larsen NC, Healey MC. Complete development of *Cryptosporidium parvum* in a human endometrial carcinoma cell line. *Infection and immunity*. ۱۹۹۳;۶۱(۴):۱۴۸۲-۵.
- ۱۳ Del Coco VF, Córdoba MA, Basualdo JA. *Cryptosporidium* infection in calves from a rural area of Buenos Aires, Argentina. *Veterinary parasitology*. ۲۰۰۸;۱۵۸(۱-۲):۳۱-۵.
- ۱۴ Tzipori S, Ward H. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. *Microbes and infection*. ۲۰۰۲;۴(۱۰):۱۰۴۷-۵۸.
- ۱۵ Gharagozlou M. A review of cryptosporidiosis, laboratory diagnosis and a preliminary report of *Cryptosporidium* infection of the bursa of Fabricius and cloaca. ۱۹۹۷.
- ۱۶ Moore J, Frenkel J. Respiratory and enteric cryptosporidiosis in humans. *Archives of pathology & laboratory medicine*. ۱۹۹۱;۱۱۵(۱۱):۱۱۶۰-۲.
- ۱۷ Banani M, Dadras H, Moazeni Julia G, Karimi G, Afkhamnia M, Mokhber L. Efficacy of different concentrations of sodium hypochlorite on the in vitro excystation of sporozoites of *Cryptosporidium baileyi*. *Veterinary Research & Biological Products*. ۲۰۱۲;۲۵(۳):۱-۶.
- ۱۸ Sari B, Arslan MÖ, Gicik Y, Kara M, Taşçi GT. The prevalence of *Cryptosporidium* species in diarrhoeic lambs in Kars province and potential risk factors. *Tropical animal health and production*. ۲۰۰۹;۴۱:۸۱۹-۲۶.
- ۱۹ Blagburn B, Soave R. Prophylaxis and chemotherapy: human and animal. *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. ۱۹۹۷:۱۱۱-۲۸.
- ۲۰ Perryman LE, Kegerris K, Mason PH. Effect of orally administered monoclonal antibody on persistent *Cryptosporidium parvum* infection in scid mice. *Infection and immunity*. ۱۹۹۳;۶۱(۱۱):۴۹۰۶-۸.
- ۲۱ Naciri M, Mancassola R, Reperant J, Canivez O, Quinque B, Yvore P. Treatment of experimental ovine cryptosporidiosis with ovine or bovine hyperimmune colostrum. *Veterinary Parasitology*. ۱۹۹۴;۵۳(۳-۴):۱۷۳-۹۰.

22. Hunt E, Fu Q, Armstrong MU, Rennix DK, Webster DW, Galanko JA, et al. Oral bovine serum concentrate improves cryptosporidial enteritis in calves. *Pediatric research*. 2002;51(3):370-6.
23. Winter G, Gooley AA, Williams KL, Slade MB. Characterization of a major sporozoite surface glycoprotein of *Cryptosporidium parvum*. *Functional & integrative genomics*. 2000;1:207-17.
24. Current W. Techniques and laboratory maintenance of *Cryptosporidium*. *Cryptosporidiosis of man and animals*: CRC press; 2018. p. 31-50.
25. Matthijssens J, Ciarlet M, McDonald SM, Attoui H, Bányai K, Brister JR, et al. Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG). *Archives of virology*. 2011;156:1397-413.
26. Crawford SE, Ramani S, Tate JE, Parashar UD, Svensson L, Hagbom M, et al. Rotavirus infection. *Nature Reviews Disease Primers*. 2017;3.1-16.(1)
27. Matthijssens J, Joelsson DB, Warakomski DJ, Zhou T, Mathis PK, van Maanen M-H, et al. Molecular and biological characterization of the Δ human-bovine rotavirus (WC γ)-based reassortant strains of the pentavalent rotavirus vaccine, RotaTeq. *Virology*. 2010;403(2):111-27.
28. Mori Y, Borgan MA, Ito N, Sugiyama M, Minamoto N. Diarrhea-inducing activity of avian rotavirus NSP ϵ glycoproteins, which differ greatly from mammalian rotavirus NSP ϵ glycoproteins in deduced amino acid sequence, in suckling mice. *Journal of virology*. 2002;76(11):5829-34.
29. Geletu US, Usmael MA, Bari FD. Rotavirus in calves and its zoonotic importance. *Veterinary Medicine International*. 2021;2021(1):6639701.
30. Burnett E, Parashar U, Tate J. Rotavirus vaccines: effectiveness, safety, and future directions. *Pediatric Drugs*. 2018;20:223-33.
31. Schollin Ask L. Global and Swedish review of rotavirus vaccines showed considerable reductions in morbidity and mortality. *Acta Paediatrica*. 2021;110(12):3161-9.
32. Cates JE, Tate JE, Parashar U. Rotavirus vaccines: progress and new developments. *Expert opinion on biological therapy*. 2022;22(3):423-32.

- ۳۳ Shoja Z, Jalilvand S, Latifi T, Roohvand F. Rotavirus VP۶: involvement in immunogenicity, adjuvant activity, and use as a vector for heterologous peptides, drug delivery, and production of nano-biomaterials. *Archives of Virology*. ۲۰۲۲; ۱۶۷(۴): ۱۰۱۳-۲۳.
- ۳۴ Kirkwood CD, Ma L-F, Carey ME, Steele AD. The rotavirus vaccine development pipeline. *Vaccine*. ۲۰۱۹; ۳۷(۵۰): ۷۳۲۸-۳۵.
- ۳۵ Burke RM, Tate JE, Kirkwood CD, Steele AD, Parashar UD. Current and new rotavirus vaccines. *Current opinion in infectious diseases*. ۲۰۱۹; ۳۲(۵): ۴۳۵-۴۴.
- ۳۶ Li Y, Xue M, Yu L, Luo G, Yang H, Jia L, et al. Expression and characterization of a novel truncated rotavirus VP۶ for the development of a recombinant rotavirus vaccine. *Vaccine*. ۲۰۱۸; ۳۶(۱۶): ۲۰۸۶-۹۲.
- ۳۷ Wen X, Cao D, Jones RW, Li J, Szu S, Hoshino Y. Construction and characterization of human rotavirus recombinant VP۸* subunit parenteral vaccine candidates. *Vaccine*. ۲۰۱۲; ۳۰(۴۳): ۶۱۲۱-۶.
- ۳۸ Ludert JE, Ruiz MC, Hidalgo C, Liprandi F. Antibodies to rotavirus outer capsid glycoprotein VP۷ neutralize infectivity by inhibiting virion decapsidation. *Journal of Virology*. ۲۰۰۲; ۷۶(۱۳): ۶۶۴۳-۵۱.
- ۳۹ Afchangi A, Jalilvand S, Mohajel N, Marashi SM, Shoja Z. Rotavirus VP۶ as a potential vaccine candidate. *Reviews in medical virology*. ۲۰۱۹; ۲۹(۲): e۲۰۲۷.
- ۴۰ Boshuizen J, Rossen J, Sitaram C, Kimenai F, Simons-Oosterhuis Y, Laffeber C, et al. Rotavirus enterotoxin NSP۶ binds to the extracellular matrix proteins laminin-β۳ and fibronectin. *Journal of virology*. ۲۰۰۴; ۷۸(۱۸): ۱۰۰۴۵-۵۳.
- ۴۱ Zhang M, Zeng CQ-Y, Morris AP, Estes MK. A functional NSP۶ enterotoxin peptide secreted from rotavirus-infected cells. *Journal of Virology*. ۲۰۱۱ ۶۶۳-۷۰: (۲۴)۷۴; ۰۰.
- ۴۲ Kavanagh OV, Ajami NJ, Cheng E, Ciarlet M, Guerrero RA, Zeng CQ-Y, et al. Rotavirus enterotoxin NSP۶ has mucosal adjuvant properties. *Vaccine*. ۲۰۱۰; ۲۸(۱۸): ۳۱۰۶-۱۱.
- ۴۳ Ball JM, Mitchell DM, Gibbons TF, Parr RD. Rotavirus NSP۶: a multifunctional viral enterotoxin. *Viral immunology*. ۲۰۰۵; ۱۸(۱): ۲۷-۴۰.

- ۴۴ Mirhosseini SA, Latifi AM, Hosseini HM, Seidmoradi R, Aghamollaei H, Farnoosh G. The efficient solubilization and refolding of recombinant organophosphorus hydrolyses inclusion bodies produced in *Escherichia coli*. *Journal of Applied Biotechnology Reports*. ۲۰۱۹;۶(۱):۲۰-۵.
- ۴۵ Sharifi Z, Yakhchali B, Shahrabadi M. Expression and one step purification of the full-length biologically active, NSP۴ of human rotavirus Wa strain. *Int J Mol Med Adv Sci*. ۲۰۰۵;۱:۲۰۶-۱۲.
- ۴۶ Guzman E, McCrae M. Molecular characterization of the rotavirus NSP۴ enterotoxin homologue from group B rotavirus. *Virus research*. ۲۰۰۵;۱۱۰(۱-۲):۱۵۱-۶۰.
- ۴۷ Enouf V, Langella P, Commissaire J, Cohen J, Corthier G. Bovine rotavirus nonstructural protein ۴ produced by *Lactococcus lactis* is antigenic and immunogenic. *Applied and Environmental Microbiology*. ۲۰۰۱;۶۷(۴):۱۴۲۳-۸.
- ۴۸ Horie Y, Nakagomi O, Koshimura Y, Nakagomi T, Suzuki Y, Oka T, et al. Diarrhea induction by rotavirus NSP۴ in the homologous mouse model system. *Virology*. ۱۹۹۹;۲۶۲(۲):۳۹۸-۴۰۷.
- ۴۹ Browne EP, Bellamy AR, Taylor JA. Membrane-destabilizing activity of rotavirus NSP۴ is mediated by a membrane-proximal amphipathic domain. *Journal of General Virology*. ۲۰۰۰;۸۱.۱۹۵۵-۹:(۸)
- ۵۰ Kumar N, Singh Y, Sharma K, Balamurugan V, Shivachandra SB, Dhama K. Expression analysis of a highly soluble region of an enterotoxigenic non-structural protein of bovine rotavirus. ۲۰۱۵.
- ۵۱ Yuan L, Honma S, Ishida S-I, Yan X-Y, Kapikian AZ, Hoshino Y. Species-specific but not genotype-specific primary and secondary isotype-specific NSP۴ antibody responses in gnotobiotic calves and piglets infected with homologous host bovine (NSP۴ [A]) or porcine (NSP۴ [B]) rotavirus. *Virology*. ۲۰۰۴;۳۳۰.۹۲-۱۰۴:(۱)
- ۵۲ Afchangi A, Jalilvand S, Arashkia A, Latifi T, Farahmand M, Shirazi MMA, et al. Co-administration of rotavirus nanospheres VP۶ and NSP۴ proteins enhanced the anti-NSP۴ humoral responses in immunized mice. *Microbial Pathogenesis*. ۲۰۲۲;۱۶۳:۱۰۵۴۰۵

- ۵۳ Liu C, Huang P, Zhao D, Xia M, Zhong W, Jiang X, et al. Effects of rotavirus NSP۴ protein on the immune response and protection of the SR۶۹A-VP۸* nanoparticle rotavirus vaccine. *Vaccine*. ۲۰۲۱;۳۹(۲):۲۶۳-۷۱.
- ۵۴ Malik YS, Kumar N, Sharma K, Ghosh S, Bányai K, Balasubramanian G, et al. Molecular analysis of non structural rotavirus group A enterotoxin gene of bovine origin from India. *Infection, Genetics and Evolution*. ۲۰۱۴;۲۵:۲۰-۷.
- ۵۵ Pourasgari F, Kaplon J, Karimi-Naghlani S, Fremy C, Otarod V, Ambert-Balay K, et al. The molecular epidemiology of bovine rotaviruses circulating in Iran: a two-year study. *Archives of virology*. ۲۰۱۶;۱۶۱(۱۲):۳۴۸۳-۹۴.
- ۵۶ Madadgar O, Nazaktabar A, Keivanfar H, Salehi TZ, Zadeh SL. Genotyping and determining the distribution of prevalent G and P types of group A bovine rotaviruses between ۲۰۱۰ and ۲۰۱۲ in Iran. *Veterinary Microbiology*. ۲۰۱۵;۱۷۹(۳-۴):۱۹۰-۶.
- ۵۷ Borgan MA, Mori Y, Ito N, Sugiyama M, Minamoto N. Antigenic analysis of nonstructural protein (NSP) ۴ of group A avian rotavirus strain PO-۱۳. *Microbiology and immunology*. ۲۰۰۳;۴۷(۹):۶۶۱-۸.
- ۵۸ Akita E, Nakai S. Immunoglobulins from egg yolk: isolation and purification. *Journal of food science*. ۱۹۹۲;۵۷(۳):۶۲۹-۳۴.
- ۵۹ Polson A, von Wechmar MB, Van Regenmortel M. Isolation of viral IgY antibodies from yolks of immunized hens. *Immunological communications*. ۱۹۸۰;۹(۵):۴۷۵-۹۳.
- ۶۰ Warren Z, McPheeters ML, Sathe N, Foss-Feig JH, Glasser A, Veenstra-VanderWeele J. A systematic review of early intensive intervention for autism spectrum disorders. *Pediatrics*. ۲۰۱۱;۱۲۷(۵):e۱۳۰۳-e۱۱.
- ۶۱ Han S, Wen Y, Yang F, He P. Chicken egg yolk antibody (IgY) protects mice against enterotoxigenic *Escherichia coli* infection through improving intestinal health and immune response. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. ۲۰۲۱;۱۱:۶۶۲۷۱۰.
- ۶۲ Begum NA, Mondal S, Basu S, Laskar RA, Mandal D. Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of Black Tea leaf extracts. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. ۲۰۰۹;۱۱۳-۸:(۱)۷۱;

- ۶۳ Han Y, Liu M, Han Y, Shi N, Wang Q, Cui T, et al. Genetic and phylogenetic characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and enteropathogenic *E. coli* from livestock in Jiangsu by using whole-genome sequencing. *Journal of Applied Microbiology*. ۲۰۲۲;۱۳۲(۵):۳۹۲۵-۳۶.
- ۶۴ Lee S, Park N, Yun S, Hur E, Song J, Lee H, et al. Presence of plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) genes in non-typhoidal *Salmonella* strains with reduced susceptibility to fluoroquinolones isolated from human salmonellosis in Gyeonggi-do, South Korea from ۲۰۱۶ to ۲۰۱۹. *Gut pathogens*. ۲۰۲۱;۱۳(۱):۳۵.
- ۶۵ Daneshian M, Von Aulock S, Hartung T. Assessment of pyrogenic contaminations with validated human whole-blood assay. *Nature protocols*. ۲۰۰۹;۴(۱۲):۱۷۰۹-۲۱.
- ۶۶ Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Frontiers in immunology*. ۲۰۱۸;۹:۷۵۴.
- ۶۷ Balikci E, Al M. Some serum acute phase proteins and immunoglobulins concentrations in calves with rotavirus, coronavirus, *E. coli* F δ and *Eimeria* species. *Iranian journal of veterinary research*. ۲۰۱۴;۱۵(۴):۳۹۷.
- ۶۸ Besser TE, Gay CC, McGUIRE TC, Evermann JF. Passive immunity to bovine rotavirus infection associated with transfer of serum antibody into the intestinal lumen. *Journal of Virology*. ۱۹۸۸;۶۲(۷):۲۲۳۸-۴۲.
- ۶۹ Balan P, Han K, Rutherford S, Singh H, Moughan P. Dietary supplementation with ovine serum immunoglobulin attenuates acute effects on growth, organ weights, gut morphology and intestinal mucin production in the growing rat challenged with *Salmonella enteritidis*. *animal*. ۲۰۱۱;۵(۱۰):۱۵۷۰-۸.
- ۷۰ Janeway Jr CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. Principles of innate and adaptive immunity. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease* ۵th edition: Garland Science; ۲۰۰۱.



فرم پیشنهاد طرح کلان ملی

عنوان طرح:

تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام

مجریان

سیروس قائدی / سید مهدی سیدین

محل اجرا

پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست فناوری - اصفهان

ناظر

دکتر محبوبه نظری

تاریخ ابلاغ طرح

مهر ۱۳۹۸

صفحه ۲ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
--------------	---	---

فصل اول - خلاصه مدیریتی

۱-۱- عنوان طرح:

تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام

۱-۲- خلاصه طرح:

اهمیت انتخاب درمان بیماری های دامی با آنتی بادی و جایگزینی آن با درمان آنتی بیوتیکی این است که با افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در درمان بیماری های دامی، نه تنها هزینه تولید دام در دامپروری ها افزایش یافته، بلکه واردات آنتی بیوتیک های نسل جدید، معبری برای خروج ارز از کشور باز کرده که مشکلات اخیر ارزی و تخصیص ردیف مناسب ارزی، چالش های درمان بیماری ها را دوچندان کرده است.

در این پروژه ابتداء شناسایی عوامل بیماری زا و تولید آنتی ژن های نو ترکیب با استفاده از علوم بیوتکنولوژی صورت می گیرد. آنتی ژن های بدست آمده، در مسیر تولید آنتی بادی ها با استفاده از علم ایمنی شناسی بکار رفته و پس از استخراج آنتی بادی ها، برای انجام تست های اولیه آزمایشگاهی و تست های جانوری بکار می روند. آنتی بادی های بدست آمده از این تحقیقات در یک فرمول دارویی در فارم های صنعتی پرورش دام و طیور مورد استفاده قرار می گیرند با شروع این پروژه، چرخه تولید این محصولات در پژوهشگاه رویان کامل خواهد شد و در ادامه طرح داروی مورد نظر ثبت و تولید تجاری خواهد شد.

۱-۳- نام مجری:

سپروس قائدی / سید مهدی سیدین

۱-۴- محل اصلی اجرای طرح (نام واحدی / پژوهشگاه که مسول اصلی اجرای طرح است)

پژوهشگاه رویان، پژوهشگاه زیست فناوری - اصفهان

۱-۵- نام ناظر / ناظرین

دکتر محبوبه نظری

۱-۶- نام بهره بردار / مشارکت کننده مالی:

سازمان برنامه و بودجه

صفحه ۳ از ۲۲	دستر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
--------------	--	---

۷-۱- مدت زمان اجرا (ماه):

۲۴ ماه

۸-۱- تاریخ شروع طرح (روز/ماه/ سال طبق ابلاغیه)

۹۸/۰۷/۰۱

۹-۱- ماهیت و مقیاس طرح:

فناورانه و نیمه صنعتی

۱۰-۱- اعتبار کل مورد نیاز (میلیون ریال):

۷۰۰۰

۱۱-۱- برآورد هزینه‌های اجرای طرح (خلاصه جدول مالی):

ردیف	نوع هزینه	هزینه ریالی (میلیون ریال)	هزینه ارزی (یورو)
۱	نیروی انسانی	۵۱۲۰	
۲	وسایل و مواد مصرفی	۲۷۵۸۵	۱۸۰۰۰€
۳	دستگاه‌ها و تجهیزات و ماشین آلات مورد نیاز	۲۴۵۸۰	
۴	خرید خدمات تخصصی	۶۲۵۰	
۵	هزینه های تامین زیر ساخت	۴۶۸۵	
۶	جمع کل هزینه‌های طرح (میلیون ریال - یورو):	۶۸۲۰۰	۱۸۰۰۰€
۷	جمع کل هزینه های طرح (میلیون ریال):	۷۰۰۰۰	

صفحه ۴ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
--------------	---	---

۲- فصل دوم: کلیات طرح

۲-۱- مسئله و راهکار

اگرچه تولید پروتئین های حیوانی یکی از ارکان مهم تولید در هر کشوری می باشد. در دهه های اخیر در کشور ما با توجه به توسعه در زمینه تولید انواع پروتئین های حیوانی زیر ساخت قابل توجهی در این بخش ظهور کرده که این توسعه ، در بخش های شیر، تخم مرغ، گوشت مرغ و آبزیان، ایجاد خود کفائی کرده و حتی در زمینه تولیداتی چون مرغ گوشتی کشورمان صاحب رتبه جهانی می باشد. همزمان با توسعه صنعت دام، طیور و آبزیان در ایران همانند بسیاری از کشورهای دیگر، موضوع کنترل بیماری های طیور ، دام و آبزیان یکی از چالش های اساسی مدیریت کلان کشوری بوده است. متأسفانه اجرای ناقص قرنطینه و استفاده غیر اصولی از راه کارهای درمانی (مصرف بی رویه آنتی بیوتیک) چالشی بس بزرگ در روند توسعه صنعت دامپروری ایجاد کرده است. این چالش دو بعد مهم و موثر در پی داشته یکی آنکه هزینه تولید دام را به شدت افزایش می دهد و دیگر آنکه افزایش مقاومت در برابر آنتی بیوتیک ها را به همراه داشته است. مقاومت آنتی بیوتیکی نه تنها برای دام، طیور و آبزیان تهدید محسوب می شود بلکه این مقاومت با واسطه تغذیه به زیست بوم انسانی نیز سرایت می کند و بحران فعلی مشکلات درمان بیماریهای عفونی در انسان و دام را به همراه خواهد داشت. میزان مصرف آنتی بیوتیک در ایران ۱۶ برابر استاندارد جهانی و به میزان کل مصرف آنتی بیوتیک در قاره اروپا می باشد و این در حالی است که بیش از نیمی از آنتی بیوتیک مصرفی در دنیا در بخش پرورش دام و طیور متمرکز است.

تولید انبوه دام های جوان و سالم برای دستیابی به موفقیت اقتصادی و تامین آینده گله های گاو شیری، گوسفند و بز ضروری هستند. از آنجایی که اغلب مدیران در دامداری های بزرگ، سالانه ۲۵ تا ۳۵ درصد از گله را حذف می کنند، باید تولید دام جوان در حد کافی برای جایگزین کردن در اختیار داشته باشند. اسهال در دام های تازه به دنیا آمده یکی از دلایل اصلی افت عملکرد و یا تلفات آنها در دوران شیرخوارگی است. برآوردها نشان می دهد که ۵۰ درصد از تلفات گوساله ها و بره ها در دوران پیش از شیرگیری مربوط به اسهال می باشد.

صفحه ۵ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
--------------	---	---

۲-۱-۱- راهکار ارائه شده در طرح

در دنیای امروز درمان و پیشگیری، یافتن راه حلی جهت مقابله با مقاومت آنتی‌بیوتیکی از موضوعات روز مقالات و از جمله موارد مورد علاقه دانشمندان علوم زیستی شده است. این موضوع از دید محققین پژوهشگاه رویان دور نمانده است و در این خصوص طرحی تحت عنوان تولید آنتی بادی جهت درمان بیماریهای عفونی دامی و در فاز اول درمان اسهال گوساله مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت.

داروی طراحی شده با آنتی بادی‌های اختصاصی علیه عوامل پاتوژنیک معرفی شده، تنها داروی موثر و اختصاصی در درمان این دسته از اسهال ها است. استفاده از این دارو روشی موثر و جایگزین برای درمان اسهال های عفونی بدون استفاده از آنتی بیوتیک ها است.

میزان ابتلاء به اسهال در دام های بزرگ به عوامل مختلفی بستگی دارد. این عوامل، شامل سطح و نوع آلودگی در مناطق مختلف جغرافیایی، میزان رعایت اصول ایمنی بهداشت در هر دامپروری، کیفیت منابع آب و غذا، تاسیسات، تجهیزات و امکانات نگهداری از دام می باشد.

میزان ابتلاء گوساله ها در دامداری های صنعتی از ۵ تا ۲۰ درصد و در دامداری های سنتی از ۱۰ تا ۵۰ درصد متغیر است. در دام کوچک (بره و بزغاله) میزان ابتلاء بین ۲۰ تا ۵۰ درصد در فصل های مختلف سال در نوسان است کنترل عوامل بیماری زای اسهال در گوساله بوسیله آنتی بادی های اختصاصی در آزمایشات متعددی مورد آزمایش قرار گرفته است. مطالعات پیش از این نشان دهنده موفقیت های آنتی بادی ها در ظرفیت بلوک کردن باکتری ها در مقابل سلول های میزبان می باشد (کارول و استولار ۱۹۸۳). علیرغم اینکه تاثیرات سودمند آنتی بادی های در کنترل و پیشگیری بیماری اسهال در حیوانات بیش از دو دهه است که شناخته شده و توسط محققین بسیاری گزارش شده است، اما بررسی جامع همه این مطالعات نیازمند استفاده از روش متا آنالیز (فرا تحلیل) می باشد. به همین منظور محققین با روش متا آنالیز اثر آنتی بادی ها را برای درمان و کنترل اسهال در حیوانات اهلی و موارد استفاده از آن را در گزارشات تحقیقی و نهایتاً در طبقات مختلف حیوانات (مانند خوکچه، موش، ماکیان و گاوها) بررسی کردند. نتایج اصلی آنها نشان داد که استفاده از ایمونوگلوبولین ها به عنوان یک روش جایگزین می تواند خطر بروز اسهال در هنگام پیشگیری و درصد تلفات و یا عملکرد در حیوانات مبتلا را به طور معنی داری کاهش دهد.

درمان با استفاده از آنتی بادی‌ها با اتصال اختصاصی با عوامل بیماری‌زا باعث درمان اسهال در دام می شوند. این روش درمان بدون اثر بر فلور طبیعی دستگاه گوارش هیچ گونه تخریب بافتی را در روده کوچک ندارد و همچنین وجود آنتی بادی ها باعث تحریک سلول های تولید کننده آنتی بادی در روده شده و سیستم ایمنی را تقویت می کند.

صفحه ۶ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
--------------	---	---

۲-۲- کلیات فنی طرح

توسعه تولید داروهای حاوی آنتی بادی در داخل کشور بر پایه علوم بیوتکنولوژی (تولید آنتی ژن های نو ترکیب و کشت میکروبی علیه عوامل پاتوژنیک) و علوم ایمنولوژی (تحریک سیستم ایمنی در راستای استفاده از عوامل پاتوژنیک طراحی شده و تولید و استخراج آنتی بادی) صورت می گیرد. بر پایه این فناوری دستاوردهای گسترده ای در پیشگیری، درمان و تشخیص بیماری های انسان، دام و طیور قابل استفاده است، که فارغ از منافع مالی و اقتصادی برای کشورمان دستاوردهای بزرگ سلامتی را برای عموم مردم به همراه دارد. در برنامه توسعه پیش بینی شده در این طرح، راه اندازی یک واحد مستقل و مجزا برای پرورش پرندگان با ظرفیت اولیه ۱۰۰۰۰ پرنده و همچنین یک واحد کارخانه داروسازی با سه بخش مختلف شامل ۱. بخش هایی برای جداسازی، تخلیص و فرآوری آنتی بادی، ۲. بخش میکس و بسته بندی محصول نهایی دارویی و ۳. بخش تولید و جداسازی آنتی ژن های نو ترکیب پیش بینی شده است. لذا این طرح در دو واحد مجزا و در مجموع با زمینی به مساحت ۱۲۰۰۰ متر مربع در بخش های مختلف طراحی شده است. در راه اندازی واحد پرورش پرندگان کلیه امکانات و تجهیزات از داخل کشور تامین می گردد. اما در واحد داروسازی عمده تجهیزات تولید شده در خارج کشور هستند و قیمت ها در سال ۹۷ از نماینده داخلی آنها بدست آمده است و لذا تامین آنها بر اساس بودجه داخلی برنامه ریزی شده است.

۲-۲-۱- جزییات طرح از منظر فنی

به منظور درمان یا پیشگیری، بیماری اسهال ابتدا با شناسایی عوامل پاتوژنیک مراحل تشخیص اپی توپ های سطحی و تشخیص قدرت حداکثری اتصال از منابع علمی تولید آنتی ژن مورد بررسی قرا می گیرد و با توجه به درگیری با عوامل ویروسی (روتاویروس)، باکتریایی و پرتوزایی بترتیب تولید آنتی ژن نو ترکیب و کشت بر روی محیط کشت و تزریق داخل تخم مرغ امکان تولید آنتی ژن را فراهم می سازیم. سپس با تزریق آنتی ژن با ادجوانت های مختلف، تولید آنتی بادی ها صورت می گیرد. بررسی توالی های ژنتیکی اپی توپ مورد نظر، مراحل برای انتقال ژن به باکتری انجام می گیرد و پس از جدا سازی و تشخیص توالی تولید شده پس از طی چهار هفته، نمونه گیری و بررسی غلظت آنتی بادی در آزمایش الیزا میزان کل آنتی بادی و میزان آنتی بادی اختصاصی برآورد و مراحل بررسی اثرات درمانی آنتی بادی مورد نظر آغاز می گردد. این مراحل بر روی جمعیت میکروبی مورد نظر بر روی محیط کشت های اختصاصی بررسی و همچنین بر روی حیوانات آزمایشگاهی یا حیوانات فارمی تست می شود. پس از تایید نتایج اولیه موفقیت در اثر گذاری ماده موثره، فرمول دارویی محصول نهایی آماده و مورد بررسی قرار می گیرد. در کنار این محصول دارو الکترولیت پلاس بمنظور تکمیل روند درمان با این محصول تولید و مصرف می شود. استفاده از اسیدآمین ها، ویتامین ها و با پایه محاسباتی از قند ها و الکترولیت های ضروری با خواص الکالوئیدی مناسب ترکیبی بسیار کارا در روند درمان را آماده ارائه به بازار نموده است. محصول نهایی تولید شده در فرمت های کوچک پر تکرار مورد مصرف قرار گرفته و مراحل جهت تاییده های مرتبط با دارو با سازمان مربوطه آغاز می گردد. در نهایت محصول نهایی با کلیه تاییده ها و گواهی مورد نظر آماده ارائه در بازار های داخلی است. پیش بینی شده است که با انجام این طرح بتوان در بازارهای داخلی میزان ۵۰۰ هزار ساشه از دارو حاوی آنتی بادی و یک میلیون ساشه از دارو الکترولیت پلاس تولید و بفروش رساند.

صفحه ۷ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
--------------	---	---

۲-۲-۲- جزئیات طرح از منظر ساختاری

با پیاده سازی این فناوری، تولید و استخراج آنتی بادی های درمانی برای درمان بیماری های مختلف در انسان و دام آماده بهره برداری می گردد.

۲-۳-۱- اهمیت و جذابیت طرح

بنا بر پیش بینی های صورت گرفته توسط سازمان جهانی بهداشت، مهمترین و اصلی ترین عامل مرگ تا سال ۲۰۵۰ بروز مقاومت های آنتی بیوتیک می باشد و این در حالی است که کشور ما بعنوان یکی از پرمصرفترین، مصرف کنندگان داروهای حاوی آنتی بیوتیک در خطر بروز این مقاومت ها می باشد. لذا ایجاد زیر ساخت هایی برای تولید داروهای نسل جدید برای جایگزینی کردن درمان های مبتنی بر آنتی بیوتیک یک ضرورت حیاتی برای کشور تلقی می گردد.

۲-۳-۲- جذابیت فناورانه

• تاثیر بر جایگاه کشور در منطقه و دنیا/اهمیت استراتژیک

درمان با آنتی بادی از روش های جدید درمان می باشد. این روش درمان، در هنگام مواجه با بیماری های متفاوتی به کمک روش های متداول آمده است. این جایگزینی بخصوص در بیماری هایی که درمان آنها با روش های مرسوم آنتی بیوتیکی انجام نمی گیرد (مانند درمان انواع بیماری های ویروسی) و یا استفاده از آنتی بیوتیک ها باعث بروز خطرات یا محدودیت هایی است (مانند درمان بیماری های پوست و یا درمان بیماری های کودکان و حیوانات تازه متولد شده و یا درمان بیماری های آبزیان) و همچنین این شرایط در مواردی که لازم به استفاده مکرر از آنتی بیوتیک جهت درمان بوده و خطرات بروز مقاومت های آنتی بیوتیکی و سرطان در بافت هایی خاص مواجه می شوند (مانند بیماری های دستگاه گوارش در انسان و حیوانات و یا بیماری های اندام تناسلی در خانم ها) اغلب صورت می گیرد. لذا با استفاده از این تکنولوژی در کشور هایی مانند امریکا، آلمان، کانادا، ژاپن، کره جنوبی و چین محصولات متفاوتی مانند مکمل های غذایی غنی شده با این آنتی بادی ها در ارتباط با کنترل آلودگی های دستگاه گوارش، اسپری ویژه برای درمان و کنترل آلودگی های دستگاه تناسلی بانوان، خمیر، پودر و شربت هایی برای درمان بیماری اسهال در کودکان و حیوانات خانگی و مزرعه ای تولید شده است.

• ایجاد زمینه های جدید

هدف از این پروژه ایجاد زیر ساخت هایی برای انجام تولید داروهای حاوی آنتی بادی منحصر در تولید دارو درمان بیماری اسهال در دام می باشد قطعا این زیر ساخت با انجام هزینه های تکمیلی در بخش توسعه تحقیقات در درمان بسیاری از بیماری ها دیگر قابل تعمیم و کاربرد می باشد.

صفحه ۸ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
--------------	---	---

• تنوع کاربردها

توسعه این فناوری جدید بستری گسترده در پیشگیری، درمان و تشخیص بر روی کشور ما باز خواهد کرد. با استفاده از این تکنولوژی می توان با انجام تحقیقات و توسعه کمی زیر ساخت های تولید در کنترل و پیشگیری در بسیاری از بیماری های ویروسی در انسان، دام و طیور داروهایی را طراحی و تولید نمود. این در حالی است که در کنترل و درمان بسیاری از بیماری های دستگاه گوارش، پوست، بیماری های مقاربتی در انسان می توان طرح های تحقیقاتی را تا رسیدن به محصول نهایی ارائه کرد. با وجود همه این پتانسیل ها باید نگاهی گسترده در تشخیص با استفاده از این تکنولوژی داشت. با داشتن آنتی بادی های اختصاصی بسیاری از کیت های تشخیص در صنعت دام و طیور و در آزمایشگاهی تشخیص طبی قابل استفاده است.

۲-۳-۲- جذابیت اقتصادی

• تولید ثروت

درآمد حاصل از فروش این محصولات تحت عنوان یک روش درمان بدون آنتی بیوتیک معادل با کاهش در مصرف آنتی بیوتیک است که غالباً معادل با صرفه جویی ارزی واردات آنتی بیوتیک می باشد. این دارو با حداکثر تولید نیاز داخل (۲,۵ میلیون ساشه در سال) سرمایه گذاری معادل یکصد میلیارد ریال (پنجاه میلیارد ریالی و پانصد هزار یورو ارزی) می تواند یک میلیون و پانصد هزار یورو در سال صرفه جوئی ارزی به همراه داشته باشد. بدیهی است کاهش مصرف آنتی بیوتیک و افزایش امنیت چرخه غذایی انسان بهره وری قابل توجهی در پی خواهد داشت. اگر هزینه کاهش مقاومت آنتی بیوتیکی در کاهش میزان واردات آنتی بیوتیک انسانی در نظر بگیریم صرفه جوئی ارزی در واردات آنتی بیوتیک انسانی و دامی، ارزش افزوده قابل توجهی را به همراه خواهد داشت. درمان ۲۰ درصد از دام های مبتلا به اسهال توسط دارو درمانگر گاما و دارو الکترولیت پلاس پیش بینی شده است.

• صادرات

سطح گسترده پرورش دام در کشورهای همسایه و همجوار از جمله پاکستان و ترکیه، همچنین حوزه CIS و برخی کشورهای آسیایی مانند هندوستان، حجم قابل توجهی از بازار خارجی را تنها در آسیا می توان رسد کرد. پیش بینی نیاز ایران جهت این دارو ۲,۵ میلیون ساشه در سال است که در دامنه برآورد ۱۲,۵ میلیون ساشه جهت بازارهای آسیایی در یک برنامه پنج ساله قابل تحقق می باشد. به علت جدید بودن تجاری سازی این تکنولوژی در درمان بیماریهای دامی سهم شرکت های رقیب در بازار بسیار اندک و رقبا در حال مطالعه بازار و بررسی های اولیه مراحل تجاری سازی می باشند. با این وصف چنانچه ما بتوانیم سرعت و حجم تولید را در کشورمان بیشتر کنیم به راحتی سهم قابل توجهی از بازار در اختیار خواهد کشور ایران خواهد بود.

صفحه ۹ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
--------------	---	---

• جذابیت اجتماعی

• ارتقای غرور ملی

این محصول می تواند کلیه دامداریهای دام بزرگ و دام کوچک را پوشش دهد و با کاهش و یا قطع مصرف آنتی بیوتیک در درمان دامهای بزرگ و کوچک به صورت غیر مستقیم سلامتی و امنیت تغذیه را در کل جامعه مخاطب خود قرار دهد. بعنوان یکی از پنج کشور فعال در زمینه دانش های نوین درمان و استفاده از آنتی بادی ها می توان به این دستاورد علمی افتخار کرد.

• امنیت ملی

بخش قابل توجهی از درمان در مقابله با بیماری های عفونی در کشور بوسیله آنتی بیوتیک ها در حال انجام است. و این درحالی است که عمده مواد اولیه داروهای حاوی آنتی بیوتیک از خارج کشور وارد می شوند. لذا کاهش به این نیاز روز افزون در کشور ما بوسیله روش های جایگزین درمان بسیار ضروری می باشد.

• کیفیت زندگی و سلامت

همانگونه که پیش از این توضیح داده شد در راستای کنترل مصرف آنتی بیوتیک و جلوگیری از عوارض بروز مقاومت های آنتی بیوتیکی با توسعه روش های درمان ایمن و بی خطر می توان باعث ارتقاء سطح سلامت عمومی جامعه شد.

• اشتغال تخصصی

با توسعه محصولات مختلف و نیاز این دسته از فناوری ها در بخش توسعه و تحقیقات پیش بینی اشتغال برای بیش از ۱۱ متخصص بصورت مستقیم و ۱۲ متخصص به صورت غیر مستقیم را در توسعه کامل این طرح پیش بینی می شود. همچنین با توجه به بازار گسترده تحت پوشش سیستم پخش برای این محصولات پیش بینی می شود تا در سال بیش از ۱۰ نفر بصورت غیر مستقیم در روند فروش و توزیع محصول درگیر شوند.

صفحه ۱۰ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
---------------	---	---

• بازار

• تقاضای بازار

میزان ابتلاء به اسهال در دام های بزرگ به عوامل مختلفی بستگی دارد. این عوامل، شامل سطح و نوع آلودگی در مناطق مختلف جغرافیایی، میزان رعایت اصول ایمنی بهداشت در هر دامپروری، کیفیت منابع آب و غذا، تاسیسات، تجهیزات و امکانات نگهداری از دام می باشد. میزان ابتلاء گوساله ها در دامداری های صنعتی از ۵ تا ۲۰ درصد و در دامداری های سنتی از ۲۰ تا ۵۰ درصد متغیر است. در دام کوچک (بره و بزغاله) میزان ابتلاء بین ۲۰ تا ۵۰ درصد در فصل های مختلف سال در نوسان است.

کسب سهم از بازار پیش بینی شده فوق تابع عواملی چون میزان پراکندگی واحد های دامپروری و سطح دسترسی به آنها، دانش و آگاهی مالکان، حضور یا عدم حضور کارشناسان و متخصصین مرتبط می باشد. داروی درمانگر گاما با عنوان یک روش جدید و اختصاصی برای درمان در بسیاری از دامداری های صنعتی دام بزرگ با توجه و اقبال قابل توجهی رو به رو بوده است و پاسخ به این روش درمان با حضور کارشناسان یا متخصصین با موفقیت قابل انجام است. اما با توجه به روش های متداول و مبتنی بر آنتی بیوتیک و در مواجهه با دامداری های کوچک و سنتی این رویکرد تحت تاثیر قرار می گیرد

طبق آخرین آمارهای منتشر شده توسط مرکز آمار ایران در سال ۹۶، دومیلیون هشت صد هزار دام سنگین در گاوداری های صنعتی و ۶۵ میلیون دام سبک در کلیه دامداری های صنعتی و سنتی پرورش دهنده گوسفند و بز گزارش شده است. با توجه به آمار بالای دام در کشور ما، تولید و عرضه دارو برای این بازار گسترده می تواند پتانسیل های اقتصادی بالایی داشته باشد. برنامه تولید برای تامین ۱۰ الی ۲۰ درصد از بازار داخلی مذکور مد نظر می باشد.

صفحه ۱۱ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
---------------	---	---

۳-۳-۲- میزان رقابت در بازار

یکی از روش های درمان بیماری اسهال در دام های تازه متولد شده در دنیا، استفاده از محصولات مشابه با دارو تولید شده در پژوهشگاه رویان می باشد، بگونه ای که محصولات درمانی مشابهی برای درمان این بیماری در خوک، پرندگان، حیوانات خانگی و دام در شرکت Adbiotech در کره جنوبی تولید شده است و یا در کشور آلمان و در شرکت EW-Nutrition محصولات برای درمان بیماری اسهال در دام با عنوان Dia-Stop تولید شده است. این محصولات در کشور آمریکا و توسط شرکت Tomlyn با عنوان EPIC نیز تولید شده است. توسعه این روش های درمان نشان دهنده امکان استفاده مفید و کارا از این محصولات برای درمان بیماری اسهال است. در کشور ما محصول آلمانی شرکت EW-Nutrition از چهار سال گذشته وارد کشور شده است. این محصول به دلایل مختلف با فراز و نشیب هایی روبه رو بوده است و اکنون در ورود مجدد به بازار ایران تلاش دارد تا پس از چهار سال بتواند سهمی در بازار ایران بدست آورد. این محصول ابتدا در سال ۱۳۹۴ با ورود به چندین گاوداری در سطح شهرستان اصفهان کار خود را آغاز کرد اما به علت دوره مصرف بسیار طولانی این محصول، قیمت بسیار بالا، عدم آموزش و ارائه اطلاعات پس از ورود محصول به دامداری ها، توجیه نادرست اثر گذاری در روند درمان و پیشگیری و عدم ارائه خدمات پس از فروش با شکست مواجه شد.

شرکت EW-Nutrition در شروعی دیگر در سال ۱۳۹۶ شمسی با حضور در نمایشگاه و با نمایندگی جدید خود تلاش هایی را برای توسعه بازار داشت. این تلاش در پاییز امسال با ورود به دامداری هایی در سطح استان تهران و اصفهان جهت معرفی و مصرف اولیه شروع شده است. به نظر می رسد که این محصول با توجه به استعلام قیمتی ارائه شده همچنان بسیار گران است و بازاریابان این مجموعه تلاش دارند تا با توصیه نصف دوز ارائه شده شرکت، علاقمندان را متقاعد به مصرف این محصول کنند. مقایسه محصولات مشابه در جدول ۵ ارائه شده است. در این جدول تلاش شده است با توجه به توصیه های مصرف، قیمت اولیه، قیمت واحد و هزینه درمان هر دام مبتلا ارائه گردد.

جدول ۵: بررسی قیمت محصولات مشابه دارو درمانگر گاما

کشور تولید کننده	آمریکا	آلمان	ایران
نام برند	EPIC	Dia-Stop	درمانگر گاما
نوع بسته بندی	سطل	سطل	ساشه
وزن هر بسته (گرم)	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۱۰۰
قیمت هر بسته (با واحد مرجع)	\$ ۷۵.۹۹	€ ۳۶.۵۰	۴۹.۵۰۰ ریال
قیمت هر بسته (ریال)	۸.۷۰۰.۸۵۵	۳.۵۷۷.۰۰۰	۴۹.۵۰۰
قیمت هر گرم محصول (ریال)	۸۷۰۱	۱۷۸۹	۴۹۵
میزان مصرف روزانه (گرم)	۲۰	۱۰۰	۲۰۰
هزینه درمان روزانه (ریال)	۱۷۴.۰۱۷	۱۷۸.۸۵۰	۹۹.۰۰۰
طول دوره درمان (روز)	۴	۵	۴
هزینه یک دوره درمان (ریال)	۶۹۶.۰۶۸	۸۹۴.۲۵۰	۳۹۶.۰۰۰

صفحه ۱۲ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
---------------	---	---

۲-۴-۲- رقبا

۲-۴-۲-۱- راهکارهای کنونی

راه کار کنونی و جایگزین با دارو تخصصی حاوی آنتی بادی مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها می باشد که بطور گسترده توسط کمپانی های داخلی و خارجی در کشور توزیع می شوند.

۲-۴-۲-۲- مزیت رقابتی راه کار فعلی

از مزایای استفاده از این دارو می توان به کاهش احتمال بروز بیماری با استفاده از دارو در پیشگیری از اسهال، خطر درگیری با عوامل عمده ایجاد کننده اسهال را کاهش می دهد. لذا گاوداران با توجه به اثرات مضر بیماری اسهال بر روند رشد و عملکرد گوساله ها طی دوران رشد، می توانند با استفاده از این محصول تعداد گوساله های درگیر با بیماری اسهال را کاهش دهند. مصرف این دارو مخصوصا برای فصول گرم سال و همچنین در گوساله های ضعیف که احتمال ابتلا به این بیماری در آنها بسیار بالا است، توصیه می شود. همچنین از دیگر مزایای آن، روش ساده مصرف این دارو است. از آنجایی که درمان گوساله های مبتلا به انواعی از اسهال های عفونی با روش های مختلفی صورت می گیرد، که می توان به مواردی چون درمان های تغذیه ای با آنتی بیوتیک های خوراکی، تزریقات متعدد آنتی بیوتیک ها به همراه تزریق ویتامین های K، E و B کمپلکس و همچنین سرم درمانی اشاره کرد. استفاده از این دارو برای درمان اسهال گوساله بسیار آسان و سریع صورت می گیرد. گاوداران پس از مشاهده اسهال با مخلوط کردن دارو با حجم مشخصی از شیر دو بار در روز، طی یک دوره درمان سه تا پنج روزه گوساله مبتلا به اسهال را درمان می کنند.

۳- اجرا

۳-۱- برنامه بازاریابی / تجاری سازی / فروش

با توجه به ماهیت دارویی این محصولات، روند پخش و توزیع با سازوکار شرکت های پخش یکی از روش های سریع و کم هزینه در توزیع و پخش دارو در گستره پراکنده مشتریان خواهد بود. توزیع محصولات توسط مراکز پخش و فروش بوسیله داروخانه ها صورت خواهد گرفت. لذا برای ورود به این عرصه اطلاعاتی را از مراکز پخش سراسری و داروخانه ها اخذ کردیم و میزان حق العمل پخش و فروش توسط فعالان در این بخش را معیار اولیه تعیین حق العمل فروش قرار دادیم و با در نظر گرفتن ویژگی ها محصولات، هزینه های واحد بازاریابی برآورد شده است.

صفحه ۱۳ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
---------------	---	---

۳-۲- عملیات اجرایی

۳-۲-۱- محل اجرای طرح و زیرساخت‌ها

فعالیت‌های صورت گرفته تا کنون در فارم تحقیقاتی پژوهشکده زیست فناوری رویان در اصفهان صورت گرفته است که با راه اندازی دو سایت پرورش پرندگان، آزمایشگاه میکروبیولوژی و آزمایشگاه آنتی بادی به صورت مستقر به فعالیت‌های جاری خود ادامه داده است. این مجموعه در ساختمانی با مساحت ۲۵۰ مترمربع مستقر در فارم این پژوهشکده بخش‌هایی را در بعنوان واحد اداری و فروش نیز راه اندازی کرده است که هم اکنون شش نفر در این مکان در حال فعالیت هستند. با توجه به بازار گسترده پیش بینی شده برای این محصول و تقاضای فراوان از مشتری‌های فعلی این زیر ساخت امکان ارائه محصول برای توسعه بازار را ندارد و پیش بینی می‌شود که این بخش در برنامه توسعه واحد تحقیقاتی مورد استفاده قرار گیرد.

۳-۲-۲- تجهیزات و مواد اصلی مورد نیاز

در طرح توسعه پیش بینی شده راه اندازی یک واحد مستقل و مجزا برای پرورش پرندگان با ظرفیت اولیه ۱۰۰۰۰ پرنده و همچنین یک واحد کارخانه داروسازی با سه بخش مختلف شامل ۱. بخش‌هایی برای جداسازی، تخلیص و فرآوری آنتی بادی، ۲. بخش میکس و بسته بندی محصول نهایی دارویی و ۳. بخش تولید و جداسازی آنتی ژن‌های نو ترکیب پیش بینی شده است. لذا این طرح در دو واحد مجزا و در مجموع با زمینی به مساحت ۱۲۰۰۰ متر مربع در بخش‌های مختلف طراحی شده است. در راه اندازی واحد پرورش پرندگان کلیه امکانات و تجهیزات از داخل کشور تامین می‌گردد. اما در واحد داروسازی عمده تجهیزات تولید شده در خارج کشور هستند و قیمت‌ها در سال ۹۷ از نماینده داخلی آنها بدست آمده است و لذا تامین آنها بر اساس بودجه داخلی برنامه ریزی شده است.

۳-۳- مجوز و استاندارد

۳-۳-۱- استانداردهای مورد نیاز

تولید محصول حاوی آنتی بادی با تامین میزان مشخصی از آنتی بادی بعنوان ماده موثره دارویی و با رعایت اصول GMP صورت گیرد. قطعا تولید این دسته از محصولات به صورت انفرادی مراحل را برای اثبات اثرات درمانی و تایید دوز مصرف و میزان ماده موثره دارد.

۳-۳-۲- مجوزهای مورد نیاز

جهت ورود این محصول در روند تولید و تجاری سازی لازم به اخذ مجوز از کمیسیون داروهای تخصصی سازمان دامپزشکی کل کشور می‌باشد. که روند اخذ این تاییده از سال ۹۶ آغاز و در سال ۹۷ موفق به اخذ آن شد.

۳-۳-۳- پروانه‌های مورد نیاز

جهت اخذ پروانه تولید مدارک اولیه ارائه شده است و تا کنون موفق به اخذ پروانه بهداشتی شده ایم و با تکمیل اطلاعات با آن سازمان تلاش داریم تا مجوز نهایی تولید این محصول را کسب کنیم.

صفحه ۱۴ از ۲۲	دستر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
---------------	--	---

۳-۴- شرح خدمات، زمان بندی و فاز بندی طرح

جدول شکست کار به پیوست می باشد.

۳-۵- شاخص ها و مقاطع گزارش دهی

پیش بینی در پیشرفت پروژه در بازه های زمانی شش ماهه صورت می گیرد. هرچند در روند تکمیل واحدهای در حال ساخت گزارش ها ارائه خواهد شد.

۳-۶- برآوردهای مالی و هزینه های طرح

۳-۶-۱- هزینه های پرسنلی

ردیف	نام و نام خانوادگی	میزان تحصیلات	مسئولیت در طرح	هزینه همکاری در ماه (ریال)	تعداد ماههای همکاری	جمع هزینه در دو سال (میلیون ریال)
۱	سیروس قائدی (فیزیولوژی تغذیه)	کارشناس ارشد	مجری اول	۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۲۴	۱,۲۰۰
۲	سید مهدی سیدین (مدیریت بازرگانی)	کارشناس ارشد	مجری دوم	۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۲۴	۱,۲۰۰
۳	محمد حسین نصر اصفهانی (جنین شناسی)	دکتری	همکار اصلی طرح	۵۵,۰۰۰,۰۰۰	۱۰	۵۵۰
۴	مشاور طراحی محصول	دکتری	مشاور طرح	۴۰,۰۰۰,۰۰۰	۵	۲۰۰
۵	کارشناس آزمایشگاه (۳ نفر)	کارشناس ارشد	همکار طرح	۲۹,۰۰۰,۰۰۰	۲۰	۱,۱۶۰
۶	تکنسین (۳ نفر)	دیپلم	پشتیبانی طرح	۱۸,۰۰۰,۰۰۰	۱۵	۸۱۰
جمع (میلیون ریال)						۵۱۲۰

۳-۶-۲- هزینه خرید خدمات تخصصی (تخلیص و بسته بندی)

ردیف	شرح کالا	واحد	تعداد	هزینه واحد (ریال)	هزینه کل (میلیون ریال)
------	----------	------	-------	-------------------	------------------------

صفحه ۱۵ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
---------------	---	---

ردیف	شرح کالا	واحد	تعداد	هزینه واحد (ریال)	هزینه کل (میلیون ریال)
۱	بسته بندی دارو	ساشه ۱۰۰ گرمی	۱۰۰۰۰۰۰	۵۰۰	۵۰۰
۲	بسته بندی الکترولیت پلاس	ساشه ۱۰۰ گرمی	۳۰۰۰۰۰۰	۵۰۰	۱۵۰۰
۳	هزینه خرید خدمت جهت فرآوری و تخلیص مواد موثره	ساشه ۱۰۰ گرمی	۱۰۰۰۰۰۰	۳۸۳۰	۳۸۳۰
۴	هزینه اجاره سایت نگهداری پرند	قطعه	۱۰۰۰۰	۴۰۰۰۰	۴۰۰
۵	جمع (میلیون ریال)				۶۲۳۰

۳-۶-۳- هزینه مواد اولیه و مصرفی مورد نیاز

ردیف	نام ماده مصرفی	کشور تأمین کننده	تعداد/ مقدار (با ذکر واحد)	قیمت واحد (ریال، یورو)	قیمت کل (میلیون ریال)
۱	هزینه مواد اولیه مستقیم ریالی به ازاء هر ساشه درمانگر گاما (ساشه)	ایران	۱,۰۰۰,۰۰۰	۲۷۲۱	۲۷۲۱
۲	هزینه مواد اولیه غیر مستقیم ارزی به ازاء هر ساشه درمانگر گاما (ساشه)	آلمان	۱,۰۰۰,۰۰۰	۰,۰۱۸ €	۱۸,۰۰۰ €
۳	مواد اولیه اضافه شده به محصول نهائی حاوی آنتی بادی (ساشه)	ایران	۱,۰۰۰,۰۰۰	۲۹۵۳	۲۹۵۳
۴	مواد اولیه اضافه شده به محصول نهائی حاوی الکترولیت (ساشه)	ایران	۳,۰۰۰,۰۰۰	۲۵۱۸	۷۵۵۴
۵	کارتن مستر	ایران	۴۰,۰۰۰	۱۵,۰۲۳	۶۰۰
۶	دایکات	ایران	۱۶۰,۰۰۰	۱۲,۰۰۰	۱۹۲۰
۷	فویل بسته بندی ساشه	ایران	۴,۰۰۰,۰۰۰	۱۰۰	۴۰۰
۸	جمع کل گردش ریالی با توجه به گردش مالی سالیانه				۱۶۱۵۰
	هزینه ارزی مواد اولیه مورد نیاز مواد مصرفی در هر پارت واردات (یورو)				۱۸,۰۰۰ €

صفحه ۱۶ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
---------------	---	---

۳-۶-۴- هزینه دستگاه ها و تجهیزات مورد

ردیف	نام دستگاه و تجهیزات	تعداد / مقدار (با ذکر واحد)	کشور سازنده	کاربرد دستگاه	قیمت واحد (ریال)	قیمت کل (میلیون ریال)
۱	میکسر پودر با چگالی متفاوت	۱	ایران	داروسازی	۴۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۴۵۰
۲	اسپری درایر	۲	ایران	داروسازی	۱,۵۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۳,۰۰۰
۳	میکسر مایع دارویی با حجم ۵۰۰ لیتر	۱	ایران	داروسازی	۵۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۵۰۰
۴	هود بیولوژیک	۲	ایران	داروسازی	۱۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۳۰۰
۵	هود آزمایشگاهی	۲	ایران	داروسازی	۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۱۰۰
۶	نوکواسپری	۱	ایران	داروسازی	۴۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۴۵۰
۷	سردخانه (متر مکعب)	۴۰	ایران	داروسازی	۳۰,۰۰۰,۰۰۰	۱,۲۰۰
۸	سانتریفیوژ بزرگ نیمه صنعتی	۲	ایران	داروسازی	۲,۸۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۵,۷۰۰
۹	پی اچ متر	۲	ایران	داروسازی	۴۲,۵۰۰,۰۰۰	۸۵
۱۰	ست سمپار	۲	ایران	داروسازی	۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۱۰۰
۱۱	انکوباتور دیجیتال	۲	ایران	داروسازی	۱۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۳۰۰
۱۲	بن ماری ۱۵ لیتری	۱	ایران	داروسازی	۲۰,۰۰۰,۰۰۰	۲۰
۱۳	فور ۵۵ لیتری محفظه استیل	۲	ایران	داروسازی	۲۰,۰۰۰,۰۰۰	۴۰
۱۴	فرمانتور	۲	ایران	داروسازی	۳,۰۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۶,۰۰۰
۱۵	شیکر و استیرر	۲	ایران	داروسازی	۳۷,۰۰۰,۰۰۰	۷۴
۱۶	میکروسکپ بیولوژی	۱	ایران	داروسازی	۲,۳۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۲,۳۰۰
۱۷	ترازوی دیجیتال	۲	ایران	داروسازی	۱۱۰,۰۰۰,۰۰۰	۲۲۰
۱۸	اتوکلاو	۱	ایران	داروسازی	۷۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۷۰۰
۱۹	جک پالت	۱	ایران	داروسازی	۵۷,۰۰۰,۰۰۰	۵۷
۲۰	الک با مش ۱۲، ۱۴، ۱۶	۳	ایران	داروسازی	۳۰,۰۰۰,۰۰۰	۹۰
۲۱	سیستم آب رسانی و دفع فاضلاب (متر طول)	۳۶۳	ایران	داروسازی	۱,۱۰۰,۰۰۰	۳۹۷
۲۲	سیستم های متفرقه موتورخانه شامل پمپ ها، مبدل های حرارتی، مخازن ذخیره (دستگاه)	۲	ایران	داروسازی	۳۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۷۰۰
۲۳	سیستم اطفاء حریق (سری کامل)	۱	ایران	داروسازی	۱۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۱۰۰
۲۴	برق رسانی و تابلوها (دستگاه)	۱۰۰۰	ایران	داروسازی	۷۰۰,۰۰۰	۷۰۰
۲۵	سیستم گرم کننده و خنک کننده (دستگاه)	۲	ایران	سایت	۱۰۵,۰۰۰,۰۰۰	۲۱۰

صفحه ۱۷ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
---------------	---	---

		پرندگان				
۳۰	۵,۰۰۰,۰۰۰	سایت پرندگان	ایران	۶	هواکش جهت تهویه هوا (دستگاه)	۲۶
۲۵۵	۲۵۵,۰۰۰,۰۰۰	سایت پرندگان	ایران	۱	سیستم هواساز ایزوله (دستگاه)	۲۷
۵۰۰	۵۰,۰۰۰	سایت پرندگان	ایران	۱۰۰۰۰	تجهیزات نگهداری از پرنده (قطعه)	۲۸
۲	۳۰۰,۰۰۰	سایت پرندگان	ایران	۶	رطوبت سنج و دماسنج (عدد)	۲۹
۲۴۵۸۰	مجموع هزینه تأسیسات و تجهیزات مورد نیاز داخلی (میلیون ریال)					

۳-۶-۵- هزینه های تامین زیر ساخت

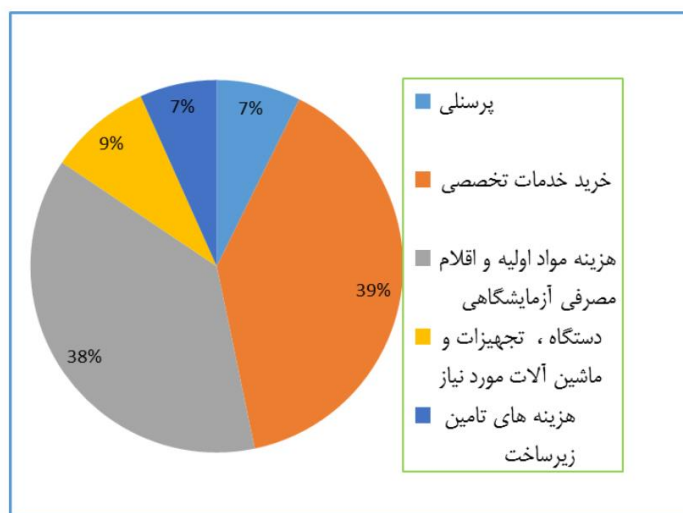
ردیف	عنوان هزینه	واحد پول	مبلغ هزینه
۱	هزینه آماده سازی زمین و محوطه سازی	۵۰۰	۵۰۰
۲	هزینه ساختمان سازی	۱۳۷۸۰	۱۳۷۸۰
۳	وسایل نقلیه	۱۰۰۰	۱۰۰۰
۴	وسایل و تجهیزات اداری	۷۰۰	۷۰۰
۵	هزینه های قبل از بهره برداری	۱۴۰	۱۴۰
	جمع کل:	جمع کل:	۱۶۱۲۰

صفحه ۱۸ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
---------------	---	---

مجموع هزینه‌ها (جدول و نمودار)

ردیف	نوع هزینه	هزینه ریالی (میلیون ریال)	هزینه ارزی (یورو)
۱	نیروی انسانی	۵۱۲۰	
۲	وسایل و مواد مصرفی	۱۶۱۵۰	۱۸۰۰۰€
۳	دستگاه‌ها و تجهیزات و ماشین آلات مورد نیاز	۲۴۵۸۰	
۴	خرید خدمات تخصصی	۶۲۳۰	
۵	هزینه های تامین زیر ساخت	۱۶۱۲۰	
۶	جمع کل هزینه‌های طرح (میلیون ریال - یورو):	۶۸۲۰۰	۱۸۰۰۰€
۷	جمع کل هزینه های طرح (میلیون ریال):	۷۰۰۰۰	

* برابری یورو ۱۰۰۰۰۰ ریال



صفحه ۱۹ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
---------------	---	---

۴- اطلاعات مجری

۵- معرفی مجری

اجرای پروژه توسط پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست فناوری می باشد مسئولیت اجرای پروژه در این مرکز توسط آقای سیروس قانندی و زیر نظر ریاست پژوهشکده زیست فناوری، جناب آقای دکتر نصر اصفهانی انجام می گیرد. آقای سیروس قانندی با مدرک کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی از دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان از سال ۱۳۹۳ و پس از انجام فعالیت های پاره وقت مطالعاتی در بین سال های ۸۸ تا ۹۲ با این پژوهشکده آغاز به همکاری نمود. فعالیت های ایشان در این پروژه پس از راه اندازی طرح تحقیقاتی در سال ۹۳ منجر به تولید اولیه محصول در فاز آزمایشگاهی شد.

محصول آزمایشگاهی تولید شده پس از طی مراحل مختلف تست های آزمایشگاهی و فارمی، در انتهای سال ۹۴ برنامه ای را برای تکمیل دارو، ایجاد بسته بندی مناسب و طراحی سیستم فروش ادامه مسیر داد. فروش داروهای تولید شده تحت عنوان یک محصول تحقیقاتی از سال ۹۵ به تعداد محدودی از دامداری های سطح اصفهان انجام شد.

لذا آگاهی کافی از کلیه روندهای مرتبط با این پروژه و موفقیت در اجرای پروژه پایلوت در سال های اخیر توسط ایشان دلیل اصلی در انتخاب او برای اجرای فازهای بعدی توسعه این فناوری می باشد.

۶- سوابق مجری

۷- سوابق فنی-صنعتی مجری در رابطه با موضوع طرح

کلیه اطلاعات در سوابق علمی ثبت شده است

صفحه ۲۰ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
---------------	---	---

۷-۱-۱- سوابق علمی مجری در رابطه با موضوع طرح

سوابق تحصیلی :

مدرک کارشناسی از دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان در رشته مهندسی کشاورزی گرایش علوم دام
مدرک کارشناسی ارشد از دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان در گرایش فیزیولوژی
کتاب و مقالات منتشر شده :

اثر منابع اسید های چرب مگا ۳ و امگا ۶ بر غلظت هورمون های تیروئیدی مرغ مادر (۱۳۹۱/۰۴/۲۷) دومین کنفرانس تخصصی صنعت طیور
اثر اسید های چرب با چند پیوند دوگانه بر رشد رویان و عملکرد تولید مثلی مرغ مادر (۱۳۹۱/۰۴/۲۷) دومین کنفرانس تخصصی صنعت طیور
تخمیر پذیری در انتهای دستگاه گوارش شتر مرغ (۱۳۹۱/۰۴/۲۷) دومین کنفرانس تخصصی صنعت طیور
یوتکتولوژی تخم مرغ: روش های تولید آنتی بادی در تخم مرغ (۱۳۹۱/۰۴/۲۷) دومین کنفرانس تخصصی صنعت طیور

Effects of supplementing native rooster diet with polyunsaturated n-۳ and n-۶ fatty acids on testis histology (۲۰۱۳) British Society of animal science (BISAS)

Effects of dietary polyunsaturated n-۳ and n-۶ fatty acids on hatched egg weight loss of native broiler (۲۰۱۳) British Society of animal science (BISAS)

گواهنامه های تخصصی- علمی اخذ شده:

Microwave Technology Application in agriculture Workshop (۲۰۱۰) دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

کارگاه کلونینگ ژن (Gene Cloning Workshop) مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه شهید چمران اهواز

(DNA Extraction, Electrophoresis and PCR) (مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی (۱۳۹۰) کارگاه تکنیک های بیولوژی مولکولی دانشگاه شهید چمران اهواز

Antibody Design Workshop (۱۳۹۵) دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

ثبت اختراع:

فرآیند تولید، جداسازی و تخلیص آنتی بادی ها برای درمان اسهال در دام

طراحی و تولید خوراک های پرچرب برای ایجاد القای چاقی و بیماری های متابولیکی در حیوانات آزمایشگاهی

تولید موش های مبتلا به دیابت نوع دوم بوسیله خوراک های حاوی AGEs و کم تحرکی

توانایی های علمی و تخصصی:

آشنایی با روندهای کشت و شمارش میکروب ها

آشنایی با تکنیک الیزه آنتی بیوگرام

آشنایی با روند های جداسازی DNA, PCR و کلونینگ ژن

۷-۲- تیم اجرایی، همکاران و مشاوران

۷-۲-۱- تیم اجرایی

سپروس قاندى / مجرى

سید مهدی سیدین / مجری

صفحه ۲۱ از ۲۲	دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی عنوان طرح: تکمیل دانش فنی و تولید داروی نو ترکیب ضد اسهال دام	
---------------	---	---

۷-۲-۲- همکاران

| |

۷-۲-۳- مشاوران

[Click here to enter text.](#)

۷-۳- اطلاعات تماس

نام	مجری اول: سیروس قاندي مجری دوم: سيدمهدی سيدین
سیمت	مجری طرح
شماره همراه	۰۹۱۳۳۰۵۸۴۸۹ ۰۹۱۲۸۹۲۴۴۵۰
شماره ثابت	۰۳۱۹۵۰۲۵۶۸۱
ایمیل	Sirous.ghaedi@gmail.com seyedain@gmail.com
نشانی	اصفهان، خیابان مشتاق دوم، خیابان باغ مشهد، کوچه شماره ۳، انتهای کوچه ساختمان گلسا، طبقه همکف شرقی

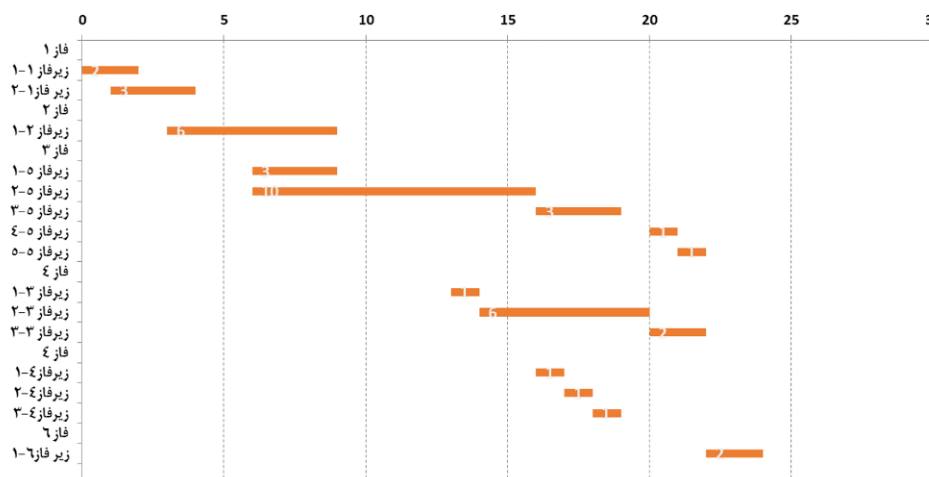
رئیس پژوهشگاه زیست فناوری
محمد حسین نصر اصفهانی

مجری اول / مجری دوم
سیروس قاندي / سيدمهدی سيدین

رئیس پژوهشگاه رویان
عبدالحسین شاهوردی

معاون پژوهشی پژوهشگاه رویان
پروانه افشاریان

۸- پیوست شماره ۱: شرح خدمات و برنامه زمان بندی



پیوست ۲: قرارداد با داروسازی ریحان نقش جهان

تاریخ: ۹۸/۱۱/۲۴
شماره: ۳۹۱۶
پیوست:



مجلس



وزارتخانه روپان

پژوهشگاه‌های:
علوم سلولی
پزشکی تولیدمثل
بیوتکنولوژی جانوری

«قرارداد»

با توجه به ضوابط تولید قراردادی که از طرف معاونت دارویی سازمان غذا و دارو طی نامه شماره ۶۶۵/۱۱۷۰۶۳ مورخ ۹۱/۱۱/۲۴ به شرکت های دارویی اعلام گردیده است این قرارداد فیما بین پژوهشگاه روپان به نمایندگی آقای رضا عظیمی به آدرس تهران، میدان بنی‌هاشم تلفن: ۰۲۱۲۳۵۶۲۶۳۴ که در این قرارداد کارفرما نامیده می‌شود، از یک طرف و شرکت داروسازی ریحان نقش جهان دارای شناسه ملی ۱۰۲۶۰۴۲۳۴۵۰ کد اقتصادی ۴۱۱۷۳۸۴۵۶۸۴ به نشانی: اصفهان شهرک صنعتی جی خیابان ۱۱ فرعی ۹ پلاک ۳۳ تلفن: ۰۳۱-۵۷۲۱۷۱۰ به نمایندگی خانم قاضی عسکر که در این قرارداد تولید کننده نامیده می‌شود از طرف دیگر به منظور تولید انواع پودرهای مکمل دامی به شرح بند ۱ منعقد می‌گردد و طرفین متعهد به اجرای آن می‌باشند.

۱. موضوع قرارداد

۱-۱) پرکردن پودر همراه با بسته‌بندی در ساشه یا قوطی پلی اتیلنی با لیبل چاپ شده و درج سری ساخت، تاریخ تولید و انقضاء بر روی فراورده و کارتن نمودن آنها بر اساس سفارش کارفرما به استناد پروانه ساخت صادره از سازمان دامپزشکی

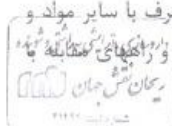
۲. مدت قرارداد

۲-۱) طول مدت قرارداد از تاریخ ۱۳۹۸/۰۹/۰۹ لغایت ۱۳۹۹/۰۹/۰۹ به مدت یک سال می‌باشد که در این مدت کارفرما مبادرت به گرفتن پروانه ساخت و تهیه وسایل بسته بندی محصول می‌نماید.
۲-۲) این مدت با توافق طرفین با تنظیم الحاقیه قابل تمدید می‌باشد.

۳. تعهدات کارفرما

۳-۱) تهیه کلیه مدارک جهت تشکیل پرونده محصول طبق مقررات سازمان دامپزشکی بعهده کارفرما می‌باشد.
۳-۲) کارفرما موظف است کلیه اطلاعات لازم که برای اجرای قرارداد مورد نیاز است را در اختیار تولید کننده قرار دهد.
۳-۳) کارفرما متعهد است تصویر پروانه محصول را در جهت اطلاع به تولید کننده تسلیم نماید.
۳-۴) کارفرما موظف است اطلاعات لازم درمورد مشخصات محصول برای آزاد سازی را به تولید کننده اعلام نماید.
۳-۵) مسئولیت و انجام آزادسازی توزیع و جمع آوری محصول از بازار و نیز بررسی و پاسخ گویی به شکایات بر عهده کارفرما می‌باشد.

۳-۶) کارفرما متعهد است اطلاعات لازم از نظر آلودگی‌های متقابل مواد مورد مصرف با سایر مواد و داروها و خطرات آن برای کارکنان و راههای پیشگیری از خطرات زیست محیطی و راههای مشابه تهیه و اعلام نماید.





تاریخ: ۹۸/۱۰/۵
شماره: ۸۹۸/۱۹۳۴۱۶
پوست:



بفایده



پژوهشگاه رویان

پژوهشکده‌های:
علوم سلولی
پزشکی تولیدمثل
بیوتکنولوژی جانوری

ثالث داخلی و خارجی غیر از اداره کل نظارت بر امور دارو و مواد مخدر در صورت درخواست کارفرما از سوی تولید کننده در قبال اخذ هزینه مربوطه قابل انجام خواهد بود.

۵. مواد و ملزومات انجام کار

۵-۱) تهیه و تامین و تدارک مواد مورد نیاز برای اجرای این قرارداد شامل مواد اولیه و مواد بسته‌بندی و سایر اقلام لازم به عهده کارفرما می‌باشد و در محل کارخانه تولید کننده تحویل خواهد شد.

۵-۲) تهیه، تامین و تدارکات ماشین آلات و تجهیزات و پرسنل جهت اجرای قرارداد به عهده تولید کننده می‌باشد.

۵-۳) آن بخش از مواد که با توافق طرفین توسط تولید کننده تهیه و تدارک شود، کلیه مبالغ مربوطه مطابق فاکتور ارائه شده از سوی مجری، محاسبه و از کارفرما اخذ می‌شود.

۵-۴) تولید کننده متعهد است با رعایت دستورالعمل‌های مربوط به تولید هر محصول و یا وضع دستورالعمل‌های جدید و رعایت استانداردهای مربوطه خطر ایجاد ضایعات غیر متعارف را کاهش دهد و در صورت ایجاد ضایعات غیر متعارف برای انجام اقدامات اصلاحی و یا تولید جایگزین دستمزد دریافت نخواهد کرد. (ضایعات متعارف حداکثر ۳ درصد منظور خواهد شد)

۶. مبلغ قرارداد و نحوه پرداخت

۶-۱) مبلغ موضوع قرارداد به ازای هر ساشه ۵۰ گرمی ۱۰۰۰۰ ریال و هر قوطی ۲۰۰ گرمی ۷۰۰۰ ریال تعیین شده است. هزینه دستمزد به صورت سالیانه و با توافق طرفین قابل بازنگری است. این هزینه شامل پرکردن و درج سری ساخت، تاریخ تولید و انقضاء بر روی فراورده و کارتن نمودن آنها برای حداقل ۳۰۰۰۰ عدد می‌باشد.

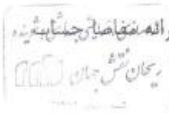
۶-۱-۱) در صورتی که انجام سفارش کارفرما موجب انجام شستشو و نظافت خاصی علاوه بر روال جاری شود به ازای هر روز نظافت ۸۰۰۰۰۰ ریال بعلاوه هزینه مواد مصرفی از کارفرما اخذ خواهد شد.

۶-۲) کارفرما در هر نوبت که به تولید کننده سفارش تولید می‌دهد می‌بایست معادل ۵۰ درصد دستمزد تعداد سفارش را بعنوان پیش پرداخت در وجه تولید کننده پرداخت نماید و بقیه بعد از تولید محصول و تسویه حساب نقدی تحویل کارفرما خواهد شد.

۶-۳) پرداخت قیمت موادی که توسط تولید کننده تهیه می‌شود طبق بند ۲-۵ فوق محاسبه و قبل از تولید نسبت به پرداخت نقدی آن اقدام نماید و در حال تحویل محصول منوط به پرداخت بهای کامل کارمزد مذکور در بند ۲-۶ فوق و بهای کامل مواد مزبور می‌باشد.

۶-۴) مالیات بر ارزش افزوده هم مطابق قانون مربوطه ذیل فاکتور تولید کننده منظور و از کارفرما دریافت خواهد شد.

۶-۵) از هر پرداخت به میزان ۵٪ به میزان سپرده بیمه کسر و در پایان قرارداد با ارائه مستندات جهت بازپس گرفتن بیمه به تولید کننده مسترد می‌گردد.



(Signature)



تاریخ: ۹۸/۳/۲۵
شماره: ۹۷/۳۴۱۶
پوست:



وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

سازمان مدیریت و برنامه ریزی
جمهوری اسلامی ایران

۷. سایر شرایط

- ۷-۱) برنامه تولید با توافق طرفین به صورت سالیانه و در دوره های سه ماهه تعیین می گردد. این برنامه قبل از شروع هر دوره سه ماهه قابل بازنگری است.
- ۷-۲) طرفین متعهد می گردند که مفاد ضوابط ساخت قراردادی را که طی نامه شماره ۶۴۵/۱۱۷۰۶۳ مورخ ۹۱/۱۱/۲۴ اداره کل نظارت بر امور دارو و مواد مخدر ابلاغ گردیده است را رعایت نمایند.
- ۷-۳) هر یک از طرفین متعهد به حفظ اسرار و اطلاعات محرمانه طرف دیگر می باشند و تنها در صورت لزوم مجاز به افشای اطلاعات محرمانه به مراجع ذیصلاح و قانون است.
- ۷-۴) تولید و آزمایش محصولات به صورت آزمایشی و تهیه مستندات مربوطه مشمول این قرارداد نمی باشد و مستلزم بررسی و توافقات جداگانه است.

۸. فسخ قرارداد

- ۸-۱) فسخ قرارداد با اعلام کتبی ۳ ماه از اجرای عملیات فسخ توسط هر یک از طرفین صورت خواهد گرفت.
- ۸-۲) فسخ قرارداد به نحوی صورت می گیرد که مواد اولیه محصول و کلیه تمهیدات به عمل آمده توسط هر یک از طرفین برای تولید محصول ضایع نگردد.

۹. تغییر نشانی

اقامتگاه طرفین بشرحی است که در صدر قرارداد ذکر شده است هرگونه مکاتبه و ابلاغ کتبی می بایستی پست سفارشی و یا فاکس به نشانی های فوق ارسال گردند. هر یک از طرفین می بایست دیگری را از هر گونه تغییر مطلع و در غیر اینصورت مکاتبات انجام شده و ارسال اوراق به نشانی قبلی ابلاغ محسوب می شود.

۱۰. حکمیت

در صورت اختلاف در اجرای این قرارداد طرفین بدو" با روحیه تفاهم و برادری حل مشکل خواهند پرداخت و در صورت استمرار مشکل موضوع از طریق مراجع قضایی ذیصلاح رسیدگی خواهد شد.

۱۱. موارد غیر قابل پیش بینی و حوادث غیر مترقبه

بروز سوانح از قبیل سیل، زلزله، جنگ و یا حذف دارو از فارماکوپه و یا تدوین قوانین جدی و محدودیت های دولتی جزء موارد غیر قابل پیش بینی تلقی می شود که در این صورت قرارداد کان لم یکن و کارفرما موظف به تسویه تا مرحله اجراء شده خواهد بود.

۱۲. قرارداد

این قرارداد در ۱۲ ماده و دو نسخه که هر یک حکم واحد دارند تهیه و به امضاء طرفین رسیده و از تاریخ ۹۷/۰۷/۲۰ رسمیت خواهد داشت.

پژوهشگاه رویان
کارفرما
۱۳۹۱
پژوهشگاه رویان

شرکت دارو سازی ریحان نقش جهان
تولید کننده
۱۳۹۱

پیوست شماره ۳: قرار داد با داروسازی امین

شماره: ۹۹۹۹۲-۱۹
تاریخ: ۱۳۹۹/۳/۱۹
پیوست:



«بسمه تعالی»

توافقنامه تولید قراردادی محصولات دامی

این قرارداد فیما بین شرکت زیست فناوران رویان ایمن (سهامی خاص) با شناسه ملی ۱۴۰۰۸۹۹۷۸۳۳ و شماره ثبت ۵۵۴۸۷۵ اصفهان و کد اقتصادی ۴۱۱۶۵۹۱۱۶۸۱۸ به مدیریت آقای سیروس قائدی مدیر عامل و به نشانی: اصفهان، فلکه خوراسگان، خیابان سلمان، خیابان رویان، پژوهشکده زیست فناوری رویان و کد پستی ۸۱۵۸۹۶۸۴۳۳ و تلفن: ۰۳۱-۹۵۰۱۵۶۸۰ که در این قرارداد کارفرما نامیده می شود از یک طرف و شرکت داروسازی امین (سهامی عام) با شناسه ملی ۱۰۲۶۰۰۶۳۲۵۸ و شماره ثبت ۲۶۷ فلاورجان و کد اقتصادی ۹۸۷۱-۷۵۳۳-۴۱۱۱ به نمایندگی آقایان دکتر محمدمهدی حقوقی مدیرعامل و نایب رئیس هیئت مدیره و سیدمحمد سادات عضو هیئت مدیره به نشانی: اصفهان، فلاورجان، بخش پیریکران، شهر بهاران، بلوار خلیج فارس کد پستی ۲۳۳۴۴-۸۲۵۹۱-۰۳۱ تلفن: ۰۳۱-۳۷۴۸۰۱۷۰ که در این قرارداد تولید کننده نامیده می شود از طرف دیگر، در موضوع ذیل منعقد گردیده که طرفین متعهد به اجرای آن می باشند.

ماده ۱- موضوع قرارداد:

تولید و بسته بندی انواع دارو و مکمل های دامی به شرح مندرج در پیوست شماره یک شامل ساخت و بسته بندی به تعداد مورد توافق برای هر دارو در هر سال.

ماده ۲- مدت قرارداد:

مدت قرارداد از تاریخ ۹۹/۰۳/۱۳ به مدت یک سال میباشد که متناسب با رضایت همکاری و داشتن مجوز از سازمان دامپزشکی قابل تمدید است.

ماده ۳- تعهدات کارفرما:

۳-۱- کارفرما موظف است این قرارداد را قبل از شروع به کار، به تأیید سازمان دامپزشکی رسانده و مراتب را کتباً به اطلاع تولید کننده برساند.

۳-۲- کارفرما بایستی کلیه اطلاعات لازم برای ساخت، کنترل و بسته بندی محصول را مطابق با پروانه ساخت صادره از سازمان دامپزشکی به طور کامل در اختیار تولید کننده قرار دهد و هرگونه اطلاعات از نظر خطراتی که ممکن است در مورد مواد و وسایل، پرسنل، ساختمانها و آلودگیهای متقابل با محصولات دیگر یا خطرات زیستی محیطی پیش آید را در اختیار تولید کننده قرارداد در غیر این صورت هر گونه خساراتی که حادث شود به عهده کارفرما بوده و بر اساس برآورد تولید کننده به وی پرداخت خواهد نمود.

۳-۳- کارفرما متعهد به اجرای دقیق و کامل ماده ۷ این قرارداد در خصوص مبلغ و نحوه پرداخت هزینه هاست.

۳-۴- کارفرما متعهد است داروی تولید شده را حداکثر تا ۲ هفته از زمان اعلام تولید کننده از محل انبار تولید کننده تحویل گرفته



کارخانه: اصفهان، فلاورجان، بخش پیریکران، مقابل شهر بهاران، صندوق پستی: ۸۱۴۶۵/۱۵۸۸
کد پستی: ۸۵۰۹۱۴۳۴۴ تلفن: ۰۳۱-۳۷۴۸۰۱۷۱ و ۰۳۱-۳۷۲۵۲۹۹۹ فکس: ۰۳۱-۳۷۲۵۲۸۹۸
دفتر قهسوان: بزرگراه اشرفی اصفهانی، بلوار مرزداران، خیابان حضرت ابوالفضل، رویروی
بوستان هفتم غربی، پلاک ۴، طبقه دوم
تلفن: ۰۳۱-۴۴۲۷۹۷۰۲ و ۰۳۱-۴۴۲۰۸۹۲۲ فکس: ۰۳۱-۴۴۲۹۸۳۲۴
www.aminpharma.com E-mail: info@aminpharma.com

شماره: ۹۹۹۹۲-۱۹

تاریخ: ۱۳۹۹/۳/۱۹

پیوست:

شماره ملی: ۱۰۴۶۰۰۶۳۲۵۸



شرکت داروسازی امین (پ.ج.س)
Amin Pharmaceutical Company (PJS)

در غیر این صورت به ازای هر روز مبلغ ۱۰۰۰,۰۰۰ ریال هزینه انبارداری به هزینه های اعلام شده نیز اضافه خواهد شد.
۳-۵- کارفرما متعهد است به دلیل محدودیت فضای نگهداری اقلام بسته بندی حتی الامکان ظرفی نظیر فلاکون، بطری و ... را حداکثر برای ۲ هفته شارژ نماید (معادل حجم تولید). در غیر این صورت معادل ۲۵٪ هزینه تولید هر واحد دارو در ماه (به عنوان هزینه انبارداری) دریافت خواهد شد.

۳-۶- کارفرما متعهد است، در زمان عقد قرارداد مبلغ ۵۰۰ میلیون ریال به عنوان ودیعه در اختیار تولید کننده قرار دهد تا در صورت شروع همکاری در حساب های فی مابین منظور و در غیر اینصورت ضمن اطلاع رسانی به سازمان دامپزشکی در خصوص عدم همکاری، عیناً به کارفرما مسترد نماید.

۳-۷- کارفرما متعهد است قبل از شروع همکاری لیست محصولات / مواد اولیه / جانبی و اشکال اقلام بسته بندی جهت بررسی و امکان سنجی به تولید کننده اعلام نماید.

ماده ۴- تعهدات تولید کننده:

۴-۱- ساخت محصول شامل ساخت، پرکردن، نظارت و کنترل بسته بندی می باشد. در کلیه مراحل ساخت، اصول GMP از طرف تولید کننده رعایت خواهد شد.

۴-۲- تولید کننده متعهد است اسناد و اطلاعات دریافتی از کارفرما را از جمله DMF ها را محرمانه تلقی کرده و از افشاء و یا واگذاری آنها به اشخاص حقیقی و حقوقی ثالث خودداری نماید. همچنین تولید کننده فقط در جهت اجرای مفاد این قرارداد مجاز به استفاده از آنها خواهد شد و در صورتیکه تولید کننده بدون مجوز کتبی کارفرما از این اطلاعات به نفع خود و یا شخص ثالث استفاده نماید ملزم به جبران خسارت براساس برآورد کارفرما خواهد بود.

۴-۳- قبل از شروع تولید قراردادی، اجازه بازرسی و بازدید از خطوط تولید، انبارها و امکانات مرتبط با موضوع قرارداد به کارفرما داده میشود.

۴-۴- تولید کننده متعهد است پس از تکمیل ساخت هر سری محصول، کلیه مدارک مربوطه را به طور کامل در اختیار کارفرما قرار دهد.

۴-۵- تولید کننده تا زمان تحویل محصول به کارفرما یا نماینده وی، مسئول حفظ کیفیت محصول می باشد و هرگونه فساد بعدی ناشی از نحوه انبارداری، حمل یا جابجایی محصول بعد از تحویل به کارفرما به عهده کارفرما خواهد بود.

۴-۶- تولید کننده متعهد به انجام به موقع تعهدات مندرج در قرارداد است مگر در شرایط فورس ماژور چنانچه طرفین نتوانند تعهدات خود را تحت این قرارداد به دلیل فورس ماژور انجام دهند، طرفین از انجام این قرارداد معاف خواهند بود، مشروط بر آنکه نهایت تلاش خود را بکار بندند تا تعهدات خود را از طریق دیگر انجام دهند. با وجود این، پس از برطرف شدن شرایط فورس ماژور، طرفین باید تعهدات خود را تحت این قرارداد ادامه دهند و با حسن نیت در رابطه با چگونگی انجام و تحویل تعهداتی، که به دلیل فورس ماژور معلق مانده اند با یکدیگر مذاکره نمایند. منظور از فورس ماژور در این قرارداد به معنی حوادثی است که خارج از کنترل طرفین قرارداد روی می دهند، شامل بلایای آسمانی، جنگ، اغتشاش و آشوب داخلی، زلزله یا طوفان، بیماریهای همه گیر و نقص و قطعی تسهیلات عمومی.

۴-۷- تولید کننده متعهد می گردد پس از دریافت کلیه مواد موثره و جانبی و بسته بندی حداکثر طی یک ماه برنامه تولید محصولات کارفرما را تنظیم و اعلام نموده و محصول را طبق برنامه مورد توافق به کارفرما تحویل نماید.



کارخانه: اصفهان، فلورجان، بخش پیریکران، مقابل شهر بهاران، صندوق پستی: ۸۱۴۶۵/۱۵۸۸
کد پستی: ۸۵۵۹۱۳۳۴۴ | تلفن: ۰۲۱-۲۷۸۰۱۷۱ و ۰۲۱-۲۷۸۰۲۱۱ | فکس: ۰۲۱-۲۷۲۵۲۸۸۸
دفتر تهران: بزرگراه شرفی اصفهانی، بسوار مرزداران، خیابان حضرت ابوالفضل، روبروی
یوسنان مقنن غربی، پلاک ۴، طبقه دوم
کد پستی: ۱۴۱۷۱۵۷۷۴
تلفن: ۰۲۱-۴۴۹۷۹۵۰۲ و ۰۲۱-۴۴۲۵۸۹۲۲ | فکس: ۰۲۱-۴۴۲۵۸۹۲۲
www.aminpharma.com | E-mail: info@aminpharma.com

شماره: ۹۹۹۹۲-۱۹
تاریخ: ۱۳۹۹/۳/۱۹
پیوست:

ماده ۵- مواد و ملزومات انجام کار:

۵-۱- تهیه و تحویل ماده موثره و کلیه مواد جانبی و بسته بندی بر اساس پروانه ساخت به عهده کارفرما و تمام وسایل و تجهیزات مورد نیاز به عهده تولید کننده خواهد بود.

۵-۲- هر بخش از مواد موثره و مواد جانبی و بسته بندی می تواند طبق توافق کارفرما توسط تولید کننده تأمین شود که هزینه آن جداگانه حسب نظر تولید کننده محاسبه و به تولید کننده پرداخت خواهد شد.

ماده ۶- سایر شرایط:

۶-۱- در صورت توافق طرفین، تولید محصولات دیگر نیز می تواند در صورت تأیید سازمان دامپزشکی در آینده به فهرست پیوست این قرارداد اضافه شود.

۶-۲- برنامه زمان بندی تولید و تحویل هر محصول به طور جداگانه و به صورت سالانه بین طرفین تدوین و مشخص میشود و طرفین متعهد به انجام به موقع تعهدات خود در قبال برنامه زمان بندی هستند، این برنامه در طی سال با توافق طرفین قابل بازنگری است.

۶-۳- چنانچه کارفرما انتظارات خارج از عرف در پروسه های تولید داشته باشد یا موجب توقف کارکرد دستگاه یا خط تولید گردد می بایست هزینه های مربوطه را برابر اطلاعات مهندس صنایع تولید کننده پرداخت نماید.

۶-۴- تأمین یا پرداخت هزینه ساین پارت های اختصاصی به عهده کارفرما خواهد بود.

۶-۵- حق تقدم تولید داروهای مشترک، با محصولات تولید کننده بوده ولی می بایست متعاقباً نسبت به تولید و تحویل بموقع محصولات کارفرما (حسب توافق قبلی) اقدام نماید.

۶-۶- هزینه توقفات ناشی از عدم کیفیت مواد و بخصوص اقلام بسته بندی (که توسط کارفرما تهیه شده اند) بعهده کارفرما بوده و پس از محاسبات مهندسی صنایع مطالبه خواهد شد.

۶-۷- در صورت تأمین هرگونه مواد مورد مصرف خارج از متن قرارداد، توسط شرکت تولید کننده، مبنای محاسبه هزینه، قیمت تمام شده به علاوه ۲۰٪ آن بوده و از کارفرما اخذ می گردد.

۶-۸- پوشش بیمه ای خطرات احتمالی و حوادث غیرمترقبه مانند آتش سوزی و غیره برای موجودیهای متعلق به کارفرما در کارخانه تولید کننده بر عهده کارفرما می باشد.

ماده ۷- مبلغ قرارداد و نحوه پرداخت:

۷-۱- هزینه دستمزد تولید هر واحد از داروی تولیدی شامل هزینه های تولید و بسته بندی، با لحاظ هزینه های سربار، مالی و انبارداری و سایر هزینه های تولید محصول تلقی گردیده و حسب مورد معادل مبالغ پیوست شماره ۱ می باشد.

تبصره ۱-: هزینه اعلام شده توسط تولید کننده صرفاً برای سال اول و تیراژ اعلام شده از طرف کارفرما که در پیوست شماره یک آمده است می باشد و در صورت ادامه همکاری برای سال دوم مجدداً اعلام خواهد شد.
بدیهی است که از فروردین هر سال افزایش معادل عرف تورمی کشور که به هزینه ها و دستمزد تعلق می گیرد، اضافه خواهد شد.



کارخانه: اصفهان، فلورجان، بخش پیریکران، مقابل شهر بهاران، صندوق پستی: ۸۱۴۶۰/۱۰۸۸
کد پستی: ۸۵۰۹۱۴۳۴۴ | تلفن: ۰۲۱-۳۷۴۸۰۱۷۱ و ۰۲۱-۳۷۲۵۲۹۹۱ | فکس: ۰۲۱-۳۷۲۵۲۹۸۸
دفتر تهران: بزرگراه اشرفی اصفهانی، بلوار مرزداران، خیابان حضرت ابوالفضل، رویروی
بوستان هفتم غربی، پلاک ۴، طبقه دوم
تلفن: ۰۲۱-۴۴۲۹۷۹۵۲ و ۰۲۱-۴۴۲۵۸۸۲۲ | فکس: ۰۲۱-۴۴۲۸۸۲۴۴
www.aminpharma.com | E-mail: info@aminpharma.com

شماره: ۹۹۹۹۲-۱۹

تاریخ: ۱۳۹۹/۳/۱۹

پیوست:

شناسه ملی: ۱۵۲۶۰۰۶۳۳۵۸



کتاب داروسازی (سپهر نام)
Amin Pharmaceutical Company (P.J.S)

تبصره ۲-: هزینه تولید هر محصول از طرف تولید کننده به کارفرما اعلام می شود.

۷-۲- ۵۰٪ کل هزینه دستمزد تولید در زمان تولید و ۵۰٪ مبلغ هزینه دستمزد قبل از حمل کالا توسط کارفرما پرداخت خواهد شد.

۷-۳- مالیات و عوارض ارزش افزوده طبق قوانین جاری اعلام شده از طرف سازمان امور مالیاتی به مبلغ حق الزحمه اضافه می گردد.

۷-۴- تک بچ ها و بچ های آزمایشی قرص و کپسول بر پایه ۲۰۰ هزار واحد محاسبه خواهد شد.

تبصره ۳-: در صورت تاخیر در تاریخ چک و یا عدم صدور چک یا برگشت چک و به عبارتی تاخیر در پرداخت در موعد مقرر در قرارداد یا توافقات بعدی، جریمه دیرکرد (به صورت روزشمار) ماهیانه ۲/۵٪ به حساب بدهی کارفرما منظور خواهد گردید.

ماده ۸- فسخ قرارداد:

۸-۱- فسخ قرارداد با اعلام کتبی در سه ماه قبل از اجرای عملیات تولید، توسط هر یک با توافق طرفین صورت خواهد گرفت.

۸-۲- فسخ قرارداد به نحوی صورت می گیرد که مواد اولیه و بسته بندی شده و یا تمهیدات به عمل آمده توسط طرفین برای تولید محصول ضایع نگردد.

انجام قرارداد منوط به تأیید سازمان دامپزشکی می باشد. در صورت عدم صدور مجوز اجرای قرارداد، این قرارداد خود به خود فسخ می گردد.

ماده ۹- حکمیت:

۹-۱- در صورت اختلاف در اجرای این قرارداد طرفین بدو با روح تفاهم و برادری به حل مشکل خواهند پرداخت و در صورت استمرار مشکل، موضوع از طریق مراجع قضایی ذیصلاح رسیدگی خواهد شد.

ماده ۱۰- امحاء مواد و محصول نامنتطبق:

۱۰-۱- در صورتی که مواد اولیه، اقلام بسته بندی و یا محصول قراردادی مورد تأیید تولید کننده و کارفرما نباشد، بر اساس درخواست کتبی کارفرما، واحد تضمین کیفیت تولید کننده با تهیه صورتجلسه، اقدام به امحاء اقلام مذکور مینماید. کارفرما موظف است کلیه هزینه های مربوط به امحاء مواد و حمل و نقل را متقبل و برابر فاکتور واصله پرداخت نماید.

ماده ۱۱- کسورات قانونی:

۱۱-۱- با توجه به ماده ۳۸ قانون تأمین اجتماعی کارفرما موظف است که طبق قانون از کلیه صورت وضعیت های صادره توسط تولید کننده میزان ۵٪ به عنوان سپرده بیمه کسر نموده و بعد از ارائه مفاصا حساب بیمه توسط تولید کننده مبالغ فوق الذکر را در اسرع وقت به ایشان پرداخت نماید.

۱۱-۲- کارفرما موظف است در پایان قرارداد اطلاعات مورد نیاز سازمان تأمین اجتماعی را بر اساس نمونه پیوست حداکثر تا پایان سال شمسی، تهیه و ارسال نماید.



کارخانه: اصفهان، فلاورجان، بخش پیریکران، مقابل شهر بهاران، صندوق پستی: ۸۱۴۶۵/۱۵۸۸

کد پستی: ۸۵۵۹۱۳۳۴۴ | تلفن: ۰۲۱-۳۷۸۰۱۷۱ و ۰۲۱-۳۷۲۵۹۹۹ | فکس: ۰۲۱-۳۷۲۵۲۸۸۸

دفتر تهران: بزرگراه اشرفی اصفهانی، بلوار موزداران، خیابان حضرت ابوالفضل (ع) روبروی

بوستان هفتم غربی، پلاک ۴، طبقه دوم | کد پستی: ۱۴۱۷۱۵۱۷۴

تلفن: ۰۲۱-۴۴۲۷۹۵۲ و ۰۲۱-۴۴۲۵۸۹۲۳ | فکس: ۰۲۱-۴۴۲۸۳۲۴

www.aminpharma.com | E-mail: info@aminpharma.com

شماره: ۹۹۹۹۲-۱۹

تاریخ: ۱۳۹۹/۳/۱۹

پیوست:

۱۱-۳- دو طرف قرارداد موظفند ده روز پس از پایان هر فصل، اطلاعات خرید و فروش یکدیگر را مبادله تا مغایرت احتمالی برطرف و اطلاعات خرید و فروش فصلی بدون مغایرت ارسال گردد.
ضمناً اطلاعات ارسالی باید فقط براساس مبالغ فاکتورهای صادر شده به سازمان امور مالیاتی اعلام گردد.

❖ این قرارداد در ۱۱ ماده و ۳ تبصره و در ۲ نسخه تنظیم و هر نسخه حکم واحد دارد.

تولیدکننده
شرکت داروسازی امین (سهامی عام)


کارفرما
شرکت زیست فناوران رویان (سهامی خاص)

Royan Biotechnology Immunology
زیست فناوران رویان ایمن
شماره ثبت: ۵۵۴۸۹۵



کارخانه: اصفهان، فلاورجان، بخش پیریکران، مقابل شهر بهاران، صندوق پستی: ۸۱۴۶۵/۱۰۸۸
کد پستی: ۸۴۵۹۱۴۳۴۴ تلفن: ۰۲۱-۳۷۴۸۰۱۷۱ و ۰۲۱-۳۷۲۵۲۹۹۹ فکس: ۰۲۱-۳۷۲۵۲۸۸۸
دفتر تهران: بزرگراه اشرفی اصفهانی، بلوار مرزداران، خیابان حضرت ابوالفضل، رویروی
بوستان هفتم غربی، پلاک ۴، طبقه دوم
کد پستی: ۱۴۶۱۷۴۵۶۷۴
تلفن: ۰۲۱-۴۴۲۹۷۹۵۲ و ۰۲۱-۴۴۲۵۸۹۲۲ فکس: ۰۲۱-۴۴۲۹۸۲۴۴
www.aminpharma.com E-mail: info@aminpharma.com

شماره: ۹۹۹۲-۱۹

تاریخ: ۱۳۹۹/۳/۱۹

پیوست :

پیوست شماره ۱

بین امضاء کنندگان ذیل از شرکتهای داروسازی امین و زیست فناوریان رویان امین و براساس قرارداد شماره که این متن پیوست آن تلقی می گردد ، هزینه موارد توافق شده برای تولید قراردادی بشرح ذیل مورد موافقت قرار گرفت که به شرکت امین پرداخت می گردد.

ردیف	نام محصول	حداقل تولید سالیانه (عدد قرص / کپسول / شربت)	مبلغ تولید یک واحد (ریال)
۱	ساشه الکترولیت پلاس	۵۰,۰۰۰	-

نرخ تولید هر عدد محصول متعاقباً اعلام و به امضای طرفین خواهد رسید.

تولید کننده
شرکت داروسازی امین (سهامی عام)



کارفرما
شرکت زیست فناوریان رویان امین (سهامی خاص)



کارخانه: اصفهان، فلورجان، بخش پیریکران، مقابل شهر بهاران، صندوق پستی: ۸۱۴۶۵/۱۵۸۸
کد پستی: ۸۴۵۹۱۴۳۳۴۴ تلفن: ۰۲۱-۲۷۴۸۰۱۷۱ و ۰۲۱-۲۷۲۵۲۹۹۹ فکس: ۰۲۱-۲۷۲۵۲۸۸۸
دفتر تهران: بزرگراه اشرفی اصفهانی، بلوار مرزداران، خیابان حضرت ابوالفضل، رویوی
بوستان هفتم غربی، پلاک ۴، طبقه دوم
تلفن: ۰۲۱-۴۴۲۹۷۹۵۲-۵۲-۵۳-۵۴-۵۵-۵۶-۵۷-۵۸-۵۹-۶۰-۶۱-۶۲-۶۳-۶۴-۶۵-۶۶-۶۷-۶۸-۶۹-۷۰-۷۱-۷۲-۷۳-۷۴-۷۵-۷۶-۷۷-۷۸-۷۹-۸۰-۸۱-۸۲-۸۳-۸۴-۸۵-۸۶-۸۷-۸۸-۸۹-۹۰-۹۱-۹۲-۹۳-۹۴-۹۵-۹۶-۹۷-۹۸-۹۹-۱۰۰
فکس: ۰۲۱-۴۴۲۹۸۱۴۴
www.aminpharma.com E-mail: info@aminpharma.com

شماره: ۹۹۴۱۷-۲
تاریخ: ۱۳۹۹/۰۹/۲۲
پیوست:

الحاقیه شماره ۱

این الحاقیه بر اساس قرارداد شماره ۹۹۹۹۲-۱۹ مورخ ۱۳۹۹/۰۳/۱۹ فیما بین شرکت زیست فناوریان رویان ایمن (سهامی خاص) با شناسه ملی ۱۴۰۰۸۹۹۷۸۳۳ و شماره ثبت ۵۵۴۸۷۵ اصفهان و کد اقتصادی ۴۱۱۶۵۹۱۱۶۸۱۸ به مدیریت آقای سیروس قائدی به عنوان مدیر عامل و آقای محمد حسین نصر اصفهانی به عنوان عضو هیئت مدیره به نشانی: اصفهان، فلکه خوراسگان، خیابان سلمان، خیابان رویان، پژوهشکده زیست فناوری رویان و کد پستی ۸۱۵۸۹۶۸۴۳۳ و تلفن: ۰۳۱-۹۵۰۱۵۶۸۰ که در این قرارداد کارفرما نامیده می شود از یک طرف و شرکت داروسازی امین (سهامی عام) با شناسه ملی ۱۰۲۶۰۰۶۳۲۵۸ و شماره ثبت ۲۶۷ فلاورجان و کد اقتصادی ۷۵۳۳-۹۸۷۱-۴۱۱۱ به نمایندگی آقایان دکتر محمد مهدی حقوقی به عنوان مدیر عامل و نایب رئیس هیئت مدیره و سید محمد سادات عضو هیئت مدیره به نشانی: اصفهان، فلاورجان، بخش پیریکران، شهر بهاران، بلوار خلیج فارس، کد پستی ۴۳۳۴۴-۸۴۵۹۱، تلفن ۰۳۱-۳۷۴۸۰۱۷۰ که در این قرارداد تولید کننده نامیده می شود، به منظور تکمیل پیوست شماره ۱ قرارداد و تعیین مبلغ قرارداد صادر می گردد.

موضوع الحاقیه:

هزینه بسته بندی هر عدد ساشه ۱۰۰ گرمی محصول الکترولیت پلاس به طور خالص مبلغ ۱۵۰۰۰ ریال (پانزده هزار) تعیین می گردد.
تبصره ۱: به استناد بند ۳-۷ قرارداد، مالیات بر ارزش افزوده بر اساس نرخ اعلامی از طرف سازمان امور مالیاتی به مبلغ فوق اضافه می گردد.
تبصره ۲: این مبلغ تا مورخ ۹۹/۱۲/۳۰ اعتبار دارد و پس از این تاریخ امکان تغییر آن با اعلام شرکت تولید کننده وجود خواهد داشت.
سایر مفاد قرارداد کماکان به قوت خود باقیست.

شرکت داروسازی امین (سهامی عام)

شرکت زیست فناوریان رویان ایمن (سهامی خاص)

محمد مهدی حقوقی (مدیر عامل)

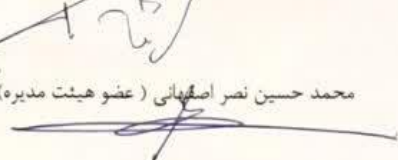


سید محمد سادات (عضو هیئت مدیره)




Royan Biotechnology (P.J.S)
شرکت زیست فناوریان رویان ایمن
شماره ثبت: ۵۵۴۸۷۵

سیروس قائدی (مدیر عامل)



محمد حسین نصر اصفهانی (عضو هیئت مدیره)



کارخانه: اصفهان، فلاورجان، بخش پیریکران، مقابل شهر بهاران، صندوق پستی: ۸۱۴۶۰/۱۵۸۸
کد پستی: ۸۵۵۹۱۴۳۳۳، تلفن: ۰۳۱-۳۷۴۸۰۱۷۱ و ۰۳۱-۳۷۴۸۰۲۹۹۹، فکس: ۰۳۱-۳۷۴۸۰۲۹۹۸
دفتر تهران: بزرگراه اندرخی اصفهانی، بلوار مرزبانان، خیابان حضرت ابوالفضل، رویروی
بوستان فتم غربی، پلاک ۴، طبقه دوم
کد پستی: ۱۴۶۱۷۵۵۷۷۴، تلفن: ۰۲۱-۴۴۲۹۷۹۵۲ و ۰۲۱-۴۴۲۹۸۹۲۲، فکس: ۰۲۱-۴۴۲۹۸۹۲۲
www.aminpharma.com E-mail: info@aminpharma.com

شماره: ۹۹۴۸۹۳-۲۰
تاریخ: ۱۳۹۹/۱۷/۱۲
پیوست:

الحاقیه شماره ۲

این الحاقیه بر اساس قرارداد شماره ۱۹-۹۹۹۹۲ مورخ ۱۳۹۹/۰۳/۱۹ فیما بین شرکت زیست فناوریان رویان امین (سهامی خاص) با شناسه ملی ۱۴۰۰۸۹۹۷۸۳۳ و شماره ثبت ۵۵۴۸۷۵ اصفهان و کد اقتصادی ۴۱۱۶۵۹۱۱۶۸۱۸ به مدیریت آقای سیروس قائدی به عنوان مدیر عامل و آقای محمد حسین نصر اصفهانی به عنوان عضو هیئت مدیره به نشانی: اصفهان، فلکه خوراسگان، خیابان سلمان، خیابان رویان، پژوهشکده زیست فناوری رویان و کد پستی ۸۱۵۸۹۶۸۴۳۳ و تلفن: ۰۳۱-۹۵۰۱۵۶۸۰ که در این قرارداد کارفرما نامیده می شود از یک طرف و شرکت داروسازی امین (سهامی عام) با شناسه ملی ۱۰۲۶۰۰۶۳۲۵۸ و شماره ثبت ۲۶۷ فلاورجان و کد اقتصادی ۹۸۷۱-۷۵۳۳-۴۱۱۱ به نمایندگی آقایان دکتر محمد مهدی حقوقی به عنوان مدیر عامل و نایب رئیس هیئت مدیره و سید محمد سادات عضو هیئت مدیره به نشانی: اصفهان، فلاورجان، بخش پیریکران، شهر بهاران، بلوار خلیج فارس، کد پستی ۴۳۳۴۴-۸۴۵۹۱، تلفن ۰۳۱-۳۷۴۸۰۱۷۰ که در این قرارداد تولید کننده نامیده می شود، به منظور تمدید مهلت قرارداد تهیه می گردد.

موضوع الحاقیه:

تمدید مدت قرارداد از مورخ ۱۴۰۰/۰۳/۱۳ لغایت ۱۴۰۱/۰۳/۱۳ به مدت یک سال شمسی می باشد.
تبصره: کلیه محاسبات مالی و تسویه حساب های مربوط به قرارداد مذکور بر مبنای قرارداد یک ساله می باشد و سایر مفاد قرارداد نیز به قوت خود باقیست.

شرکت زیست فناوریان رویان امین (سهامی خاص)

محمد مهدی حقوقی (مدیر عامل)

سید محمد سادات (عضو هیئت مدیره)



Royan Biotechnology Immunology
زیست فناوریان رویان امین
شناسه ملی: ۵۵۴۸۷۵

سیروس قائدی (مدیر عامل)

محمد حسین نصر اصفهانی (عضو هیئت مدیره)



CERTIFICATE
NO: 40150418

Member of
IONet



کارخانه: اصفهان، فلاورجان، بخش پیریکران، مقابل شهر بهاران، صندوق پستی: ۸۱۵۸۷/۱۵۸۸
کد پستی: ۸۱۵۹۱۴۳۳۴، تلفن: ۰۳۱-۳۷۴۸۰۱۷۱ و ۰۳۱-۳۷۴۲۹۹۹، فکس: ۰۳۱-۳۷۴۵۲۸۸۸
دفتر فروش: بزرگراه اشرفی اصفهانی، بلوار مرزداران، خیابان حضرت ابوالفضل، رویوی
بوستان قدم غربی، پلاک ۴، طبقه دوم
تلفن: ۰۳۱-۴۴۹۷۹۵۲-۵۳، ۰۳۱-۴۴۹۸۸۳۳، فکس: ۰۳۱-۴۴۳۹۸۲۴
www.aminpharma.com E-mail: info@aminpharma.com

شماره: ۱۴۰۱۲۲۱۷-۳۳

تاریخ: ۱۴۰۱/۶/۱۲

پیوست :

شناسه ملی: ۱۰۲۶۰۰۶۳۴۵۸



شرکت داروسازی امین (سهامی خاص)
Amin Pharmaceutical Company (P.J.S)

الحاقیه شماره ۳

این الحاقیه بر اساس قرارداد شماره ۹۹۹۹۲-۱۹ مورخ ۱۳۹۹/۰۳/۱۹ فیما بین شرکت زیست فناوریان رویان ایمن (سهامی خاص) با شناسه ملی ۱۴۰۰۸۹۹۷۸۳۳ و شماره ثبت ۵۵۴۸۷۵ اصفهان و کد اقتصادی ۴۱۱۶۵۹۱۱۶۸۱۸ به مدیریت آقای سیروس قائدی به عنوان مدیر عامل و آقای محمد حسین نصر اصفهانی به عنوان عضو هیئت مدیره به نشانی: اصفهان، فلکه خوراسگان، خیابان سلمان، خیابان رویان، پژوهشکده زیست فناوری رویان و کد پستی ۸۱۵۸۹۶۸۴۳۳ و تلفن: ۰۳۱-۹۵۰۱۵۶۸۰ که در این قرارداد کارفرما نامیده می شود از یک طرف و شرکت داروسازی امین (سهامی عام) با شناسه ملی ۱۰۲۶۰۰۶۳۲۵۸ و شماره ثبت ۲۶۷ فلاورجان و کد اقتصادی ۹۸۷۱-۷۵۳۳-۴۱۱۱ به نمایندگی آقایان دکتر محمد مهدی حقوقی به عنوان مدیر عامل و نایب رئیس هیئت مدیره و سید محمد سادات عضو هیئت مدیره به نشانی: اصفهان، فلاورجان، بخش پیریکران، شهر بهاران، بلوار خلیج فارس، کد پستی ۴۳۳۴۴-۸۴۵۹۱، تلفن ۰۳۱-۳۷۴۸۰۱۷۰ که در این قرارداد تولید کننده نامیده می شود، به منظور تمدید مهلت و اصلاح مبلغ قرارداد تهیه می گردد.

۱- موضوع الحاقیه:

- ۱-۱ تمدید مدت قرارداد از مورخ ۱۴۰۱/۰۳/۱۲ لغایت ۱۴۰۳/۰۳/۱۱ به مدت دو سال شمسی می باشد.
- ۲-۱ هزینه بسته بندی هر عدد ساشه ۱۰۰ گرمی محصول الکترولیت پلاس به طور خالص مبلغ ۷۹,۳۸۰ ریال (هفتاد و نه هزار و سیصد و هشتاد ریال) تعیین می گردد.



کارخانه: اصفهان، فلاورجان، بخش پیریکران، مقابل شهر بهاران، صندوق پستی: ۸۱۶۶/۱۵۸۸
کد پستی: ۸۵۹۱۱۳۳۴۴ تلفن: ۰۳۱-۳۷۴۸۰۱۷۱ و ۰۳۱-۳۷۲۵۲۹۹۹ فکس: ۰۳۱-۳۷۲۵۲۸۸۸
دفتر تهران: بزرگراه اشرفی اصفهانی، بلوار مرزداران، خیابان حضرت ابوالفضل، روبروی
بوستان هفتم غربی، پلاک ۴، طبقه دوم کد پستی: ۱۴۶۱۷۵۰۷۴
تلفن: ۰۲۱-۴۴۲۹۷۹۵۲-۵۲ ۰۲۱-۴۴۲۵۸۹۲۳ فکس: ۰۲۱-۴۴۲۹۸۲۳۴
www.aminpharma.com E-mail: info@aminpharma.com

شماره: ۱۴۰۱۳۰۷۶۲-

تاریخ: ۱۴۰۱/۸/۴

پیوست:

شناسه ملی: ۱۰۲۶۰۰۶۳۲۵۸۱



شرکت داروسازی امین (سهامی عام)
Amin Pharmaceutical Company (P.J.S)

الحاقیه شماره ۴

این الحاقیه بر اساس قرارداد شماره ۱۹-۹۹۹۹۲ مورخ ۱۳۹۹/۰۳/۱۹ فیما بین شرکت زیست فناوریان رویان ایمن (سهامی خاص) با شناسه ملی ۱۴۰۰۸۹۹۷۸۳۳ و شماره ثبت ۵۵۴۸۷۵ اصفهان و کد اقتصادی ۴۱۱۶۵۹۱۱۶۸۱۸ به مدیریت آقای سیروس قاندي به عنوان مدیر عامل و آقای محمد حسین نصر اصفهانی به عنوان عضو هیئت مدیره به نشانی: اصفهان، فلکه خوراسگان، خیابان سلمان، خیابان رویان، پژوهشکده زیست فناوری رویان و کد پستی ۸۱۵۸۹۶۸۴۳۳ و تلفن: ۰۳۱-۹۵۰۱۵۶۸۰ که در این قرارداد کارفرما نامیده می شود از یک طرف و شرکت داروسازی امین (سهامی عام) با شناسه ملی ۱۰۲۶۰۰۶۳۲۵۸ و شماره ثبت ۲۶۷ فلاورجان و کد اقتصادی ۴۱۱۱-۷۵۳۳-۹۸۷۱ به نمایندگی آقایان دکتر محمد مهدی حقوقی به عنوان مدیر عامل و نایب رئیس هیئت مدیره و سید محمد سادات عضو هیئت مدیره به نشانی: اصفهان، فلاورجان، بخش پیریکران، شهر بهاران، بلوار خلیج فارس، کد پستی ۴۳۳۴۴-۸۴۵۹۱، تلفن ۰۳۱-۳۷۴۸۰۱۷۰ که در این قرارداد تولید کننده نامیده می شود، به منظور تولید محصول الکترومین تهیه می گردد.

۱- موضوع الحاقیه:

۱-۱ هزینه بسته بندی هر عدد ساشه ۱۰۰ گرمی محصول الکترومین به طور خالص مبلغ ۷۹,۳۸۰ ریال (هفتاد و نه هزار و سیصد و هشتاد ریال) تعیین می گردد.

تبصره ۱: به استناد بند ۳-۷ قرارداد، مالیات بر ارزش افزوده بر اساس نرخ اعلامی از طرف سازمان امور مالیاتی به مبلغ فوق اضافه می گردد.

تبصره ۲: هزینه یاد شده تا مورخ ۱۴۰۱/۱۲/۲۹ اعتبار دارد.

۲-۱ کارفرما از طریق مسئول فنی دامپزشک مستقر در واحد داروسازی احراز شرایط تولید بر پایه الزامات و اصول GMP را احراز مینماید.

۳-۱ مسئولیت تضمین کیفیت محصولات با کارفرما خواهد بود.

۴-۱ مسئولیت ارائه برگه آنالیز با کارفرما خواهد بود.

سایر مفاد قرارداد به قوت خود باقیست.

شرکت داروسازی امین (سهامی عام)

محمد مهدی حقوقی (مدیر عامل)
سید محمد سادات (عضو هیئت مدیره)

شرکت زیست فناوریان رویان ایمن (سهامی خاص)

سیروس قاندي (مدیر عامل)
زیست فناوریان رویان ایمن
شماره: ۵۵۲۸۷۵



کارخانه: اصفهان، فلاورجان، بخش پیریکران، مقابل شهر بهاران، صندوق پستی: ۸۱۶۶۰/۱۵۸۸
کد پستی: ۸۵۹۱۱۴۳۴۴ و تلفن: ۰۳۱-۳۷۴۸۰۱۷۱ و ۰۳۱-۳۷۴۸۰۱۹۹ فکس: ۰۳۱-۳۷۴۸۸۸۸
دفتر تهران: بزرگراه اشرفی اصفهانی، بلوار مرزداران، خیابان حضرت ابوالفضل، روبروی
بوستان هفتم غربی، پلاک ۱، طبقه دوم
تلفن: ۰۲۱-۴۴۲۸۹۹۲۲ و ۰۲۱-۴۴۲۸۹۹۲۴ فکس: ۰۲۱-۴۴۲۸۹۹۲۴
www.aminpharma.com E-mail: info@aminpharma.com

پیوست شماره ۴: رزومه شرکت بسته بندی شادمهر:



**شادمهر**
شرکت صنایع بسته بندی
(سهامی خاص)

بزرگترین سازنده و صادر کننده ، با سه دهه سابقه در
ساخت انواع ماشین آلات مدرن بسته بندی
با کاملترین خطوط تولید
ماشین آلات صادراتی شادمهر با ۳۶ ماه کارائی و ۲۰ سال خدمات پس از فروش

ردیف	نام دستگاه	کد دستگاه	شماره صفحه
۱	مالتی هد ۱۰ توزین	SM-A10	۱۰
۲	مالتی هد ۱۴ توزین	SM-A14	۱۱
۳	دستگاه بسته بندی پودری	SM-904	۱۲
۴	دستگاه بسته بندی پودری با دوخت پلی اتیلن	SM-2009	۱۳
۵	دستگاه بسته بندی حجمی (پیمانه ای)	SM-903	۱۴
۶	دستگاه بسته بندی ۲ توزین	SM-907	۱۵
۷	دستگاه بسته بندی ۴ توزین	SM-909	۱۶
۸	دستگاه بسته بندی ۴ توزین با دوخت پلی اتیلن	SM-2004	۱۷
۹	دستگاه بسته بندی عمودی (با مالته هد ۱۴ توزینه)	SM-2014	۱۸
۱۰	دستگاه کیسه پرکن پدالی ۲ توزین	SM-917	۱۹
۱۱	دستگاه قوطی پرکن ۴ توزین	SM-914	۲۰
۱۲	دستگاه قوطی پرکن حجمی (پیمانه ای)	SM-910	۲۱
۱۳	دستگاه قوطی پرکن پودری (ریلی)	SM-911	۲۲
۱۴	بالابر پودری تمام استیل ویژه انتقال مواد پودری به دستگاه	SM-104	۲۳
۱۵	بالابر Z	SM-110 , SM-C110	۲۴
۱۶	بالا برمورب، نوار نقاله	SM-109-SM-100	۲۵
۱۷	دستگاه بسته بندی ساشه گرانولی (مدادی)	SM-93	۲۶
۱۸	دستگاه بسته بندی ساشه پودری (مدادی)	SM-80P	۲۷
۱۹	دستگاه بسته بندی ساشه مایعاتی	SM-338-1	۲۸
۲۰	دستگاه بسته بندی ساشه افقی (در مدل های گرانولی، پودری، مایعاتی)	SM-SX11-15-18	۲۹
۲۱	دستگاه بسته بندی ساشه مایعاتی (مدادی)	SM-80L	۳۰
۲۲	دستگاه لیبل زن دو طرفه پشت چسبدار	SM-620A	۳۱
۲۳	دستگاه دوخت و شرینگ نیمه اتوماتیک کابین دار	SM-5540A	۳۲
۲۴	دستگاه دوخت و شرینگ نیمه اتوماتیک	SM-5045T+SM-4525	۳۳
۲۵	دستگاه دوخت - دستگاه تونل شرینگ	SM-6030A+SM-6040	۳۴
۲۶	دستگاه دوخت - دستگاه تونل شرینگ	SM-6035A+SM-6040	۳۵
۲۷	دستگاه بسته بندی افقی در مدل های مختلف (پیلوپک)	SM-600W , SM-F350D	۳۶
۲۸	دستگاه زورورق پیچ در مدل های مختلف	SM-808	۳۷
۲۹	دستگاه چسب زن کارتن	SM-5050B	۳۸
۳۰	دستگاه وکیوم دو کابینه (طبق سفارش با گاز ازت)	SM-Z600-2SB	۳۹
۳۱	دستگاه اتوماتیک تسه کش با میز بلند	SM-8060	۴۰
۳۲	دستگاه تسه کش نیمه اتوماتیک	SM-Z900	۴۱
۳۳	دستگاه شرینگ لیبل آستینی اتوماتیک	SM-150P	۴۲
۳۴	دستگاه پرکن مایعات و درب بند (خطی)	SM-G250	۴۳
۳۵	دستگاه تری بلوک	SM-18-18-6	۴۴

سه دهه تلاش برای حضور نام ایران در کنار پیشگامان صنعت بسته بندی جهان شادمهر از دیدگاه بنیان گذاران

داشتن ده سال پشتوانه فنی اولیه در زمان شروع به ساخت دستگاه های بسته بندی نیاز میرم بازار داخلی کشور به تحولی نوین در ساخت دستگاه های بسته بندی ایجاد مجموعه ای با داشتن توان مدیریتی بالا و دانش فنی و تخصصی به طور همزمان به کارگیری مجرب ترین مهندسين و متخصصين خلاق و مورد تاييد مراجع ذيصلاح و دارندگان رتبه خبره در میان اساتید فن در راه پیشبرد اهداف شرکت رسیدن به بالاترین سطح کیفیت و نوآوری و تنوع تولیدات در داخل و خارج از کشور در کوتاه مدت

ویژگی های شاخص در شرکت بسته بندی شادمهر

- ۱- پاسخگویی به نیازهای مشتریان
یکی از ویژگی های خدمات شرکت شادمهر دقت عمل و سرعت در پاسخگویی به مسائل و نیازهای مشتریان است که کارشناسان فروش شرکت با ارائه کاتالوگ، بروشور و CD عملکرد دستگاه و سپس مطالعه و بررسی نیاز مشتری و ارائه استعلام مشخصات و قیمت دستگاه در اسرع وقت به مشتریان محترم، آنها را در رسیدن به اهدافشان یاری می نمایند.
- ۲- تنوع و کامل بودن ماشین آلات
یکی دیگر از ویژگی های خدمات شرکت شادمهر تنوع و کامل بودن ماشین آلات آن است. دستگاه ها و راهکارهای ما برای پاسخگویی به نیازهای متنوع مشتریان در صنایع مختلف غذایی، دارویی، شیمیایی و... طراحی و تولید می شود. این تنوع علاوه بر آنکه طیف گسترده ای از مشتریان در صنایع مختلف کشور را پوشش می دهد به هر مشتری امکان خواهد داد تا دستگاه متناسب با تولیدات خود را انتخاب نماید.
- ۳- منتخب برند برتر سال ۱۳۹۰ در تولید ماشین آلات صنعت بسته بندی از سوی سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- ۴- دریافت تندیس تولید کننده نمونه از جشنواره تولید ملی طی دو سال پیاپی
- ۵- عضو انجمن تخصصی مراکز تحقیق و توسعه صنایع و معادن
- ۶- عضو انجمن علوم و صنایع غذایی ایران
- ۷- عضو مرکز جامع صادرات ایران
- ۸- استفاده از مرغوب ترین قطعات، لوازم برقی و صنعتی با کیفیت از کشورهای معتبر
- ۹- ارائه بالاترین زمان گارانتی و خدمات پس از فروش
- ۱۰- حضور فعال و مستمر در بیش از ۲۲۵ نمایشگاه بین المللی تخصصی داخلی و خارجی
- ۱۱- تولید و فروش ۹۷۰۰ دستگاه به شرکتهای معتبر تولیدی در داخل کشور
- ۱۲- صادرات ۱۵۵۰ دستگاه به ۵۵ کشور صاحب نام همچون کانادا، سوئد، آلمان، ایتالیا، ونزوئلا، اکراین، تونس، الجزایر، لیبی، مصر، کنیا، ارمنستان، آذربایجان، روسیه، ترکمنستان، عراق، عربستان، امارات، قطر، بحرین، عمان، یمن، افغانستان و...
- ۱۳- داشتن سه دهه سابقه مستمر در امر تولید انواع دستگاه های مدرن بسته بندی

گواهینامه ها و استانداردهای بین المللی:

با پشتکار و توانایی پرسنل وظیفه شناس و با نوآوری و دستیابی به دانش روز دنیا موفق به تولید دستگاه های بسته بندی شده ایم که در نوع خود بی نظیر و قابل رقابت با دستگاه های پیشرفته دنیاست و تمام توان خویش را به کار گرفته ایم تا تمامی مشتریان از کیفیت بالای ماشین آلات تولید شده در شرکت شادمهر و خدمات پس از فروش آن رضایت کامل داشته باشند.
شرکت صنایع بسته بندی شادمهر از بدو تاسیس تا کنون موفق به اخذ مدارک و افتخارات ذیل گردیده است:

نشان استاندارد ایمنی CE از اتحادیه اروپا

استفاده از استاندارد CE یکی از مهمترین اولویت های کاری در شرکت شادمهر می باشد. در این استاندارد ۲۴ مورد ایمنی بر روی دستگاه های تولیدی رعایت شده که ضمن بالابردن ایمنی کاربر (اپراتور)، از خسارت احتمالی و ضرر و زیان تولید کننده جلوگیری می نماید.
بررسی ها نشان داده است که: نظر بر رضایتمندی مشتریان از دستگاه های تولیدی شرکت شادمهر، علاوه بر صادرات دستگاه های تولید شده به بازارهای بین المللی اروپا، این شرکت توانسته است مزیت رقابتی خود را در عرصه بین الملل حفظ نماید.

گواهینامه تضمین مدیریت کیفیت ISO9001 از TUV اتریش

تمامی مراحل تولید از طراحی، خرید، ساخت قطعات تا مونتاژ نهائی تحت نظارت مهندسين کنترل کیفیت شرکت شادمهر بر اساس تفکر مبتنی بر رعایت مدیریت کیفیت انجام می شود که این مهم باعث افزایش بهره وری و راندمان کار برای طرفین (خریدار و فروشنده) شده است.





Powder packaging machine**Function:** Electromechanical- Pneumatic**Weighing system:** spiral auger with preset counter (volumetric)**Packing speed:** 15-35 psc/min**Packaging Weight range:** 20-1100 g**Min.packing size:** (L*W)65* 10 mm**Max.packing size:** (L*W)350* 245 mm**Voltage:** 3 Phase, 380 v**Power consumption:** 3.5 kw**Dimensions (L*W*H):** 1250*1650*2850 mm**Machine Weight:** 900 kg**Wrapping material:** Teresbafon, Shelly cellophane, metallized, aluminum foil, BOPP, OPP, polyester and all kinds of flexible films, Except polyethylene.**Application:** All kinds of powders, materials in food, chemicals and pharmaceutical industries.**دستگاه بسته بندی پودری****سیستم عملکرد:** الکترومکانیک - پنوماتیک**سیستم توزین:** اویگر حلزونی با کانتر پیش تنظیم (حجمی)**سرعت بسته بندی:** ۱۵ الی ۳۵ بسته در دقیقه**وزن بسته:** ۲۰ الی ۱۱۰۰ گرم**حداقل ابعاد بسته بندی:** طول ۶۵ × عرض ۱۰ میلی متر**حداکثر ابعاد بسته بندی:** طول ۳۵۰ × عرض ۲۴۵ میلی متر**برق مورد نیاز:** ۳ فاز ۳۸۰ ولت**برق مصرفی:** ۳/۵ کیلووات**ابعاد:** طول ۱۶۵۰ × عرض ۱۲۵۰ × ارتفاع ۲۸۵۰ میلی متر**وزن:** ۹۰۰ کیلوگرم**لغاف بسته بندی:** ترسیافون، سلفون صدفی، متالایز، فویل آلومینیوم**BOPP, OPP و انواع فیلمهای حرارتی قابل انعطاف بجز پلی اتیلن****کاربرد:** بسته بندی انواع مواد پودری در صنایع غذایی، دارویی، شیمیایی و ...

Powder packaging machine with polyethylene sealing system
Function: Electromechanical- Pneumatic
Weighing system: Spiral auger with preset counter(volumetric)
Packing speed: 5-12 psc/min
Packaging Weight range: 500-5000 g
Min.packing size: (L*W)150* 200 mm
Max.packing size: (L*W)400* 345 mm
Voltage: 3 Phase, 380 v
Power consumption: 3.5 kw
Dimensions (L*W*H): 1250*1650*2850 mm
Machine Weight: 900 kg
Wrapping material: 2 or 3-layer Polyethylene
Application: All kinds of powders,materials in food, chemicals and pharmaceutical powder industries.

دستگاه بسته بندی پودری با دوخت پلی اتیلن

سیستم عملکرد: الکترومکانیک - پنوماتیک
 سیستم توزین: اوگر حلزونی با کانتر پیش تنظیم (حجمی)
 سرعت بسته بندی: ۵ الی ۱۲ بسته در دقیقه
 وزن بسته: ۵۰۰ الی ۵۰۰۰ گرم
 حداقل ابعاد بسته بندی: طول ۱۵۰ × عرض ۲۰۰ میلیمتر
 حداکثر ابعاد بسته بندی: طول ۴۰۰ × عرض ۳۴۵ میلیمتر
 برق مورد نیاز: ۳ فاز ۳۸۰ ولت
 برق مصرفی: ۳/۵ کیلووات
 ابعاد دستگاه: طول ۱۲۵۰ × عرض ۱۶۵۰ × ارتفاع ۲۸۵۰ میلیمتر
 وزن دستگاه: ۹۰۰ کیلوگرم
 لاف بسته بندی: پلی اتیلن ۲ یا ۳ لایه
 کاربرد: بسته بندی انواع مواد پودری در صنایع غذایی، دارویی، شیمیایی و ...



Single lane stick sachet packing machine for powder

Function: Electromechanical

Packing speed: 20-50 pcs/min

Bag weight: 2-20 g

Control system: PLC

Bag Width: 16-35 mm

Bag Length: 50-150 mm

Fim width: 40-80 mm

Date printer 3 lines (optional)

Voltage(V/HZ): 220V

Power: 1/5 kw

Flat cut with easy open system

Wrapping material: OPP/CPP /PE/OPP, aluminum

All kind of granular, powder, liquid materials in food, chemicals and pharmaceutical industries

دستگاه بسته بندی ساشه پودری (مدادی)

سیستم عملکرد: الکترومکانیک

سیستم کنترل: PLC با مانیتور تاج اسکرین

سرعت بسته بندی: ۲۰ الی ۵۰ بسته در دقیقه

وزن بسته: ۲ الی ۲۰ گرم

طول بسته: ۵۰ الی ۱۵۰ میلیمتر

عرض بسته: ۱۶ الی ۳۵ میلیمتر

عرض فیلم: ۴۰ الی ۸۰ میلیمتر

برق مصرفی: ۱/۵ کیلو وات ۲۲۰ ولت

مجهز به سیستم تاریخ زن

دوخت صاف با ایزی اوپن

بدنه دستگاه: آهن طبق سفارش (استیل)

لثاف بسته بندی: OPP / CPP / OPP / PE

فویل آلومینیوم، متالایز فیلم های چند لایه قابل دوخت حرارتی





تاسیس شرکت

سال تاسیس: ۱۳۶۰ و آغاز فعالیت تولیدی در ۱۳۶۲ با ساخت ریبون بندر به سفارش شرکت دارو سازی ایران دارو
تعداد کارکنان شرکت: ۵۰ نفر
زمینه های فعالیت: ماشینهای فرآوری و بسته بندی در صنایع دارویی، شیمیایی، غذایی و کشاورزی، شوینده و پاک کننده، آرایشی و بهداشتی

طرح و سبک، نوع، دانش فنی، پشتیبانی، مهارت و تجربه، توانایی

ماشین آلات فرآوری و بسته بندی

- پرکن مایعات از ۲ تا ۱۲ نازل
- پرکن و دربند ۱۸-۶ دوار (موتو بلاک)
- پرکن و دربند و ششو ۱۸-۶-۱۸ (تری بلاک NECK)
- انواع پرکن مواد خمیری
- گالن پرکن تمام اتوماتیک
- ششوی بطری و گالن
- انواع دربندی پیچی پلمپ، پیلفرپروف، پرسی و ویال
- پرکن پودر فنجانی و مارپیچی در قوطی، ظرف و یا پاکت
- پرکن چند هد وزنی
- انواع ماشینهای تی بگ
- بسته بندی پودر و مواد خمیری تک نفره
- بسته بندی مایعات در پاکت
- برچسب زن آب چسب و پشت چسب دار
- تیوپ پرکن پلاستیکی و آلومینیومی
- آلومینیوم فویل سیل از نوع حرارتی و القایی

امکانات ساخت و تولید

- ✓ دو کارخانه مجزا
- ✓ مجهز به ماشین افزار کامل برای ماشین کاری کلیه قطعات مورد استفاده در ماشینهای تولیدی خود
- ✓ امکانات مجهز ورقکاری و جوشکاری مورد استفاده در ساخت تناسی و مخازن استیل
- ✓ دارای ماشین CNC و سیستم CAD/CAM از طراحی به ساخت

مجوزهای صنعتی

- ✓ گواهی فعالیت صنعتی از وزارت صنایع سنگین
- ✓ پروانه دائمی خدمات مهندسی از وزارت صنایع
- ✓ عضو جامعه مخترعین و مبتکرین ایران
- ✓ عضو کانون طراحی مهندسی و طراحی مونتاژ ایران

پیوست شماره ۵: قرار داد با شرکت صنایع بسته بندی شادمهر



تاریخ: 99/04/30
شماره: 99/د/344

((قرارداد))

((العقود تابع للقصود، المؤمنون عند شروطهم، یا ایها الذین آمنوا بالعقود))

این قرارداد براساس ماده 10 و 190 قانون مدنی فیما بین طرفین ذیل منعقد و برای آنها لازم الاتباع و لازم الاجرا می باشد.

ماده 1: طرفین قرارداد

الف: شرکت بسته بندی شادمهر (سهامی خاص) به نمایندگی آقای اصغر سبزی به شماره ثبت 87130 و کد اقتصادی 411115748998 نشانی: تهران کیلومتر 27 جاده قدیم ساوه، بالاتر از سه راه آدران، خیابان رینگ کار، نبش کوچه صنعت 6، پ 44 تلفن: 021-56456201 فکس 021-56456206 که به اختصار در این قرارداد طرف اول نامیده می شود. (فروشنده)
ب: پژوهشگاه رویان به نمایندگی آقای رضا عظیمی و نظارت فنی آقای یحیی خزائی به شناسه ملی: 14001906001 کد اقتصادی: 411319974664 و کد پستی: 1665659911 به نشانی: تهران، خیابان بنی هاشم، خیابان حافظ شرقی، کوچه رویان تلفن ثابت: 02123562600 تلفن همراه: 09133197856 (آقای خزائی) که به اختصار طرف دوم نامیده می شود. (خریدار)

ماده 2: موضوع قرارداد

موضوع قرارداد عبارتست از فروش یک دستگاه بسته بندی ساشه 3-4 طرف دوخت چهار واحد توزین کوچک مدل SM-338 سفارشی مسیر مواد رو استیل 316 گرید A صادراتی با مشخصات و تجهیزات ذکر شده بشرح ذیل می باشد: (دستگاه فوق از تاریخ انعقاد قرارداد مختص طرف دوم و طبق سفارش ایشان تهیه و آماده می گردد).

1- نوع محصول: پودر O.R.S

2- دستگاه این قابلیت را دارد تا با تغییر سایز لوله یقه ی آن طبق سفارشات بعدی طرف دوم و خرید آن از بین 5 گرم تا 200 گرم، محصول مورد سفارش را بسته بندی نماید، در حال حاضر سفارش طرف دوم صرفاً یک سایز لوله یقه می باشد.

3- نوع فیلم: انواع فیلم های حرارتی قابل انعطاف بجز پلی اتیلن

4- سرعت بسته بندی دستگاه بر مبنای وزن و حجم 10 الی 40 بسته در دقیقه می باشد.

5- سایز لوله یقه: برای 50 گرم 10*15 برای 100 گرم 13*15 و برای 200 گرم 18*15 سانتی متر (15 عرض رول)

6- مخزن، سیلندر، ماردون و سوپاپ مرتبط با مواد می بایست دمونتاژ و پس از شستشو مونتاژ گردد.

7- کلیه قطعات، مشخصات و قطر استیل به همراه برند و کشور سازنده آن ها توسط فروشنده به خریدار اعلام می گردد.

ردیف	دستگاه و متعلقات	تعداد	قیمت واحد (ریال)	قیمت کل (ریال)
1	دستگاه بسته بندی ساشه 3-4 طرف دوخت چهار واحد توزین کوچک مدل SM-338 سفارشی مسیر مواد رو استیل 316	1 دستگاه	3,069,942,857	3,069,942,857
2	تاریخ زن حرارتی	1 عدد	117,962,000	117,962,000
3	سیستم ایزی این	1 عدد	32,864,000	32,864,000
4	سیستم طرح سوپاپ	1 عدد	104,546,000	104,546,000
5	فن غبارگیر	1 عدد	144,267,500	144,267,500
6	کاپه انتظار استیل 316	1 عدد	90,759,866	90,759,866
مبلغ قرارداد			3,560,342,223	
9 درصد عوارض و مالیات بر ارزش افزوده			320,430,808	
مبلغ قابل پرداخت: سه میلیارد و هشتصد و هشتاد و هفتصد و هفتاد و سه هزار و بیست و سه ریال 777.7%			3,880,773,023	

طرف دوم
شادمهر صنایع بسته بندی

طرف دوم
پژوهشگاه رویان

آدرس کارخانه و نمایشگاه:

تهران - کیلومتر ۲۷ جاده قدیم ساوه - شهرستان بهارستان - شهرک صنعتی قلعه میر - خیابان شهید پروفسور علی شهریاری - نبش کوچه صنعت ۶ - پلاک ۴۴
کد پستی: ۳۱۱۳۴۸۷۱۹۹ - تلفن: (خط ویژه): ۰۲۱-۵۶۳۵۶۲۰۱ - دورنگار: ۰۲۱-۵۶۳۵۶۲۰۶

- مبلغ قرارداد در مجموع مبلغ 3,880,773,023 ریال می باشد که توسط طرف دوم بشرح ذیل پرداخت می شود .
- خریدار متعهد می گردد مبلغ 1.940.386.512 ریال معادل 50 درصد از کل مبلغ قرارداد را به عنوان پیش پرداخت نقداً در زمان انعقاد قرارداد به شماره حساب 00233390615 بانک تجارت بنام شرکت بسته بندی شادمهر یا شماره شبای IR-33018000000000233390615 واریز و فیش واریزی را برای شرکت شادمهر فکس نماید .
 - خریدار متعهد می گردد 40 درصد از کل مبلغ قرارداد به مبلغ 1.552.309.209 ریال را به شرح ذیل نقداً به فروشنده پرداخت نماید :
 - ✓ مبلغ 388.077.302 ریال پانزده روز پس از انعقاد قرارداد
 - ✓ مبلغ 388.077.302 ریال سی روز پس از انعقاد قرارداد
 - ✓ مبلغ 388.077.302 ریال چهل و پنج روز پس از انعقاد قرارداد
 - ✓ مبلغ 388.077.302 ریال شصت روز پس از انعقاد قرارداد
 - خریدار متعهد می گردد 10 درصد باقیمانده مبلغ قرارداد به مبلغ 388.077.302 ریال را نقداً در زمان حمل و بارگیری دستگاه به فروشنده پرداخت نماید.
 - فروشنده متعهد می گردد در قبال مبلغ پیش پرداخت به مبلغ 1.951.286.512 ریال سفته جهت تضمین قرارداد به خریدار تحویل نماید و خریدار متعهد می گردد سفته ضمانت را در زمان تحویل موقت و حمل و بارگیری دستگاه به فروشنده عودت نماید.

تبصره 1: تحویل دستگاه پس از تسویه حساب کامل خریدار خواهد بود ، در صورتیکه خریدار به تعهدات مندرج در قرارداد عمل ننماید فروشنده هیچگونه تعهدی نسبت به تحویل دستگاه ندارد. لازم به ذکر است زمان صدور دستور ساخت دستگاه به محض واریز پیش پرداخت می باشد.

تبصره 2: دستگاه فاقد کمپرسور هوا می باشد.

ماده 3: شرایط قرارداد

- 3-1 محل تحویل موقت دستگاه موضوع قرارداد درب کارخانه فروشنده می باشد . (این تحویل با اخذ صورتجلسه از خریدار یا فرستادگان وی انجام می شود یا بنابر درخواست ایشان ، شفاهاً یا کتباً در صورت صلاحدید فروشنده با مسئولیت کامل خریدار ارسال می گردد) و تحویل دائم پس از نصب و راه اندازی در محل کارخانه خریدار انجام می گردد.
- تبصره 1: فروشنده حمل گالای ارسال شده را در صورت پرداخت هزینه توسط خریدار برای وی بیمه می نماید .
- تبصره 2: در صورتی که خریدار به صورت کسبی تقاضای حمل دستگاه را بنماید و شخصاً جهت تحویل حاضر نگردد، لذا فروشنده در صورت توافق، با هزینه و مسئولیت خریدار، آن را ارسال می نماید. به هر حال تحویل به حامل کالا به معنی تحویل سلامت کالا به خریدار است.
- 3-2 محل تنظیم قرارداد به نشانی اعلامی فروشنده در قرارداد می باشد.
- 3-3 طرفین بجز در موارد مندرج در قرارداد حق قسح ندارند.
- 3-4 دانش فنی و علمی مورد معامله تنها تحت مالکیت فروشنده بوده و خریدار و هیچ شخص ثالثی حق هیچگونه کپی برداری از آن را نخواهد داشت.
- 3-5 خریدار با امضاء این قرارداد تایید می نماید که از مشخصات و خصوصیات موضوع قرارداد اطلاع کامل داشته و در اجرای قرارداد نمی تواند به عذر عدم اطلاع متوسل گردد.
- 3-6 در صورت قسح قرارداد از سوی هر یک از طرفین ، طرف قسح کننده می بایست مبلغ 1.951.286.512 ریال را به عنوان خسارت به طرف مقابل پرداخت نماید.

طرف اول

طرف دوم
نمونه گاه روزان

آدرس کارخانه و نمایشگاه:

تهران - کیلومتر ۲۷ جاده قدیم ساوه - شهرستان بهارستان - شهرک صنعتی قلعه میر - خیابان شهید پروفسور علی شریاری - نیش کوچه صنعت ۶ - پلاک ۴۴
کد پستی: ۳۱۱۳۶۸۷۱۹۹ - تلفن: (خط ویژه) ۰۲۱-۵۶۴۵۶۲۰۱ - دورنگار: ۰۲۱-۵۶۴۵۶۲۰۶

((قرارداد))

ماده 4: تعهدات خریدار

- 1-4) خریدار ظرف مهلت 25 روز از انعقاد قرارداد از هر نوع محصول مقدار 20 کیلوگرم و یک طاقه فیلم حرارتی برای هر سایز جهت تست در اختیار فروشنده قرار می دهد. در صورت تاخیر 2 روز به تاریخ تحویل در ازای هر روز علاوه بر ضمانت های دیگر اضافه می گردد.
- 2-4) هزینه های مرتبط با حمل دستگاه به محل نصب بر عهده خریدار می باشد. که قبل از حمل دستگاه باید تسویه گردد.
- 3-4) آماده سازی محل نصب دستگاه و پیش بینی نصب تابلوی برق و رعایت کلیه موارد ایمنی قبل از حمل و بارگیری و تخلیه دستگاه بر عهده خریدار می باشد.
- تبصره: در صورتی که خریدار به کلیه تعهدات مالی و غیرمالی موضوع قرارداد در مواعید قانونی معین شده عمل صحیح نماید نصب و راه اندازی، آموزش و خدمات پس از فروش صورت می پذیرد.
- 4-4) چنانچه خریدار پس از اعلام فروشنده مبنی بر آمادگی تحویل دستگاه (طبق قرارداد منعقد) اقدامی جهت دریافت آن به هر دلیلی بعمل نیاورد باید هزینه انبارداری را روزانه به مبلغ 500/000 ریال پرداخت نماید.
- 5-4) در صورتیکه تا قبل از زمان تحویل دستگاه خریدار درخواست لوازم و یا قطعات جانبی دیگری را داشته باشد که برای تحویل دادن آن احتیاج به زمان باشد بایستی متمم قرارداد منعقد و کلیه مبالغ قرارداد تسویه حساب شده و سپس مفاد متمم قرارداد قابل اجرا می باشد.
- 6-4) در صورت تخلف یا تاخیر از هر کدام از تعهدات، مذکور یا آتی، قراردادی یا مالی یا تاخیر در پرداخت هر کدام از وجوه یا چک ها و ...، به ازای هر روز تاخیر یک روز به مدت زمان تحویل دستگاه افزوده خواهد شد و خریدار می بایست روزانه مبلغ 500/000 ریال به عنوان ضرر و زیان به فروشنده پرداخت نماید.

ماده 5: تعهدات فروشنده قرارداد

- 1-5) فروشنده موظف است ظرف مدت 90 روز کاری از تاریخ انجام کلیه تعهدات از جمله دریافت مبلغ نقدی و وصول چک پیش پرداخت و شرایط کاری دستگاه را آماده نماید.
- 2-5) خریدار حق ندارد موضوع قرارداد را تا پایان تسویه حساب کامل یا فروشنده به غیر بفروشد یا متعهد حق دیگران قرار دهد از جمله رهن و اجاره و ... و این حق سلب و ساقط شد.
- 3-5) فروشنده متعهد میگردد در صورت تاخیر در تحویل دستگاه روزانه مبلغ 500/000 ریال به عنوان ضرر و زیان به خریدار پرداخت نماید.

ماده 6: حوادث فورس ماژور

در صورت بروز حوادث غیر مترقبه از جمله سیل، زلزله، تحریم های اقتصادی که خارج از اراده طرفین باشد به مدت تحویل در قرارداد افزوده می شود.

ماده 7: حل اختلافات

طرفین سعی می نمایند ابتدا از طریق صلح و سازش عمل نمایند در غیر اینصورت اختلاف از طریق مراجع قضایی پیگیری و حل می گردد.

ماده 8: نسخ امضاء شده قرارداد

این قرارداد در 8 ماده و پنج تبصره در سه نسخه تنظیم و هر نسخه در حکم واحد می باشد.

طرف اول
شادمهر

طرف دوم
انوشیروان

آدرس کارخانه و نمایشگاه:

تهران - کیلومتر ۲۷ جاده قدیم ساوه - شهرستان بهارستان - شهرک صنعتی قلعه میر - خیابان شهید پروفسور علی شریاری - نبش کوچه صنعت ۶ - پلاک ۴۴
کد پستی: ۳۱۱۳۶۸۷۱۹۹ - تلفن: (خط ویژه) ۰۲۱-۵۶۴۵۶۲۰۱ - دورنگار: ۰۲۱-۵۶۴۵۶۲۰۶

سازنده انواع ماشین آلات مدرن بسته بندی

تاریخ : 30 / 04 / 99

شماره : 344 / خ 99

((قرارداد خدمات، نصب، راه اندازی و آموزش))

این قرارداد براساس ماده 10 و 190 قانون مدنی فیما بین طرفین ذیل منعقد و برای آنها لازم الاتباع و لازم الاجرا می باشد.

مادة 1 : طرفین قرارداد

تلف : شرکت بسته بندی شادمهر (سهایی خاص) به نمایندگی آقای اصغر سبزی (مدیر عامل) به شماره ثبت 87130 و کد اقتصادی 411115748998
نشانی : تهران کیلومتر 27 جاده قدیم ساوه، بالاتر از سه راه ادران ، خیابان رنگ کار ، پش کوجه صنعت 6 ، پ 44 تلفن 3-021-56456201 فکس:
021-56456206 که به اختصار در این قرارداد طرف اول نامیده می شود.(فروشنده)

ب: پژوهشگاه رویان به نمایندگی آقای رضا عظیمی و نظارت فنی آقای یحیی خزائی به شناسه ملی: 411319974664 کد اقتصادی: 14001906001 و کد پستی: 1665659911 به نشانی: تهران، خیابان بنی هاشم، خیابان حافظ شرقی، کوچه رویان تلفن ثابت: 02123562600 تلفن همراه: 09133197856 (آقای خزائی) که به اختصار طرف دوم نامیده می شود. (خریدار)

2 ماه

موضوع قرارداد عبارتست از نصب، راه اندازی و آموزش که مربوط به فروش یک دستگاه پسته بندی ساشه 3-4 طرف دوخت چهار واحد توزین کوچک مدل SM-338 سفارشی مسیر مواد رو استیل 316 گرید A صادراتی می باشد.

ماده 3

پس از تحویل دستگاه و ارسال به کارخانه خریدار، خریدار ظرف مدت 5 روز کتبی آمادگی خود را جهت نصب و راه اندازی و آموزش به اطلاع فروشنده می‌رساند تا فروشنده نیروی مربوطه را جهت تحویل و راه اندازی دائم دستگاه به کارخانه خریدار اعزام نماید.

4 مادی

خریدار جهت بهره‌مندی از خدمات پس از فروش یا گارانتی به طریق مکتوب از شرکت، نیروی متخصص یا خدمات را درخواست می‌نماید. پدیهی است موضوع درخواست خارج از طریق فوق باعث رفع مسئولیت از فروشنده خواهد بود.

ماده 5

میزبانی ایاب و ذهاب، هتل و اسکان و غذای پرسنل فنی اعزامی جهت آموزش و تعمیرات در زمان گارانتی و خدمات پس از فروش به عهده ی خریدار می باشد.

تبصره: هزینه نصب و راه اندازی و خدمات پس از فروش به عهده خریدار بوده و به شرح ذیل می باشد:

شرح	مبلغ (به ریال)
هزینه نصب، راه اندازی و خدمات پس از فروش	10.000.000
9 درصد عوارض و مالیات بر ارزش افزوده	900.000
مبلغ قابل پرداخت	10.900.000

خریدار متعهد می گردد مبلغ 10.900.000 ریال معادل 100 درصد از کل مبلغ قرارداد را نقداً در زمان انعقاد قرارداد به شماره حساب بانک سپه شعبه پایلیمبر اعظم جاری شماره 1980301511811 به نام شرکت شادمهر یا به شماره شب 1980301511811 واریز و فیش واریزی را برای شرکت شادمهر فکس نماید.

6 داده

پرسنل مذکور از ساعت 8 صبح الی 5 بعد از ظهر حق کار در شرکت خریدار را دارند و قبل و بعد از آن جبران هر حادثه برای نماینده فروشنده به عهده خریدار می باشد.

7 est

صوب و راه اندازی برای یک بار صورت می پذیرد و منوط به اجرای کامل تعهدات مالک و غیر مالک قرارداد توسط خریدار می باشد.

1

آدرس کارخانه و نمایشگاه:

تهران - کیلومتر ۲۷ جاده قدیم ساوه - شهرستان بهارستان - شهرک صنعتی قلعه میر - خیابان شهید پروفیسور علی شهبازی - نش کوچه صنعت ۶ - پلاک ۴۴
کد پستی: ۳۱۱۳۴۷۱۹۹ - تلفن: (خط ویژه) ۰۲۱-۵۶۴۵۶۲۰۱ - دورنگار: ۰۲۱-۵۶۴۵۶۲۰۶

ماده 8

آماده سازی محل نصب دستگاه و پیش بینی نصب تابلوی برق و رعایت کلیه موارد ایمنی قبل از حمل و بارگیری و تخلیه دستگاه بر عهده خریدار می باشد و فروشنده مسئولیتی ندارد.

ماده 9

خریدار موظف به گماردن افراد با تجربه و مفید در زمینه استفاده از دستگاه می باشد.

ماده 10

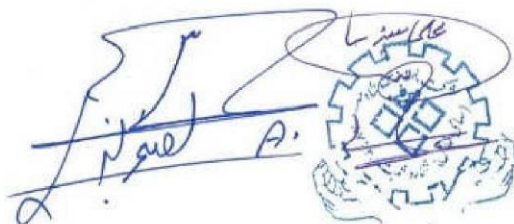
دستگاه پس از تاریخ تعیین شده جهت حمل و بارگیری در صورتیکه یک شیفت کاری در روز از آن استفاده شده باشد به مدت 36 ماه گارانتی یا 4 نوبت یک روزه قابل سرویس دهی و دارای 20 سال خدمات پس از فروش می باشد. دستگاه می بایست ظرف مدت 30 روز پس از حمل و بارگیری نصب و راه اندازی گردد. ضمناً لوازم برقی و پنوماتیک جزء گارانتی محسوب نخواهد شد. تبصره: چنانچه پس از بررسی نیروی خدمات پس از فروش این شرکت معلوم گردد که دستگاه فروخته شده توسط شخص یا شرکت دیگری تعمیر و یا دستکاری شده باشد این شرکت هیچگونه مسئولیتی در قبال گارانتی و خدمات پس از فروش آن را ندارد.

ماده 11

تأمین قطعات یدکی در زمان گارانتی به عهده فروشنده می باشد.

ماده 12

آموزش تعداد یک نفر از پرسنل فنی خریدار جهت آشنایی با طرز کار دستگاه در صورت انجام کلیه تعهدات توسط خریدار حداکثر به مدت دو روز به عهده فروشنده می باشد. نتیجه آموزش مورد تعهد نمی باشد و خریدار مسئول هر گونه خسارت ناشی از اعمال پرسنل خود و شخص ثالث نسبت به دستگاه خواهد بود. (قابل ذکر است سواد برای آموزش گیرنده به خاطر بهره وری بیشتر دیپلم فنی می باشد). این قرارداد در 12 ماده و دو تبصره در سه نسخه تنظیم و هر نسخه در حکم واحد می باشد.



طرف اول



2

آدرس کارخانه و نمایشگاه:

تهران - کیلومتر ۲۷ جاده قدیم ساوه - شهرستان بهارستان - شهرک صنعتی قلعه میر - خیابان شهید پروفسور علی شریاری - نبش کوچه صنعت ۶ - پلاک ۴۴
کد پستی: ۳۱۱۳۶۸۷۱۹۹ - تلفن: (خط ویژه) ۰۲۱-۵۶۳۵۶۲۰۱ - دورنگار: ۰۲۱-۵۶۳۵۶۲۰۶

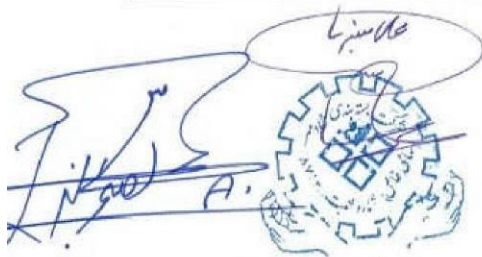
تاریخ: 99/04/30
 شماره: 99/د/344

((قرارداد))

((پیوست شماره یک قرارداد))

• قطعات استفاده شده در دستگاه به شرح زیر می باشد:

موتور	گیربکس	Plc	تاج	ترمینال
ایلماز	ایلماز	دلنا	دلنا	رعد
ترانس	تایمر	استیل موارد رو	رله	رنگ
ایرانی دارای استاندارد	کونیو-کره	316	فیندر یا فونیکس	الکترو استاتیک
کنتاکتور	کلید حرارتی	المنت	جک و شیر برقی	اینورتر
زیمنس	زیمنس	بهترین مارک ایرانی	بهترین مارک معتبر چینی یا ایرانی (درصورت موجود بودن هر کدام در بازار)	فوجی ژاپن





4

آدرس کارخانه و نمایشگاه:

تهران - کیلومتر ۲۷ جاده قدیم ساوه - شهرستان بهارستان - شهرک صنعتی قلعه میر - خیابان شهید پروفسور علی شریاری - نبش کوچه صنعت ۶ - پلاک ۴۴
 کد پستی: ۳۱۱۳۶۸۷۱۹۹ - تلفن: (خط ویژه): ۰۲۱-۵۶۳۵۶۲۰۱ - دورنگار: ۰۲۱-۵۶۳۵۶۲۰۶

پیوست ۶: گزارش بازدید از دستگاه پرکن ساشه

شماره: ۵/۱۴۶۱/۹۹

شماره:

پیوست:

عادی

طبقه بندی



جمهوری اسلامی ایران



پژوهشگاه رویان
پژوهشکده زیست فناوری

گیرندگان خارجی:

سمت:

گیرندگان داخلی:

رضا عظیمی معاون پشتیبانی

موضوع:

گزارش بازدید شرکت فروش دستگاه ساشه پرکن شادمهر

با سلام

احتراما پیرو خرید دستگاه ساشه پرکن و عدم تحویل به موقع دستگاه از جانب سازنده علیرغم پرداخت تمامی اقساط، در تاریخ ۲۲ آذرماه و نیز ۱۰ دی ماه بازدید توسط کارشناسان رویان از محل شرکت مذکور به عمل آمد که گزارش آن خدمت حضرتعالی اعلام می گردد.

پس از انجام مذاکرات تخصصی فی مابین کارشناسان شرکت شادمهر و کارشناسان فنی و بازرگانی رویان، این شرکت ملزم گردید ظرف دو ماه آینده نسبت به تکمیل و تحویل دستگاه اقدام نماید. به علت شیوع بیماری کرونا این شرکت در حال کار با نصف ظرفیت بوده و به همین علت در تکمیل ساخت اکثر دستگاه ها از تعهدات زمانی خود عقب افتاده است. این شرکت ضمن پذیرش قصور، متعهد گردید که در هر زمانی و با توجه به نظر پژوهشگاه، نسبت به تعبیه خط لوله و یقه مربوط به یک عرض ساشه انتخابی دیگر اقدام نماید. البته پرداخت اقساط چهارگانه ی دستگاه توسط پژوهشگاه به ترتیب ۹، ۱۷، ۳۲، ۹ و ۶ روز تاخیر داشت که در درجه اول همین امر باعث ایجاد وقفه در روند تکمیل کار شده بود. به طوری که طبق قرارداد به ازای هر روز دیرکرد در پرداخت اقساط، یک روز به تاریخ تحویل و ۵۰۰،۰۰۰ ریال جریمه برای رویان در نظر گرفته می شد.

همچنین شرکت شادمهر متعهد گردید که بسته به نظر پژوهشگاه، تا حد ممکن نسبت به کم کردن ارتفاع دستگاه به منظور به حداقل رساندن محدودیت اسکان دستگاه در انواع کلین روم های واحدهای تولید قراردادی در آینده مبادرت ورزد.

گیرندگان داخلی:

رضا عظیمی معاون پشتیبانی

موضوع:

گزارش بازدید دستگاه ساشه پرکن

با سلام

احتراما عطف به قرارداد شماره ۳۴۴/د/۹۹ مورخ ۳۰/۰۴/۱۳۹۹ با شرکت صنایع بسته بندی شادمهر مبنی بر ساخت یک دستگاه ساشه پرکن و عدم تحویل به موقع دستگاه از جانب سازنده علیرغم انجام کلیه تعهدات پژوهشگاه در تاریخ ۱۴۰۰/۰۸/۱۲ بازدید صورت گرفت که نتایج به شرح زیر به حضور ایفاد می گردد .

- مطابق با موضوع قرارداد ، دستگاه بسته بندی ساشه بایستی ۳ تا ۴ طرف دوخت باشد در حالی که دستگاه تولیدی فقط قادر به ۳ طرف دوخت بوده که مغایر با قرارداد بوده و پس از مذاکرات و تشریح بند قرارداد ، مقرر گردید اصلاحات لازم صورت پذیرد .
- کاپه انتظار استیل ۳۱۶ روی دستگاه نصب نگردیده و توافق مکتوبی هم برای حذف این قطعه وجود ندارد.
- دستگاه جهت بهره برداری نیاز به یک دستگاه کمپرسور باد دارد که خارج از قرارداد می باشد.
- همچنین به دلیل گیرپاژ کردن مداوم ماردون دستگاه، لوله واسطه کوتاه شد که منجر به تولید گرد و غبار می شود و به منظور رفع این مشکل پمپ جذب گرد و غبار باید نصب گردد.

با توجه به مغایرت ها، فروشنده علیرغم محاسبه جریمه های ناشی از تاخیر در تولید و تحویل دستگاه، متعهد شد که در صورت هرگونه کارکرد نامناسب، کلیه هزینه های تعمیرات، ایاب و ذهاب، تاخیر در تولید را برعهده گیرد. موارد جهت پیگیری تحویل دستگاه در دستور کار اجرایی این شرکت می باشد. از حسن توجه حضرتعالی سپاس گذاری می نماید

پیوست شماره ۷: SMF الکتروولیت پلاس

Site Master File پودر محلول در آب الکتروولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
صفحه: ۱ از ۲۳	شماره بازنگری: ۰۰	کد مدرک: 26-03-11-020-00	

صفحه	عنوان	صفحه	عنوان
۱۶	تشریح فرآیند تولید	۲	هدف
۱۷	اطلاعات ماده موثره و درصد آن	۲	دامنه کاربرد
۱۷	دستورالعمل‌های کنترل و تعیین مقدار	۳	اطلاعات کلی کارخانه
۱۷	حیوان هدف	۴	سیستم مدیریت کیفیت
۱۷	مورد مصرف محصول	۴	فرآیند آزادسازی محصول
۱۷	مقادیر پیش لیبیل	۴	مدیریت تأمین کنندگان
۱۸	مدیریت مواد و انبارداری	۵	پرستل
۱۸	نحوه برخورد با مواد اولیه پسته‌بندی	۵	جارت سازمانی شرکت
۱۸	شرایط جابه‌جایی مواد خطرناک و سمی	۶	تعداد پرستل شاغل
۱۸	نحوه برخورد با محصول	۶	نقش و وظیفه مسئول فنی
۱۸	نحوه برخورد با مواد و محصولات تأیید شده	۷	آموزش پرستل
۱۹	کنترل کیفیت	۷	بهداشت پرستل
۱۹	تشریح فعالیت‌های آزمایشگاه	۷	الزامات بهداشتی محیط
۲۰	نقش کنترل کیفیت در خرید و تأیید مواد اولیه	۸	پوشش کارکنان
۲۰	نقش آزمایشگاه کنترل بر روند تولید محصولات	۹	ساختمان و تجهیزات
۲۰	نقش آزمایشگاه کنترل در آزادسازی محصول	۱۰	سیستم HVAC
۲۱	توزیع و پخش	۱۰	سیستم خالص‌سازی آب
۲۱	شکایات مشتری	۱۱	سیستم تولید و توزیع هوای فشرده
۲۱	محصولات معیوب و فراخوانی محصول	۱۱	سیستم تولید و توزیع (N2)
۲۲	خودبازرسی	۱۱	سیستم تولید و توزیع بخار صنعتی
۲۲	ممیزی داخلی	۱۲	لیست دستگاه‌های اصلی تولید محصول
۲۲	بازرسی‌های GMP	۱۲	روش تمیزکاری
۲۲	بازرسی ایمنی و ارگونومی	۱۲	فرآیند تصفیه فاضلاب
۲۲	بازرسی بهداشتی	۱۴	مستند سازی
۲۲	مراجع	۱۶	تولید

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
صفحه: ۲ از ۲۲	شماره بازنگری: ۰۰	کد مدرک: 26-03-11-020-00	

۱. هدف

مستندی است که فعالیت‌های وابسته به GMP سازنده را توصیف می‌کند.

۲. دامنه کاربرد

این مستند در شرکت داروسازی امین کاربرد دارد که شامل موارد زیر می‌باشد:

۱. اطلاعات عمومی و کلی کارخانه
۲. سیستم مدیریت کیفیت
۳. پرسنل
۴. ساختمان و تجهیزات
۵. مستندسازی
۶. تولید
۷. کنترل کیفیت
۸. توزیع، شکایات، معایب تولید و فراخوان محصول
۹. بازرسی داخلی

- این محصول متعلق به شرکت زیست فناوریان رویان ایمن می‌باشد که براساس قرارداد شماره ۹۹۹۹۲-۱۹ مورخ ۱۳۹۹/۰۳/۱۹ در شرکت داروسازی امین تولید و بسته‌بندی خواهد شد.

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			
صفحه: ۳ از ۲۲	شماره بازنگری: ۰۰	کد مدرک: 26-03-11-020-00	

۱. اطلاعات کلی کارخانه

۱-۱- شرکت داروسازی امین در زمینی به مساحت ۳۲ هکتار در دامنه ایران کوه از رشته کوه‌های زاگرس احداث گردیده است. عملیات ساخت این شرکت از سال ۱۳۶۳ آغاز گردیده و در سال ۱۳۶۹ به بهره برداری رسید.

- آدرس کارخانه: اصفهان، آزاد راه ذوب آهن، کلیشاد، مقابل شهر بهاران، شرکت داروسازی امین

- صندوق پستی: ۸۱۴۶۵/۱۵۸۸

- تلفن کارخانه: ۰۳۱-۳۷۴۸۰۱۷۰-۲

- فاکس کارخانه: ۰۳۱-۳۷۲۵۲۸۹۸

- تلفن شکایت مشتری: ۰۳۱-۳۷۴۸۸۰۸۰

- کد پستی کارخانه: ۸۴۵۹۱۴۹۹۹۵

- آدرس سایت: www.aminpharma.com

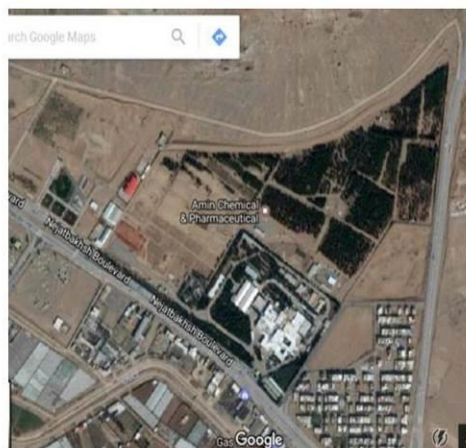
- پست الکترونیکی: info@aminpharma.com

- آدرس دفتر تهران: بزرگراه اشرفی اصفهانی، بلوار مرزداران، خیابان حضرت ابوالفضل، روبروی بوستان هفتم غربی، پلاک ۴، طبقه دوم

- تلفن دفتر تهران: ۰۲۱-۴۴۲۹۷۹۵۲-۳

- کد پستی دفتر تهران: ۱۴۶۱۷۴۵۶۷۴

- فاکس دفتر تهران: ۰۲۱-۴۴۲۹۸۲۲۴



Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
صفحه: ۴ از ۲۲	شماره بازنگری: ۰۰	کد مدرک: 26-03-11-020-00	

۲. سیستم مدیریت کیفیت

۲-۱- سیستم مدیریت کیفیت

شرکت داروسازی امین همواره تلاش نموده است محصولات خود را به گونه‌ای طراحی و تولید نماید تا از مناسب بودن مشخصه‌های کیفی آن‌ها و انطباق این مشخصه‌های کیفی با استانداردهای مورد نظر اطمینان حاصل نموده و محصول با اثربخشی بالا تولید نماید. در راستای دستیابی به این هدف کیفی، شرکت سعی نموده که مشارکت کلیه پرسنل و التزام آن‌ها در بخش‌های مختلف شرکت را در امور کیفی همراه خود داشته باشد. همچنین برای رسیدن به این اهداف کیفیتی شرکت یک سیستم تضمین کیفیت پایه‌گذاری نموده است تا بر کلیه فعالیت‌های کیفیتی نظارت داشته باشد و از مؤثر بودن این فعالیت‌ها اطمینان حاصل نماید.

شرکت داروسازی امین دارای استانداردهای ISO 9001:2015 و ISO 14001:2015 و ISO 45001 از شرکت DQS آلمان می‌باشد.

کپی گواهینامه‌های ISO در پیوست شماره ۱ آمده است.

۲-۲- فرآیند آزادسازی محصول

فرآیند آزادسازی محصول طبق دستورالعمل ابلاغی از سازمان دامپزشکی کشور انجام می‌گردد.

۲-۳- مدیریت تأمین‌کنندگان و طرف‌های قرارداد

۲-۳-۱- تأمین‌کنندگان مواد اولیه و مواد بسته‌بندی

در شرکت داروسازی امین تأمین‌کنندگان مواد اولیه و مواد بسته‌بندی توسط تیمی متشکل از کارشناسان آزمایشگاه کنترل کیفیت، تضمین کیفیت، بازرگانی و سایر واحدهای مرتبط مورد ارزیابی قرار می‌گیرند و تأمین‌کنندگانی که در این ارزیابی‌ها امتیاز لازم را کسب نمایند مورد تأیید قرار گرفته و خرید مواد اولیه و مواد بسته‌بندی از آن‌ها انجام می‌گیرد. در ارزیابی تأمین‌کنندگان مواد اولیه و بسته‌بندی پارامترهای زیرمورد بررسی قرار می‌گیرد:

- مطابقت با اصول GMP

- دارا بودن گواهینامه GMP

- دارا بودن گواهی ISO 9001

- دارا بودن گواهی ISO 14001

- دارا بودن گواهی ISO 45001

- دارا بودن شهرت و اعتبار مطلوب

- بررسی امکانات و دستگاه‌ها و تجهیزات مناسب در جهت تولید محصولی با کیفیت

- بررسی و ارزیابی مستندات مربوطه

ارزیابی تأمین‌کنندگان و پیمانکاران در دستورالعمل شماره 15-02-15-001 و فرم شماره 15-02-16-007 بطور کامل توضیح داده شده است. لیست تأمین‌کنندگان مجاز در پیوست شماره ۲ ارائه شده است.

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
کد مدرک: 26-03-11-020-00	شماره بازنگری: 00	صفحه: ۵ از ۲۲	

۳. پرسنل

۳-۱- چارت سازمانی شرکت

چارت سازمانی شرکت در پیوست شماره ۳ آورده شده است.

نام و سوابق پرسنلی کلیدی

نام و نام خانوادگی: دکتر محمدهدی حقوقی

سمت: مدیریت عامل

میزان تحصیلات: دکترای داروسازی

سابقه کار: ۲۶ سال

نام و نام خانوادگی: دکتر شراره حاجی شمسی

سمت: مدیر تضمین کیفیت

میران تحصیلات: دکترای داروسازی

سابقه کار: ۱۶ سال

نام و نام خانوادگی: دکتر ناصر معصومزاده

سمت: مسئول فنی بخش داروهای دامی

میزان تحصیلات: دکترای دامپزشکی

سابقه کار: ۱۶ سال

نام و نام خانوادگی: دکتر شیرین هاشمی

سمت: مدیر آزمایشگاه کنترل کیفی

میزان تحصیلات: دکترای داروسازی

سابقه کار: ۱۷ سال

نام و نام خانوادگی: دکتر مسعود کریمی

سمت: مدیر تولید

میزان تحصیلات: دکترای داروسازی

سابقه کار: ۷ سال

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
صفحه: ۶ از ۲۲	شماره بازنگری: ۰۰	کد مدرک: 26-03-11-020-00	

۲-۳- تعداد پرسنل شاغل در بخش‌ها

گزارش آمار پرسنل به تفکیک هر واحد در پیوست ۴ ارائه شده است.

۲-۳-۱- نقش و وظیفه مسئول فنی

۱. نظارت بر اجرای کلیه بخش‌نامه‌ها و دستورالعمل‌های سازمان دامپزشکی
۲. نظارت بر کلیه امور فنی مربوط به دارو، مکمل و دی کلسیم فسفات
۳. حضور فعال در ساعات کاری شرکت مطابق قوانین کار
۴. نظارت مستمر بر نحوه نگهداری مواداولیه، و حفظ شرایط انبارهای مواداولیه از قبیل درجه حرارت و رطوبت
۵. نظارت بر امور کیفی مواداولیه از قبیل تغییرات فیزیکی، شیمیایی، میکروبی، تاریخ تولید و انقضاء یا بهترین زمان مصرف

۶. نظارت بر میزان مواداولیه مصرف شده در خط تولید
۷. نظارت بر مراحل میکس کردن، وزن کردن، فیکس کردن و ...
۸. نظارت بر مراحل بسته‌بندی مانند نوع و جنس مواد بسته‌بندی
۹. نظارت بر ثبت مندرجات لازم بر روی لیبل بسته‌بندی مانند محصول، ماده مؤثره، تاریخ تولید، تاریخ انقضاء، شماره سری ساخت، شماره ساخت از سازمان، وزن محصول، آنالیز محصول و و ثبت موارد ضروری مانند شرایط نگهداری و نحوه مصرف

۱۰. همکاری و هماهنگی لازم به منظور تشکیل سمینارها، کنفرانس‌ها و کلاس‌های آموزشی
 ۱۱. نظارت بر نگهداری تعداد یا مقدار مناسب و کافی از شماره سری ساخت‌های تولیدی در اتاق پایگانی نمونه‌ها (نمونه‌ها حداقل تا یک سال پس از تاریخ انقضاء باید نگهداری شوند)
 ۱۲. نظارت بر رعایت بهداشت کارکنان و ایمنی فردی در محیط کار
 ۱۳. نظارت و همکاری بر جمع‌آوری داروها و محصولات ریکال
 ۱۴. تهیه و ارسال گزارش میزان تولید ماهیانه شرکت در پایان هرماه به اداره کل
 ۱۵. نظارت بر نحوه عملکرد مسئول و مسئولین آزمایشگاه شرکت
 ۱۶. نظارت بر رعایت بهداشت در محیط کار
- تبصره: مسئولین شرکت تولیدکننده موظفند:
۱. کلیه مکاتبات سازمان و اداره کل با شرکت را به اطلاع مسئول فنی برسانند.
 ۲. امکانات لازم جهت اجرای بندهای فوق فراهم نمایند.

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
کد مدرک: 26-03-11-020-00	شماره بازنگری: 00	صفحه: ۷ از ۲۲	

۳. مکاتباتی که در رابطه با شرح وظایف فوق، شرکت با سازمان انجام می‌دهند با اطلاع مسئول فنی تهیه و صادر نمایند.
۴. جهت برگزاری سمینارها و کنفرانس‌ها و کلاس‌های آموزشی شرکت‌کننده مکلف است قبل از هرگونه اقدامی توسط مسئول فنی با سازمان دامپزشکی و اداره کل هماهنگی لازم را به عمل آورد.
۵. تولید هرگونه محصول فقط با نظارت مسئول فنی بوده و شرکت موظف است در این زمینه با مسئول فنی همکاری لازم را معمول دارد.

۳-۳- آموزش پرسنل

از آنجا که نیروی انسانی جزو سرمایه‌های شرکت محسوب شده و نقش بسیار مهمی در تولید محصولات با کیفیت دارد بحث آموزش این نیروها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. شرکت داروسازی امین برای کلیه پرسنل، مخصوصاً پرسنلی که فعالیت‌های آن‌ها بر روی کیفیت محصولات اثرگذار می‌باشد (مانند پرسنل تولید، آزمایشگاه، فنی مهندسی و ...) بصورت منظم دوره‌های آموزشی در زمینه‌های مختلف برگزار می‌نماید. همچنین برای پرسنل جدیدالاستخدام قبل از شروع به کار آموزش - های لازم برگزار می‌گردد و پس از استخدام نیز آموزش‌های حین کار برای پرسنل برگزار می‌شود. دوره‌های آموزشی برای هر واحد براساس نیازسنجی آموزشی که از واحدهای مختلف بعمل آمده است برگزار می‌گردد. پس از برگزاری هر دوره آموزشی، اثربخشی این دوره پس از گذشت شش ماه مورد ارزیابی قرار می‌گردد.

هر کدام از پرسنل دارای پرونده آموزشی جداگانه بوده که سوابق آموزشی وی در آن ثبت می‌گردد. این پرونده‌ها در واحد آموزش بایگانی می‌شود.

۳-۴- بهداشت پرسنل

بهداشت و سلامت پرسنل از جایگاه ویژه‌ای در شرکت داروسازی امین برخوردار می‌باشد به همین دلیل برای بررسی وضعیت سلامت پرسنل معاینات و آزمایش‌های ادواری برای کلیه پرسنل بصورت منظم برطبق برنامه تنظیم شده انجام می‌گردد. این معاینات برای کلیه پرسنل سالانه یک مرتبه انجام می‌گردد.

همچنین برای پرسنل جدید، قبل از شروع بکار معاینات و آزمایش‌های بدو استخدام انجام می‌شود.

- با انجام این معاینات و رعایت نکات بهداشتی سعی شده است اطمینان حاصل شود پرسنل با بیماری‌های تأثیرگذار بر روی کیفیت محصول در خطوط تولید یا مکان‌هایی که در ارتباط و تأثیر بر روی محصول هستند به کار گرفته نشود.
- در صورتی که فردی دارای بیماری عفونی یا انگلی تشخیص داده شود تا زمان برطرف شدن بیماری و بهبودی کامل اجازه ورود یا کار کردن در واحد تولید یا هر واحدی که در ارتباط مستقیم با محصول می‌باشد را ندارد.
- برای ارتقاء بحث بهداشت در سطح شرکت، واحد آموزش اقدام به برگزاری دوره‌های مرتبط با بهداشت شخصی و دوره‌های ایمنی و بهداشت حرفه‌ای می‌نماید.

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
صفحه: ۸ از ۲۲	شماره بازنگری: ۰۰	کد مدرک: 26-03-11-020-00	

۳-۴-۱- الزامات بهداشتی محیط تولید

- تمامی پرسنل شاغل در تولید موظف به پوشیدن لباس مخصوص تولید، کلاه، دستکش و ماسک می‌باشند.
- تمامی مراحل ساخت در اتاق‌های تمیز انجام می‌شود و تمامی پرسنل موظفند قبل از ورود به اتاق‌های تمیز لباس‌های خود را تعویض نموده و دست‌های خود را ضدعفونی نمایند.
- خوردن و آشامیدن، سیگار کشیدن، استراحت کردن، استفاده از جواهرات و آرایش کردن در محیط تولید ممنوع می‌باشد.
- برای استراحت کردن و صرف چایی، مکان جداگانه‌ای در نظر گرفته شده است.

۳-۴-۲- پوشش کارکنان

تمامی پرسنل برای ورود به تولید و فضاهای تولیدی بایستی لباس‌های خود را عوض نموده و لباس‌های تعریف شده جهت هر محیط تولیدی را بپوشند. رنگ، جنس و نوع لباس‌هایی که پرسنل باید در قسمت‌های مختلف بپوشند در دستورالعمل چگونگی ورود و خروج پرسنل 17-12-15-001 آمده است.

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
کد مدرک: 26-03-11-020-00	شماره بازنگری: 00	صفحه: ۹ از ۲۲	

۴. ساختمان و تجهیزات

در فرآیند ساخت محصولات دامی قسمت های تولید، انبارها، آزمایشگاه و سیستم های پشتیبانی دخالت دارند. مساحت هر یک از این بخش ها در جدول زیر آورده شده است.

ردیف	واحد / بخش	مساحت (m^2)
۱	تولید	335.7
۲	انبارها	انبار مواد اولیه قدیمی 1190
		انبار مواد اولیه جدید 570
		انبار محصول 34
۳	آزمایشگاه و تحقیقات	651.3
۴	موتورخانه	466
۵	تصفیه خانه فاضلاب	2894
۶	خالص سازی آب	533.8
۷	سیستم هوای فشرده	70



Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
کد مدرک: 26-03-11-020-00	شماره بازنگری: 00	صفحه: ۱۰ از ۲۲	

۱-۴- تجهیزات

۱-۱-۴- سیستم HVAC

با توجه به اینکه تمام بخش‌های تولید که با محصول بصورت مستقیم در تماس هستند دارای کلاس تمیزی D می‌باشند عملکرد و کارایی سیستم‌های هواساز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

برای عملکرد و کارایی مناسب سیستم‌های هواساز اجرای برنامه تعمیرات و نگهداری (PM) این سیستم‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد که این امر توسط واحد فنی و مهندسی انجام می‌گردد. سرویس‌های منظم این سیستم‌ها سبب کارایی مستمر آن‌ها می‌شود.

لیست و شماره قسمت‌های مختلف HVAC در پیوست شماره ۵ آورده شده است.

نقشه جانمایی هواساز در پیوست شماره ۶ موجود می‌باشد.

۲-۱-۴- سیستم خالص‌سازی آب

آب خالص مصرفی شرکت با استفاده از سیستم خالص‌سازی آب ساخت شرکت کریس Crise سوئیس در واحدهای آبسازی سخت و نرم تولید می‌شود. کلیه مراحل با نظارت کامل آزمایشگاه‌های شیمیایی و میکروبی انجام شده و مستندات مربوطه تهیه و جمع‌آوری می‌گردند.

- قسمت خالص‌سازی آب در هر ساعت ۱۲ متر مکعب آب خالص تولید می‌کند.
- تمامی مراحل تهیه آب در نقشه شماتیک سیستم آب خالص‌ساز در پیوست شماره ۷ موجود می‌باشد.
- لیست کلیه تجهیزات ساخت آب خالص در ضمیمه شماره ۸ ارائه شده است.



Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
کد مدرک: 26-03-11-020-00	شماره بازنگری: 00	صفحه: ۱۱ از ۲۲	

۳-۱-۴- سیستم تولید و توزیع هوای فشرده (Compressed Air)

هوای فشرده مصرفی در این سایت توسط کمپرسورهای Free Oil ساخت شرکت اطلس کپکو بلژیک تولید شده و در سه منبع ذخیره هوا، ذخیره می‌گردد. سپس توسط خطوط لوله‌کشی به کلیه قسمت‌های مورد نظر منتقل می‌گردد. در اکثر قسمت‌های تولید رگولاتورهایی قرار دارد که فشار هوا را می‌شکند و به فشار مورد نیاز تبدیل می‌کند همچنین درون این رگولاتورها فیلترهای 0.2 میکرون قرار دارد تا ذرات گرد و غبار را فیلتر نماید.

- ظرفیت تولید هوای فشرده ۲۷۳ لیتر بر ثانیه می‌باشد.
- فشار هوای فشرده در لوله‌ها حدود ۷ بار می‌باشد.
- هوای فشرده برای کلیه قسمت‌های تولید فرستاده می‌شود.
- لیست کلیه تجهیزات تولید و توزیع هوای فشرده در پیوست شماره ۹ ارائه شده است.

۴-۱-۴- سیستم تولید و توزیع (N₂)

در شرکت داروسازی امین گاز نیتروژن مورد نیاز بخش‌های تولید از طریق سیلندره‌های نیتروژن تحت فشار با خلوص ۹۹/۹ که از خارج از شرکت خریداری می‌شود، تأمین می‌گردد. سیلندره‌های نیتروژن در کنار موتورخانه نصب شده‌اند و از آنجا توسط لوله‌کشی به قسمت ساخت مایعات و پس از آن به قسمت مایعات منتقل می‌گردد.

- فشار نیتروژن در سیلندره‌های نیتروژن ۳۰ بار و در خطوط تولید بین ۲ تا ۲,۵ بار می‌باشد.
- نقشه سیستم‌های توزیع گاز نیتروژن و همچنین گواهی تأییدیه گاز مصرفی در پیوست شماره ۱۰ ارائه شده است.
- لیست کلیه تجهیزات توزیع گاز نیتروژن در پیوست شماره ۱۱ ارائه شده است.

۵-۱-۴- سیستم تولید و توزیع بخار صنعتی

با توجه به اینکه در این شرکت محصول استریل تولید نمی‌شود، بخار تولید و مصرف شده بخار صنعتی بوده و بخار تمیز نمی‌باشد به همین دلیل سیستم تولید و توزیع بخار نیازی به احراز کیفیت ندارد.

- ظرفیت تولید بخار ۵ تن در ساعت می‌باشد.
- متوسط دمای بخار ۱۲۰ درجه سانتیگراد می‌باشد.
- فشار بخار در لوله‌های تولید ۲,۵ بار می‌باشد.
- بخار تولید شده برای قسمت‌های ساخت مایعات، گرانول‌سازی و روکش قرص استفاده می‌شود.

۴-۲- دستگاه‌ها

۱-۲-۴- لیست دستگاه‌های اصلی تولید

در تولید این محصول از دستگاه‌های شامل الک ویبره، بلندر و دستگاه ساشه پرکن استفاده می‌گردد.

۲-۲-۴- تشریح روش تمیزکاری و ضدعفونی کردن سطوح در تماس دستگاه با محصول

با توجه به اینکه تمامی مراحل ساخت محصولات دارویی بایستی در فضایی با سطح تمیزی بالا انجام گردد، بحث تمیزکاری و ضدعفونی کردن دستگاه‌ها و مکان‌های در ارتباط با محصول از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد در همین راستا شرکت

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
کد مدرک: 26-03-11-020-00	شماره بازنگری: 00	صفحه: ۱۲ از ۲۲	

داروسازی امین برای تمامی مراحل تمیزکاری دستگاه‌ها و مکان‌ها، دستورالعمل‌هایی تهیه نموده است که تمامی مراحل تمیزکاری و ضدعفونی کردن در آن توضیح داده شده است و طبق آن‌ها انجام می‌گردد.

تمیزکاری سطوح در تماس دستگاه‌های تولید در دو حالت انجام می‌گردد:

۱. تمیزکاری هنگام تعویض بیج

جامدات: در این نوع تمیزکاری نیازی به استفاده از آب و شوینده نمی‌باشد و با وکیوم پودرهای روی دستگاه‌ها جمع‌آوری می‌گردد و سپس با یک تمیزکننده سطوح دستگاه تمیز می‌گردد و در نهایت قطعات ضدعفونی می‌گردد.

مایعات: در این نوع تمیزکاری نیازی به استفاده از شوینده نمی‌باشد و با استفاده از بخار و آب دیونایز مواد باقی‌مانده بر روی دستگاه‌ها جمع‌آوری می‌شود.

۲. تمیزکاری هنگام تعویض محصول

تمیزکاری دستگاه‌های ساخت جامدات، قطعات دستگاه که امکان بازکردن آن‌ها وجود دارد بازشده و تمامی قطعات و دستگاه‌ها با استفاده از آب و شوینده مناسب شستشو داده می‌شود و در نهایت آبکشی شده و قطعات مجدداً روی دستگاه‌ها بسته می‌شود و در آخر کار قطعات و دستگاه ضدعفونی می‌گردند.

همچنین برای دستگاه‌های ساخت مایعات ابتدا با بخار آب شستشوی اولیه صورت می‌گیرد سپس با استفاده از آب و شوینده مناسب شستشو شده و در نهایت آبکشی نهایی انجام می‌گردد.

بخش	ماده شوینده	بخش	ماده شوینده
گراول سازی	PV1+	کپسول پرکنی	کنوسان
پرس قرص	کنوسان	مایعات	کنوسان
روکش قرص	PV1+	-	-

کلید مراحل تمیزکاری دستگاه‌های تولید در دستورالعمل‌های مربوطه با جزئیات توضیح داده شده است.

با انجام عملیات تمیزکاری دستگاه‌های تولید باید در مورد سه مسئله اطمینان حاصل شود:

۱. عدم وجود باقیمانده محصول قبلی

۲. عدم وجود آلودگی میکروبی

۳. عدم وجود باقیمانده شوینده

تمیزکاری و ضدعفونی کردن سیستم خالص‌سازی آب، سیستم HVAC و ساختمان‌های تولیدی هر کدام بصورت جداگانه در دستورالعمل‌های مربوطه آورده شده است.

۴-۲-۳- فرآیند تصفیه فاضلاب

شرکت داروسازی امین دارای سیستم تصفیه فاضلاب اختصاصی می‌باشد. در این سیستم، پساب صنعتی و انسانی ابتدا از قسمت‌های چربی‌گیر و آشغال‌گیر عبور داده شده، پس از آن وارد سیستم هوادهی (هوازی) می‌شود.

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
صفحه: ۱۳ از ۲۲	شماره بازنگری: ۰۰	کد مدرک: 26-03-11-020-00	

پساب پس از هوادهی وارد سیستم کلاریفایر (حوضچه ته‌نشینی) می‌گردد. در حوضچه ته‌نشینی لجن موجود در پساب ته‌نشین شده و سطح بالای حوضچه، آب بدون لجن قرار می‌گیرد.

لجن ته‌نشین شده در حوضچه به قسمت پستر لجن منتقل شده، پس از هوادهی وارد سیستم فیلتر پرس گشته و لجن غلیظ شده با آهک، پرس می‌شود.

آب موجود در سطح بالای حوضچه به حوضچه کلرزنی منتقل شده و در آنجا به آن کلر زده می‌شود. وقتی کلر آب به حدود 2ppm رسید این آب جهت آبیاری جنگل استفاده می‌گردد.

بر روی پساب، تست های TSS، هدایت الکتریکی، PH، BOD، COD بصورت آنلاین انجام می‌شود. در صورتی که نتایج هر یک از این تست‌ها خارج از محدوده مجاز باشد، سیستم مورد بررسی قرار می‌گردد تا علت این مشکل مشخص شده و راه‌های برطرف کردن مشکل تعریف می‌گردد.

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
کد مدرک: 26-03-11-020-00	شماره بازنگری: 00	صفحه: ۱۴ از ۲۲	

۵. مستندسازی

۱-۵- روند تهیه، بازنگری و توزیع مستندات ضروری

در شرکت داروسازی امین مستندات عمدتاً شامل روش‌های اجرایی، دستورالعمل‌ها، سوابق و گزارش‌ها می‌باشند. این مستندات معمولاً بصورت نسخه‌های کاغذی و الکترونیکی در سیستم MIS شرکت موجود می‌باشند. کلیه مستندات موجود در شرکت بر اساس بند ۴ GMP-PIC/S تهیه و تدوین می‌شوند معمولاً روند تهیه دستورالعمل‌ها و روش‌های اجرایی بصورت زیر می‌باشد.

ردیف	نوع مدرک	تهیه کننده	بررسی کننده	تأیید کننده	تصویب کننده
۱	روش اجرایی	کارشناس / فرد یا افراد انجام دهنده / مسئول	سرپرست واحد مربوطه	مدیر واحد مربوطه	مدیر تضمین کیفیت / مسئول فنی / مدیرعامل
۲	دستورالعمل	کارشناس / فرد یا افراد انجام دهنده / مسئول	سرپرست واحد مربوطه	مدیر واحد مربوطه	مدیر تضمین کیفیت / مسئول فنی / مدیرعامل

۲-۵- روش کدگذاری مستندات

۱-۲-۵- کدینگ اسناد و مدارک شامل ۵ بخش و ۱۱ کاراکتر عددی بوده و ساختار آن به شکل ذیل می‌باشد:

NO	۱	۲	۳	۴	۵
TYPE					

بخش اول: کدگذاری واحدها در شرکت داروسازی امین که شامل دو کاراکتر عددی بوده و نشان‌دهنده واحد مربوطه می‌باشد و طبق روش اجرایی کنترل مدارک و مستندات 16-02-14-001 تعیین می‌گردد.

بخش دوم: کدگذاری زیر مجموعه‌ها و قسمت‌ها هر واحد را نشان می‌دهد که شامل دو کاراکتر عددی بوده و طبق روش اجرایی کنترل مدارک و مستندات 16-02-14-001 تعیین می‌گردد.

بخش سوم: کدگذاری نوع مدرک را مشخص نموده که شامل دو کاراکتر عددی بوده طبق روش اجرایی کنترل مدارک و مستندات 16-02-14-001 تعیین می‌گردد.

بخش چهارم: شماره سریال مدرک می‌باشد که شامل سه کاراکتر عددی بوده و براساس ترتیب اسناد از 001 آغاز و تا 999 ادامه می‌یابد.

بخش پنجم: نشان‌دهنده شماره بازنگری مدرک می‌باشد که شامل دو کاراکتر عددی و نشان‌دهنده تعداد بازنگری‌های انجام شده بر روی سند بوده و بر اساس تعداد بازنگری‌ها افزایش می‌یابد.

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
صفحه: ۱۵ از ۲۲	شماره بازنگری: ۰۰	کد مدرک: 26-03-11-020-00	

۳-۵- توزیع و نگهداری مستندات

کلیه مستندات پس از تأیید و تصویب، توسط واحد تضمین کیفیت تکثیر شده و ممهور به مهر مدارک تحت کنترل در کلیه صفحات می‌گردد و مطابق فرم لیست توزیع مدارک به واحدهای مربوطه تحویل می‌گردد.

- لازم به ذکر است مطابق با استاندارد تاریخ اجرای مستندات یکماه بعد از تاریخ تهیه آنها می‌باشد.

بازنگری، تغییر و اصلاح مستندات

بازنگری و تغییر و اصلاح مستندات در یکی از حالت‌های زیر انجام می‌گردد:

- دریافت پیشنهاد از کارکنان یا درخواست اصلاح مدرک
 - تغییر در شرایط اضطراری
 - تغییر در ضوابط و مقررات
 - اصلاح سند در قالب بهبود مستمر
- تغییر و بازنگری مستندات پس از تکمیل فرم اصلاح و بازنگری مدرک توسط واحد مربوطه و تأیید آن توسط مدیر واحد و ارسال این فرم به همراه مستندی که قرار است بازنگری گردد به واحد تضمین کیفیت ارسال می‌گردد.

۴-۵- امحاء مستندات

سرپرست هر قسمت پس از اخذ تأیید مدیر واحد مربوطه نسبت به تحویل مستندات بایگانی فعال که تاریخ نگهداری آنها گذشته است به بایگانی راکد اقدام می‌کند. همچنین در مورد مستنداتی که مدت نگهداری آنها در بایگانی راکد پایان یافته است، با توجه به قوانین و مقررات حاکم بر شرکت و براساس نوع طبقه‌بندی مستندات، اقدام به نابودسازی پرونده سوابق خواهد نمود.

- در مورد مستندات با طبقه‌بندی محرمانه و بالاتر نیاز به هماهنگی با مدیر عامل یا مرجع ذیصلاح می‌باشد.

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
صفحه: ۱۶ از ۲۲	شماره بازنگری: ۰۰	کد مدرک: 26-03-11-020-00	

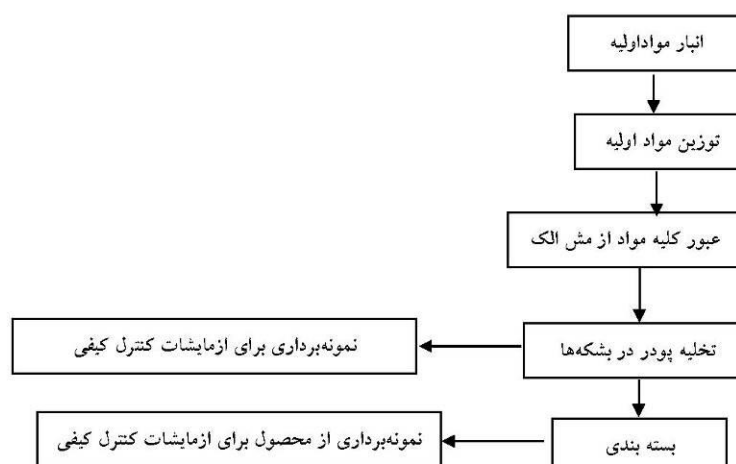
۶. تولید

۱-۶- تشریح فرآیند تولید

تولید این محصول در سالن محصولات دامی انجام شده است. نقشه مربوط به تولید در پیوست شماره ۱۲ موجود می‌باشد. نقشه مربوط به کلاس بندی D تولید به شماره پیوست شماره ۱۳ موجود می‌باشد.

ردیف	نام محصول (نام ژنریک)	نام تجاری	فرمول شیمیایی	تولید کنندگان خارجی این محصول	وارد کنندگان این محصول
۱	پودر الکترولیت پلاس	-	-	-	-

۲-۶-فلوچارت فرآیند محصولات پودری



۱-۲-۶- فعالیت‌های آزمایشگاهی انجام شده برای محصولات پودری به شرح زیر می‌باشد:

- نمونه برداری و انجام آزمایشات بر روی مواد اولیه و بسته بندی و محصول نهایی
- تهیه مشخصات کیفی مواد اولیه و محصول
- تهیه دستورالعمل‌ها و مستندات آزمایشگاهی
- اندازه گیری میزان رطوبت
- یونی فرمیتی وزن شاسه
- خواص ظاهری طبق استانداردهای داخلی

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
صفحه: ۱۷ از ۲۲	شماره بازنگری: ۰۰	کد مدرک: 26-03-11-020-00	

۲-۲-۶- لیست مواد اولیه موجود در محصول پودر الکترولیت پلاس

ردیف	نام ماده اولیه	شکل مواد بکار رفته در فرمولاسیون	مقدار ماده موثره به کار رفته در فرمولاسیون	درصد ماده موثره
۱	دکستروز	پودر	۷۰/۴۵ گرم	٪ ۷۰/۴۵
۲	آسکوربیک اسید	پودر	۱/۵ گرم	٪ ۱/۵
۳	پتاسیم کلراید	پودر	۳/۴۵ گرم	٪ ۳/۴۵
۴	سدیم بی کربنات	پودر	۱۹/۵ گرم	٪ ۱۹/۵
۵	سدیم کلراید	پودر	۵/۱ گرم	٪ ۵/۱

۳-۲-۶- نحوه انجام کنترل و تعیین مقدار پودر محلول در آب الکترولیت پلاس دامی در دستورالعمل زیر آورده شده است.

ردیف	نام دستورالعمل	شماره دستورالعمل
۱	دستورالعمل تعیین مقدار دکستروز در پودر محلول در آب الکترولیت پلاس به روش ایتیکال روتیشن	29-04-10-024
۲	دستورالعمل کنترل ماده اولیه پتاسیم کلراید	29-01-15-001
۳	دستورالعمل کنترل ماده اولیه سدیم کلراید	29-01-15-002
۴	دستورالعمل کنترل ماده اولیه دکستروز	29-01-15-004
۵	دستورالعمل کنترل ماده اولیه سدیم بی کربنات	29-01-15-005
۶	دستورالعمل کنترل ماده اولیه آسکوربیک اسید	11-01-15-026

۳-۲-۶- حیوان هدف

دام سبک و سنگین

۴-۲-۶- مورد مصرف محصول

درمان و پیشگیری از اسهال و عدم تعادل الکترولیتی و اسیدوز

۵-۲-۶- مفاد پیش لیبیل

الکترولیت پلاس

پودر الکترولیت خوراکی جهت تهیه محلول (آ - آر - اس)

فقط برای مصرف دامپزشکی

موارد مصرف

درمان با یبوستی از اسهال، تصحیح عدم تعادل الکترولیتی، درمان اسیدوز و سایر علل متابولیک ناشی از کمبود آب و برده های تازه مولد شده.

شرایط نگهداری

در جای خشک، در دمای ۱۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد، دور از حرارت و تابش مستقیم نور نگهداری شود.

وزن خالص در هر ساشه: ۱۰۰ گرم

تحت نظارت سازمان دامپزشکی کشور

پروانه ساخت/سازمان دامپزشکی کشور:

ترکیب در هر ساشه (۱۰۰ گرم محصول)

دکستروز ۷۰/۴۵ گرم
 آسکوربیک اسید ۱/۵ گرم
 پتاسیم کلراید ۳/۴۵ گرم
 سدیم بی کربنات ۱۹/۵ گرم
 سدیم کلراید ۵/۱ گرم

طریقه مصرف

هر ساشه (۱۰۰ گرم) را در ۳ لیتر آب گرم (۳۰ درجه سانتی گراد) حل کنید. ۱۵ تا ۲۰ لیتر محلول به دست دام (بسته به وزن دام) در روز و به مدت سه تا چهار روز در اختیار دام قرار دهید. محلول الکترولیت آماده شده حداکثر تا ۲۴ ساعت در دمای اتاق قابل نگهداری و استفاده می باشد و پس از آن دور ریخته شود.

موارد منع مصرف

در دام هایی مبتلا به اختلالات هائی فواید بسیار اندک خواهد داشت.



تاریخ تولید:
 تاریخ انقضا:
 شماره سری ساخت:



شرکت رشت داروسازی امین
 آصفهان، خیابان جی، خیابان سلمان، خیابان رومانی، پلاک ۱۰، رشت داروسازی امین
 شرکت رشت داروسازی امین، تلفن: ۰۲۶-۳۵۸۱۰۹۵، رسیدگی به شکایات: ۰۲۶-۳۱۳۱۳۳۸

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
کد مدرک: 26-03-11-020-00	شماره بازنگری: 00	صفحه: ۱۸ از ۲۲	

۳-۶- مدیریت مواد و انبارداری

۳-۶-۱- نحوه برخورد با مواد اولیه و بسته‌بندی

- مواد اولیه و بسته‌بندی پس از ورود به شرکت در انبارهای مربوطه، تحت شرایط مناسب انبارداری، انبارش می‌گردند.
- مواد فوق پس از ورود به انبار در قسمت قرنطینه نگهداری شده و توسط نماینده آزمایشگاه از آنها نمونه‌برداری به عمل می‌آید و تا زمانی که مورد تأیید آزمایشگاه قرار نگیرند مجوز استفاده ندارند.
- نحوه نمونه‌برداری مواد اولیه و بسته‌بندی طبق دستورالعمل 11-08-15-080 مربوطه انجام می‌شود.
- نمونه‌های برداشته شده به واحد آزمایشگاه کنترل کیفیت ارسال شده و مورد آنالیز قرار می‌گیرند.
- در صورت تأیید این مواد، لیبل سبزرنگ توسط آزمایشگاه بر روی مواد اولیه و بسته‌بندی نصب می‌گردد که نشان‌دهنده تأیید توسط آزمایشگاه می‌باشد. پس از تأیید آزمایشگاه این مواد مجوز استفاده در تولید را کسب می‌نمایند.

۳-۶-۲- شرایط جابجایی مواد خطرناک، سمی

شرایط حمل و نقل و انبارش مواد خطرناک و سمی در MSDSهای مربوطه ذکر شده است و پرسنل موظفند در هنگام کار با این مواد، موارد ذکر شده در MSDS را رعایت نمایند.

۳-۶-۳- نحوه برخورد با محصول بالک، محصول نهایی و نحوه قرنطینه و آزادسازی محصول

پس از تهیه گرانول، این محصولات به درون بشکه منتقل شده و روی هر بشکه برچسب شناسائی محصول حاوی اطلاعات این محصول نصب می‌گردد و یک لیبل نیز درون بشکه قرار می‌گیرد.

محصولات بینابینی و نهایی توسط واحد کنترل کیفیت نمونه برداری شده و مورد آنالیز قرار می‌گیرند و پس از تأیید توسط آزمایشگاه در هر مرحله به مرحله بعد فرستاده می‌شوند و در نهایت بسته‌بندی شده و در انبار محصول نگهداری می‌گردند و پس از تأیید نهایی توسط آزمایشگاه برگ سبز بر روی محصول نهایی نصب می‌شود.

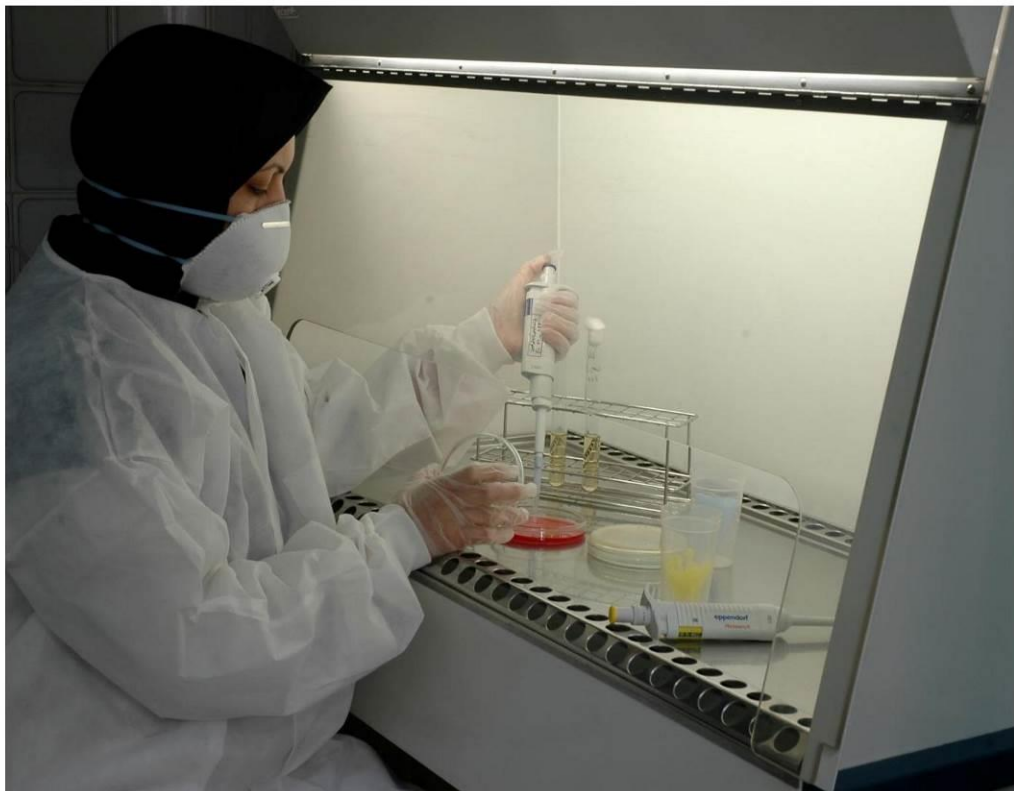
در نهایت مسئول فنی بر اساس تأیید مدیران تولید و کنترل کیفیت و بررسی گزارش‌ها و مستندات مربوطه و نتایج آنالیزها مجوز آزادسازی محصول را صادر می‌نماید.

۳-۶-۴- نحوه برخورد با مواد و محصولات تأیید نشده

- در صورتی که ماده اولیه، بسته‌بندی یا محصولی مورد تأیید آزمایشگاه قرار نگیرد با برچسب قرمز رنگ و عنوان Reject مشخص شده و از انبار مواد اولیه یا بسته‌بندی یا محصول به انبار Reject منتقل می‌شوند.
- مواد اولیه خریداری شده که مورد تأیید قرار نگرفته‌اند به تأمین‌کننده برگشت داده خواهد شد.
- محصولاتی که مورد تأیید قرار نگرفته‌اند از انبار محصول خارج شده، به انبار Reject منتقل می‌شوند و پس از تنظیم صورتجلسه با حضور نماینده سازمان غذا و دارو، نماینده دارایی و نماینده شرکت داروسازی امین جهت امحاء، تحویل شرکت امحاء کننده معتمد محیط‌زیست می‌گردد.

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
صفحه: ۱۹ از ۲۲	شماره بازنگری: ۰۰	کد مدرک: 26-03-11-020-00	

۷. کنترل کیفیت (QC)



۷-۱- تشریح فعالیت‌های آزمایشگاه کنترل کیفیت

واحد کنترل کیفیت شرکت داروسازی امین دارای استاندارد ISO 17025 بوده و کلیه آزمایش‌های لازم بر روی مواد اولیه، مواد بسته‌بندی، محصولات بینابینی و محصول نهایی را انجام می‌دهد.

این واحد با داشتن امکانات و تجهیزات مناسب و پرسنل مجرب تست‌های خود را بر اساس آخرین فارماکوپه‌های معتبر همچون USP و BP انجام می‌دهد و بعنوان آزمایشگاه همکار آزمایشگاه سازمان غذا و دارو مطرح می‌باشد.

آزمایشگاه کنترل کیفیت با انجام فعالیت‌هایی مانند نمونه‌برداری از مواد اولیه و بسته‌بندی، محصولات بینابینی و محصول نهایی، انجام آزمایش‌ها و تهیه مستندات لازم و تعیین مشخصه‌های کیفی اطمینان می‌دهد که کلیه مواد و محصولات مطابق با مشخصه‌های کیفی مورد نظر می‌باشند.

برای انجام هر آزمایش دستورالعمل آن تهیه شده و آزمایش‌ها بر اساس دستورالعمل‌های مربوطه انجام می‌گردد.

لیست تجهیزات آزمایشگاه در پیوست شماره ۱۴ آورده شده است.

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
صفحه: ۲۰ از ۲۲	شماره بازنگری: ۰۰	کد مدرک: 26-03-11-020-00	

بطور کلی فعالیت‌های آزمایشگاه کنترل شامل موارد زیر می‌شوند:

- نمونه برداری و انجام آزمایش بر روی مواد اولیه و بسته‌بندی، محصول بینابینی و محصول نهایی
- تهیه مشخصات کیفی مواد اولیه و محصول
- تهیه دستورالعمل‌ها و مستندات آزمایشگاهی
- احراز کیفیت دستگاه‌های آزمایشگاهی
- انجام آزمایشات پایداری و PMQC
- معتبرسازی روش‌های آنالیز
- انجام آزمایشات آب

۷-۱-۱- نقش کنترل کیفیت در خرید و تأیید مواد اولیه

آزمایشگاه کنترل بر کلیه روند انجام خرید و تأیید مواد اولیه از ابتدا تا انتها نظارت کامل دارد. قبل از اینکه ماده اولیه‌ای از سازنده‌ای خریداری شود شرکت سازنده مواد اولیه اقدام به ارسال یک نمونه می‌نماید که این نمونه توسط آزمایشگاه مورد آنالیز قرار می‌گیرد. در صورتی که نمونه مورد نظر مورد تأیید آزمایشگاه قرار گیرد واحد بازرگانی مجاز به خرید از شرکت تأمین‌کننده آن ماده می‌باشد. پس از خرید ماده اولیه و ورود محموله اصلی ماده به انبار شرکت، ابتدا در قسمت قرنطینه انبار نگهداری شده و آزمایشگاه کنترل کیفیت از ماده اولیه نمونه‌برداری نموده و آزمایش‌های لازم را بر روی آن انجام می‌دهند. در صورتی که این ماده اولیه مورد تأیید آزمایشگاه کنترل قرار گیرد، برچسب سبزرنگ به نشانه تأیید این مواد بر روی آن‌ها نصب می‌گردد و مجوز استفاده در فرآیند تولید را دریافت می‌نمایند.

۷-۱-۲- نظارت آزمایشگاه کنترل بر روند تولید محصولات

آزمایشگاه کنترل از طریق نظارت‌های IPQC و انجام آزمایش‌های لازم بر روی محصولات، بر کل فرآیند تولید محصول نظارت دارد. در هر یک از مراحل تولید (مثلاً گرانول سازی، پرس قرص، روکش،) IPQC اقدام به نمونه برداری نموده و برخی از تست‌ها توسط IPQC و سایر تست‌ها در آزمایشگاه محصول یا آنالیز دستگاهی انجام می‌گردد تا زمانیکه تأییدیه آزمایشگاه در هر یک از مراحل تولید بر روی محصول وجود نداشته باشد محصول مجوز ارسال برای مرحله بعد را ندارد و فقط با تأیید آزمایشگاه و پس از نصب برگ سبز بر روی محصول می‌توانند از یک مرحله به مرحله بعد برای ادامه فرآیند تولید منتقل شود.

۷-۱-۳- نقش آزمایشگاه کنترل در آزادسازی (Release) محصولات

پس از انجام آزمایش‌های لازم بر روی محصول نهایی و تأیید آن، مدیر آزمایشگاه بر اساس نتایج آزمایش‌ها و بررسی مستندات مربوطه از قبیل برگه آنالیزهای صادر شده، برگه‌های کنترل وزنی و نمودارهای مربوطه و فرم‌های گزارش کنترل حین بسته‌بندی و اقدام به تأیید نهایی محصول می‌نماید و پس از تأیید، کلیه مستندات را برای بررسی نهایی و Release محصول به مسئول فنی ارجاع می‌نماید. در نهایت مسئول فنی پس از بررسی مدارک و مستندات نسبت به Release محصول اقدام می‌نماید.

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
صفحه: ۲۱ از ۲۲	شماره بازنگری: ۰۰	کد مدرک: 26-03-11-020-00	

۸. توزیع و پخش

۸-۱- توزیع

شرکت داروسازی امین محصولات خود را ضمن عقد قرارداد با یکی از شرکت‌های پخش مجاز، توزیع می‌نماید.

۸-۱-۱- شرایط محیطی محصولات در حین حمل و نقل

حمل و نقل محصولات از طریق کامیون انجام می‌گردد. با توجه به اینکه در حال حاضر شرکت محصولی که نیاز به نگهداری در شرایط دمایی خاص (مثلاً نگهداری در سردخانه) باشد، تولید نمی‌کند، لذا برای حمل و نقل محصولات نیاز به کامیون‌های دارای سردخانه نمی‌باشد.

در حمل و نقل محصولات از کامیون‌های کانتینردار استفاده می‌شود تا محصولات در برابر شرایط جوی نامناسب محافظت نماید.

۸-۲- شکایات مشتری

شکایات مشتری از طریق تلفن گویا، سایت شرکت، نامه از سازمان غذا و دارو و نامه از شرکت‌های پخش دریافت می‌گردد. پس از دریافت شکایت، شکایت‌ها در فرم‌های مربوطه ثبت شده و توسط کارشناس تضمین کیفیت بررسی و طبقه‌بندی می‌گردند و مشخص می‌شود، آیا این شکایت قابل طرح در جلسه بررسی شکایت مشتری می‌باشد یا خیر؟ در صورتی که شکایت قابل مطرح شدن در جلسه کمیته بررسی شکایت باشد در جلسه کمیته شکایت مشتری مطرح می‌گردد. اعضای کمیته بررسی شکایات شامل مدیر عامل، مسئول فنی، مدیر تضمین کیفیت، مدیر تولید، مدیر آزمایشگاه، مدیر فنی و مهندسی و مدیر تحقیقات می‌باشند. در جلسه بررسی شکایت، شکایت مورد ارزیابی قرار گرفته و نحوه برخورد و پاسخگویی به شکایت مشتری مشخص می‌گردد و نتیجه جلسه به اطلاع فرد شاکی بصورت کتبی یا شفاهی رسانده می‌شود. جزئیات برخورد با شکایت مشتری در دستورالعمل مربوط به شکایت مشتری به شماره 23-02-15-003 با ذکر جزئیات آورده شده است.

۸-۳- محصولات معیوب و فراخوانی محصول

مسئول فنی موظف است در صورت دریافت گزارش از سازمان غذا و دارو، شرکت‌های پخش، آزمایشگاه کنترل شرکت، داروخانه‌ها یا بیماران در مورد محصول معیوب، عملیات فراخوان محصول را آغاز نماید. بطور کلی مسئول فنی مسئولیت ابلاغ، اجرا و پیگیری فراخوان را بعهده دارد البته در مورد شرکت‌های قراردادی مسئولیت اجرا و پیگیری فراخوان بعهده نماینده شرکت مربوطه می‌باشد.

فراخوان به دو دسته تقسیم می‌شود:

۱. خارج کردن همیشگی محصول معیوب از بازار

۲. خارج کردن محصول معیوب از بازار به منظور اصلاح محصول

نحوه انجام فراخوان محصول در دستورالعمل فراخوان محصول به شماره 23-01-15-002 با ذکر جزئیات کامل آورده شده است.

Site Master File پودر محلول در آب الکترولیت پلاس (ساشه ۱۰۰ گرمی)			 شرکت داروسازی امین ایران - اصفهان
صفحه: ۲۲ از ۲۲	شماره بازنگری: ۰۰	کد مدرک: 26-03-11-020-00	

۹. خود بازرسی

در شرکت داروسازی امین خود بازرسی به شکل های زیر انجام می گردد:

- ممیزی داخلی
- بازرسی های GMP
- بازرسی های ایمنی و ارگونومی
- بازرسی های بهداشتی

۹-۱- ممیزی داخلی

ممیزی های داخلی توسط واحد تضمین کیفیت برنامه ریزی شده و توسط تیم ممیزی داخلی اجرا می گردد. اعضای تیم ممیزی داخلی دوره های آموزشی لازم جهت ممیزی را گذرانده و مدرک ممیزی دریافت نموده اند. همچنین ممیزی های داخلی معمولاً هر شش ماه یکبار برگزار می گردد.

نکته: قبل از برگزاری هرگونه ممیزی خارجی (ممیزی های سازمان غذا و دارو، شرکت های تولید قراردادی و ...) یک ممیزی داخلی علاوه بر ممیزی های شش ماهه برگزار می گردد.

برای انجام ممیزی یک برنامه ممیزی تهیه می شود و ممیزی های داخلی طبق برنامه تنظیم شده از طرف تضمین کیفیت، از قبل به همه واحدها اطلاع رسانی می شود و بر اساس برنامه انجام می گردد در برنامه ممیزی تاریخ جلسه افتتاحیه، تاریخ و ساعت ممیزی هر واحد، نام ممیزهای هر واحد و تاریخ جلسه افتتاحیه مشخص شده و به تأیید مدیر عامل می رسد. روند انجام ممیزی داخلی در دستورالعمل ممیزی داخلی به شماره 16-03-14-001 آورده شده است.

۹-۲- بازرسی های GMP

بازرسی های GMP از تولید بصورت هفتگی و ماهانه برگزار می گردد. بازرسی های GMP ماهانه توسط مسئول فنی و مدیر تضمین کیفیت به همراه کارشناس تضمین کیفیت برگزار می گردد و بازرسی های هفتگی GMP توسط کارشناس تضمین کیفیت برگزار می گردد و گزارش های آن برای واحد تضمین کیفیت ارسال می گردد.

۹-۳- بازرسی های ایمنی و ارگونومی

بازرسی های ایمنی و ارگونومی بصورت ماهانه از کلیه واحدهای شرکت توسط کارشناس ایمنی و بهداشت انجام می شود.

۹-۴- بازرسی های بهداشتی

بازرسی های بهداشتی بصورت هفتگی از قسمت های رستوران و سرویس های بهداشتی توسط کارشناس ایمنی و بهداشت مطابق با دستورالعمل به شماره 12-01-15-012 انجام می گردد.

- مراجع

PIC/S

پیوست شماره ۸: موافقت اولیه سازمان دامپزشکی

شماره: ۴۰۰/۳۱/۱۹۶۹۲
تاریخ: ۱۴۰۰/۰۳/۰۶
پوست:



جناب آقای دکتر موحدی

مدیر کل محترم دامپزشکی استان اصفهان

موضوع: موافقت اولیه الکتروولیت پلاس زیست فناوران رویان ایمن

باسلام و احترام

شماره پیگیری
۱۷۶۹۹۰۵



بازگشت به نامه شماره ۱۲۷۸۱ مورخ ۹۹/۱۲/۰۲ آن اداره کل به استحضار میرساند: به استناد بند ۶۴ مصوبه کمیته فنی دارویی مورخ ۹۷/۱۰/۹ به شماره اندیکاتور ۷۸۶۶۱ مورخ ۹۷/۱۰/۲۲ با تقاضای شرکت زیست فناوران رویان ایمن مبنی بر تولید محصول قراردادی در داروسازی امین موافقت اولیه بعمل آمد. خواهشمند است مراتب به شرکت اعلام تا نسبت به ارسال خلاصه فایل اطلاعاتی جهت تولید اولین سری ساخت صنعتی با هماهنگی آن اداره کل (طی نمودن مراحل اخذ پروانه ساخت) اقدام نماید.

۱- لازم بذکر میباشد اعتبار موافقت مزبور از زمان صدور بمدت ۶ ماه میباشد. ۲- این موافقت مجوزی جهت تولید دارو نمیباشد. ۳- الصاق یک نسخه از این نامه به همراه سایر مدارک ارسالی ضروری است. ۴- موافقت اولیه ذیل با توجه به نامه ۱۲۷۸۱ مورخ ۹۹/۱۲/۲ آن اداره کل صادر و کلیه مسئولیتهای نظارتی به عهده استان می باشد.

نام دارو	شکل دارویی	درصد ماده موثره	حیوان هدف	میزان سری ساخت صنعتی
الکتروولیت پلاس (ORS)	پودر خوراکی	۱۰۰٪	گوساله و بره های تازه متولد شده	

دکتر وهاب پیرانی

مدیر کل دفتر امور دارو و درمان

از طرف: دکتر امیر آزاد

رونوشت:

- شرکت زیست فناوران رویان انجمن جهت اطلاع

آدرس: تهران، خیابان ولیعصر (عج)، ابتدای خیابان سید جمال الدین اسدآبادی (دو راهی یوسف آباد)

وبگاه: www.ivo.ir

پست الکترونیک: info@ivo.ir

کدپستی: ۱۴۳۱۶۸۳۷۶۵

دورنگار: (۰۲۱) ۸۸۹۵۷۲۵۲

صندوق پستی: ۱۴۱۵۵/۶۳۴۹

تلفن: ۳ - (۰۲۱) ۸۸۹۵۳۴۰۰



پیوست شماره ۹: مستندات تست پایداری محصول الکترولیت پلاس

شماره: ۱۴۰۰۸۹۶-۳۳

تاریخ: ۱۴۰۳/۳/۱۲

پیوست:

شناسه ملی: ۱۰۲۶۰۰۶۳۲۵۸



شرکت داروسازی امین (پ.ج.س)
Amin Pharmaceutical Company (P.J.S)

شرکت زیست فناوریان رویان ایمن

مدیریت محترم عامل

با سلام،

احتراماً، پیرو مذاکرات تلفنی انجام شده (فیمابین سرکارخانم دکتر ترابی و جناب آقای دکتر خزایی) درخصوص

محصول "الکترولیت پلاس" آن شرکت محترم موارد ذیل را به استحضار میرساند

۱- با تکمیل آزمایشات پایداری تسریع شده ماه ۳، نمونه به مرور دچار تغییر رنگ (از کرم روشن به قهوه ای) شده و کلوخه ای گردیده است.

۲- میزان بی کربنات سدیم و دکستروز به مرور دچار افت شده به گونه ای که پیش بینی می شود در پایان ماه ۶ از محدوده مجاز خارج گردد.

۳- به این ترتیب طبق نظر جناب آقای دکتر خزایی و با توجه به نتایج حاصل شده، شاخص های کنترلی به تعیین مقدار سدیم و پتاسیم و کلر جهت تهیه DMF و قرارگیری در پرونده تغییر می یابد

۴- خواهشمند است دستور فرمایید در اسرع وقت نسبت به ارسال فایل World مربوط به

مندرجات بروشور محصول شامل: نام کامل تجاری (در صورت وجود) و ژنریک - اجزاء سازنده و میزان هر یک، با ذکر دقیق نقش هر کدام (مؤثره یا جانبی) - روش مصرف - عوارض جانبی - زمان پرهیز از مصرف - اندیکاسیون - حیوان هدف - تداخلات دارویی و.... اقدام فرمایند تا بتوان جهت تکمیل DMF و اطمینان از آنچه مورد نظر آن شرکت محترم می باشد استفاده گردد.

دکتر محمد مهدی حقوقي

مدیر عامل



کارخانه: اصفهان، فلاورجان، بخش پیریکران، مقابل شهر بهاران، صندوق پستی: ۸۱۴۶۵/۱۵۸۸
کد پستی: ۸۴۵۹۱۴۳۳۴۴ تلفن: ۰۲۱-۳۷۴۸۰۱۷۱ و ۰۲۱-۳۷۲۵۲۹۹۹ فکس: ۰۲۱-۳۷۲۵۲۸۹۸
دفتر تهران: بزرگراه اشرفی اصفهانی، بلوار مرزداران، خیابان حضرت ابوالفضل، روبروی
بوستان هفتم غربی، پلاک ۴، طبقه دوم
کد پستی: ۱۴۶۱۷۴۵۷۴
تلفن: ۰۲۱-۴۴۲۵۸۹۲۳ و ۰۲۱-۴۴۲۵۸۹۲۴ فکس: ۰۲۱-۴۴۲۵۸۹۲۴
www.aminpharma.com E-mail: info@aminpharma.com

تاریخ: ۱۴۰۱/۱۲/۱۲

18.11.24 V9

..... : بیوست

بدر محترم راسد حقیقات

سہ ماہی نامہ حقیقی

عبداللہ رحمہ اللہ

یہ نوزائش خطا کا ہی درخصص انعام ہے۔ اے اندر باری سیدم رب العالمین! اس خطا میں ہے

اداره صحت و ایمنی در سید الشهدا بلاس ریگان B N: 002 (1.8) 100 (100)

	specification	P ₀	P ₁	P ₃	P ₆
نسبة تغير المساحة	90-110%	51.66%	105.55%	155.55	105.55
تغير متوسط نسبة المساحة	90-110%	51.66%	99.99%	277.77	212.11
واحد من 100	90-110%	191.71%	162.24%	100.88	223.43

انگازنه سهری سهری در سهره سهره دلیت و لاس و دیان B.N: 552 734 سهری سهری در 100 سهری سهری

	specification	P_0	P_1	P_3	P_6
شیخیرا سارا	90-110 l	113.07	64.03	68.11	65.39
رادو سارا	90-110 l	62.78	75.35	82.27	72.48

تایپنوں میں کثرت کہ ہر درجہ دسم و تیسرے درجہ خاصہ از رخ منی ہے۔

خدا را آفرید و در مصلحتش دارد

بسم الله الرحمن الرحيم

حسن ادراس

خداوند را شکر که ما را به این راه رساند و علی بن محمد شاه کرم و متواضع ایم شده است.

آتشگاه هفت تنگه، مقدار سیم و تپا سیم در شاهان و امیر اکبر و وزیر علی در میان

خارج از این مورد نیستی تاکنون مورد عدم یونیسف می باشد اما در استیم شین خطا در اثر درود

ملکوت است و ما میسر تا خدا را داریم است، امر باشد، مراتب جهت اعلام، شرکت خدا، در تمام

www.aminpharma.com

٦- قسّم

نعم عصفور ذنته فاصول انوار من نور

از حضرت د. محمدی خوارزمی



گزارش آزمون

شرکت معیار دانش پارس

ارائه خدمات آزمایشگاهی، تولید مواد مرجع، مشاوره

آموزش، پژوهش، نمونه استاندارد

مشخصات تولید کننده / صاحب کالا	مشخصات درخواست کننده	مشخصات آزمایشگاه
نام/عنوان: پژوهشگاه رویان نشانی: تهران-خیابان بنی هاشم-خیابان حافظ شرقی-کوچه رویان-۱۶۶۵۶۵۹۹۱۱	نام/عنوان: پژوهشگاه رویان درخواست: ۱۴۰۱/۰۴/۱۸ نشانی: تهران-خیابان بنی هاشم-خیابان حافظ شرقی-کوچه رویان-۱۶۶۵۶۵۹۹۱۱	نام آزمایشگاه: معیار دانش پارس شماره پذیرش: 1401041408 شماره گزارش: 14-SPL-1388

مشخصات اقلام آزمون

نام نمونه: نمونه ORS	تاریخ تولید:	-
نوع نمونه: جامد	تاریخ انقضاء:	-
نام تجاری نمونه/فرآورده:	تاریخ دریافت نمونه:	۱۴۰۱/۰۴/۱۸
وزن/حجم/تعداد نمونه ها:	تاریخ شروع آزمون:	۱۴۰۱/۰۴/۲۲
وضعیت نمونه:	تاریخ پایان آزمون:	۱۴۰۱/۰۴/۲۲
	سری ساخت:	-
	پلمپ:	-
	تاریخ نمونه برداری:	-
	محل نمونه برداری:	-

نتایج آزمون

ردیف	نام و کد نمونه	اندازه ده	مقدار اندازه ده	واحد	عدم قطعیت	روش آزمون	استاندارد مرجع	حدود مجاز
۱	۱	Na	8.20	%	-	USP	-	-
۲	۱	K	1.77	%	-	USP	-	-
۳	۳	Na	8.05	%	-	USP	-	-
۴	۲	K	1.68	%	-	USP	-	-
۵	۳	Na	9.13	%	-	USP	-	-
۶	۳	K	1.71	%	-	USP	-	-
۷	۵	*	*	*	*	*	*	*
۸	۵	*	*	*	*	*	*	*
۹	۵	*	*	*	*	*	*	*
۱۰	۵	*	*	*	*	*	*	*

توضیحات:

(۱) نتایج فقط بازگوکننده اقلام آزمون می باشد. (۲) تکرار این گزارش آزمون بدون اجازه آزمایشگاه ممنوع است مگر بطور کامل و از تمام صفحات. (۳) نمونه (غیر از نمونه های فاسد شدنی) به مدت دو ماه در آزمایشگاه معیار دانش پارس نگهداری می گردد. (۴) مهلت اعتراض به گزارش آزمون حداکثر ۱۰ روز می باشد. (۵) در صورت لزوم، تصمیم گیری در مورد انطباق یا عدم انطباق (رد یا قبول) محموله ها بر اساس قاعده تصمیم غیر دودویی (Non-Binary Decision Rule) از طریق محاسبه مقدار Z با استفاده از نتیجه اندازه گیری، عدم قطعیت مرکب آن و حدود مجاز و مقایسه آن با جدول Z و به دست آوردن سطح اطمینان انطباق یا عدم انطباق می باشد.

مراحل اعتبار بخشی	آزمون کننده	تائید کننده	تصویب کننده	مهر آزمایشگاه
نام و نام خانوادگی	نیلوفر رمضانی	زهره فلاحیان	محمدحسین الماسی	
سمت	کارشناس	مدیر فنی	مدیر ارشد	
تاریخ و امضاء	۱۴۰۱/۰۴/۲۲	۱۴۰۱/۰۴/۲۲		

کد فرم: M-L-RPT-010

صفحه ۱ از ۱

دفتر مرکزی: اصفهان، خیابان جی شرقی، ارغوانیه، بلوار دانشگاه، ساختمان پژوهشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)
تلفن: ۰۳۱-۳۵۳۵۴۱۴۶ - ۰۳۱-۹۱۰۹۰۱۶۶ - ۰۳۱-۳۵۳۵۴۱۵۹ - ۰۳۱ - واتساپ: ۰۹۰۱۲۷۶۹۳۸۸ - صندوق پستی: ۱۹۸ - ۸۱۵۹۵



www.meyardanesh.com



@meyardanesh



info@meyardanesh.com

نام نمونه: ساشه ORS	تاریخ تولید:	-
نوع نمونه:	سری ساخت:	-
نام تجاری نمونه/فرآورده:	پلمپ:	-
وزن/حجم/تعداد نمونه ها:	تاریخ نمونه برداری:	-
وضعیت نمونه:	محل نمونه برداری:	-
	تاریخ دریافت نمونه:	۱۴۰۱/۰۵/۳۰
	تاریخ شروع آزمون:	۱۴۰۱/۰۵/۳۱
	تاریخ پایان آزمون:	۱۴۰۱/۰۵/۳۱

نتایج آزمون

ردیف	نام و کد نمونه	اندازه ده	مقدار اندازه ده	واحد	عدم قطعیت	روش آزمون	استاندارد مرجع	حدود مجاز
۱	ساشه 1-ORS	Na	7.60	%	-	USP	-	-
۲	ساشه 2-ORS	Na	7.64	%	-	USP	-	-
۳	ساشه 3-ORS	Na	7.55	%	-	USP	-	-
۴	ساشه 1-ORS	K	1.58	%	-	USP	-	-
۵	ساشه 2-ORS	K	1.51	%	-	USP	-	-
۶	ساشه 3-ORS	K	1.51	%	-	USP	-	-
*	*	*	*	*	*	*	*	*
*	*	*	*	*	*	*	*	*
*	*	*	*	*	*	*	*	*
*	*	*	*	*	*	*	*	*

توضیحات:

آزمایش پژوهش، تعیین استاندارد		مشخصات آزمایشگاه	
نام/عنوان: پژوهشگاه رویان		معيار دانش پارس	
درخواست: ۱۴۰۱/۰۸/۱۰		1401082817	
نشانی: تهران-خیابان بنی هاشم-خیابان حافظ شرقی-کوچه رویان-۱۶۶۵۶۵۹۹۱۱		14-SPL-2711	
مشخصات تولید کننده / صاحب کالا		مشخصات درخواست کننده	
نام/عنوان: پژوهشگاه رویان		نام/عنوان: پژوهشگاه رویان	
نشانی: تهران-خیابان بنی هاشم-خیابان حافظ شرقی-کوچه رویان-۱۶۶۵۶۵۹۹۱۱		درخواست: ۱۴۰۱/۰۸/۱۰	
		نشانی: تهران-خیابان بنی هاشم-خیابان حافظ شرقی-کوچه رویان-۱۶۶۵۶۵۹۹۱۱	

مشخصات اقلام آزمون

نام نمونه:	ساخت:	تاریخ تولید:
نوع نمونه:	پلمپ:	تاریخ انقضاء:
نام تجاری نمونه/فرآورده:	تاریخ نمونه برداری:	تاریخ دریافت نمونه:
وزن/حجم/تعداد نمونه ها:	محل نمونه برداری:	تاریخ شروع آزمون:
وضعیت نمونه:		تاریخ پایان آزمون:

نتایج آزمون

[illegible]

توضیحات :

(۱) نتایج فقط بازمی‌کننده افلام آزمون می‌باشد. (۲) تکثیر این گزارش آزمون بدون اجازه آزمایشگاه ممنوع است مگر بطور کامل و از تمام صفحات. (۳) نمونه (غیر از نمونه های فاسد شدنی) به مدت دو ماه در آزمایشگاه معیار دانش پارس نگهداری می‌گردد. (۴) مهلت اعتراض به گزارش آزمون حداکثر ۱۰ روز می‌باشد. (۵) در صورت لزوم، تصمیم گیری در مورد انطباق یا عدم انطباق (رد یا قبول) محمودها بر اساس قاعده تصمیم غیر دودویی (Non-Binary Decision Rule) از طریق محاسبه مقدار Z با استفاده از نتیجه اندازه گیری، عدم قطعیت مرکب آن و حدود مجاز و مقایسه آن با جدول Z و به دست آوردن سطح اطمینان انطباق یا عدم انطباق می‌باشد.

مهر آزمایشگاه	تصویب کننده	تائید کننده	آزمون کننده	مراحل اعتبار بخشی
	دکتر مهدی نبی	زهره فلاحیان	سعیده نظری	نام و نام خانوادگی
	مدیر ارشد	مدیر فنی	کارشناس	سمت
		۱۴۰۱/۰۸/۱۴	۱۴۰۱/۰۸/۱۴	تاریخ و امضاء

M-L-RPT-010 : کد فرم :

صفحه ۱ از ۱

دفتر مرکزی: اصفهان، خیابان جی شرقی، ارغوانیه، بلوار دانشگاه، ساختمان پژوهشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)
تلفن: ۳۵۳۵۴۱۴۶ - ۰۳۱ - ۹۱۰۹۱۶۶ فکس: ۳۵۳۵۴۱۴۹ - ۰۳۱ - واتساپ: ۰۹۱۲۷۶۹۳۸۸ صندوق پستی: ۱۹۸ - ۸۱۵۹۵



www.meyardanesh.com



@meyardanesh



info@meyardanesh.com

پیوست شماره ۱۰: فرم های طراحی شده جهت اجرا فارم تست

تاریخ	گوساله	تاریخ تولد (ساعت)	ساعت تولد	تیمار	جنسیت	شکم مادر	وزن تولد	مشکلات زایمان و گوساله در زمان تولد	ساعت آغاز اول	ساعت اولین خمیر	ساعت آغاز دوم	ساعت دومین خمیر
۱	۸.۲۸	۷۳۴۱	۲۳	T	ماده		۵۰	طبیعی		-		-
۲	۸.۲۹	۷۳۴۲	۶	T	ماده		۴۰	طبیعی تاریخ ۸.۲۹ دل درد		-		-
۳	۸.۲۹	۷۳۴۳	۶	T	ماده		۴۲.۵	طبیعی مشکل ریه		-		-
۴	۸.۲۸	۹۹۹	۱۳	C	نر		۴۰	طبیعی		-		-
۵	۸.۳۰	۱۰۰۰	۲۰	C	نر		۳۹	طبیعی		-		-
۶	۸.۳۰	۱۰۰۲	۵	C	نر		۴۳	طبیعی		-		-
۷	۸.۳۰	۱۰۰۳		T	نر		۴۲	طبیعی				
۸	۹.۰۱	۷۳۴۵	۷	T	ماده		۴۰	طبیعی				
۹	۹.۰۱	۱۰۰۴	۲۴	C	نر		۳۸	طبیعی				
۱۰	۹.۰۲	۷۳۴۶	۱۰	T	ماده		۴۳	طبیعی				
۱۱	۹.۰۷	۱۰۱۸	۱۷	T	نر	۱	۳۵	طبیعی	۹.۷۹	۹.۶۱۹		۹/۷ ۱۱
۱۲	۹.۰۷	۱۰۱۹	۲۳	T	نر	۲	۴۲	طبیعی	۹.۷۹	۹.۷۱۵		۹/۷ ۱۱
۱۳	۹.۰۷	۷۳۶۱	۱۸	T	ماده	۴	۴۲	طبیعی	۹.۷۹	۹.۶۱۹		۹/۷ ۱۱
۱۴	۹.۰۸	۷۳۶۴	۱۴	C	ماده	۲	۳۹	طبیعی	۱۵	۱۶		
۱۵	۹.۰۸	۷۳۶۵	۱۴	C	ماده	۳	۳۶	طبیعی	۱۵	۱۶		
۱۶	۹.۰۹	۷۳۶۸	۱۰	T	ماده	۱	۴۰	طبیعی	۱۱	۱۲	۹.۸ ۱۶	۹.۸ ۱۹
۱۷	۹.۰۹	۱۰۲۱	۱۶	T	نر	۲	۴۶	طبیعی	۱۷	۱۹	۹.۸ ۲۳	۹.۹ ۲
۱۸	۹.۰۹	۱۰۲۲	۱۶	T	نر	۲	۴۳	طبیعی	۱۷	۱۹	۹.۸ ۲۳	۹.۹ ۲
۱۹	۹.۱۱	۱۰۲۴	۱۱	C	نر	۴	۴۳	طبیعی	۱۲	-	۲۱	-
۲۰	۹.۱۱	۱۰۲۵	۸	T	نر	۵	۳۸	طبیعی	۹	۱۱	؟	؟
۲۱	۹.۱۲	۷۳۷۲	۲	T	ماده	۵	۳۴	طبیعی	۳	۵	۹	۱۱
۲۲	۹.۱۲	۱۰۲۶	۴	T	نر	۱	۴۱.۴	طبیعی	۵	۷	۹	۱۱
۲۳	۹.۱۲	۱۰۲۷	۱۴	T	نر	۲	۴۸	طبیعی	۱۴	۱۶	۱۸	۲۰
۲۴	۹.۱۳	۱۰۲۸	۲۰	T	نر	۱	۴۵	طبیعی	۲۲	۲۴	۹	۱۱
۲۵	۹.۱۳	۱۰۲۹	۲۲	T	نر	۱	۳۲	طبیعی	۲۲	۲۴	۹	۱۱
۲۶	۹.۱۳	۱۰۳۰	۴	T	نر	۳	۳۶.۶	طبیعی	۵	۶	۹	۱۱
۲۷	۹.۱۴	۱۰۳۱	۱۰	C	نر	۳	۴۳	طبیعی	۱۱		۱۲	
۲۸	۹.۱۴	۷۳۷۴	۱۲	C	ماده	۲	۴۵	سزارین	۱۲		۱۵	
۲۹	۹.۱۴	۷۳۷۵	۶	T	ماده	۲	۳۶	طبیعی	۹	۱۱	۱۵	۱۶
۳۰	۹.۱۵	۱۰۳۲	۸	C	نر	۲	۴۹	طبیعی	۹		۱۵	
۳۱	۹.۱۵	۱۰۳۳	۹	C	نر	۴	۵۰	طبیعی	۱۰		۱۵	
۳۲	۹.۱۵	۷۳۷۶	۱۰	C	ماده	۳	۳۸	طبیعی	۱۱	۱۵	۲۱	
۳۳	۹.۱۵	۱۰۳۴	۱۲	C	ماده	۲	۴۳	طبیعی	۱۴	-	۲۰	-
۳۴	۹.۱۶	۱۰۳۵	۱۰	T	نر	۱	۴۰	طبیعی	۱۱	۱۳	۱۴	۱۶
۳۵	۹.۱۶	۷۳۷۷	۱۰	T	ماده	۲	۴۳	طبیعی	۱۱	۱۳	۱۴	۱۶
۳۶	۹.۱۶	۱۰۳۶	۱۴	T	نر	۵	۴۰	طبیعی	۱۴	۱۶	۲۰	۲۳
۳۷	۹.۱۶	۷۳۷۸	۲۰	T	ماده	۱	۳۴	طبیعی	۲۰	۲۲	۲۴	۲(۹.۱۶)
۳۸	۹.۱۶	۷۳۷۹	۳	C	ماده	۲	۴۳	طبیعی	۴	-	۸	-
۳۹	۹.۱۹	۷۳۸۰	۲۳	C	ماده	۲	۳۵	طبیعی	۲۴	-	۷	-
۴۰	۹.۱۹	۱۰۳۷	۲۳	C	نر	۱	۳۸	طبیعی	۲۴	-	۷	-
۴۱	۹.۱۹	۱۰۳۹	۱۱	T	نر	۴	۳۵	طبیعی	۱۴	۱۸	۱۹	-
۴۲	۹.۱۹	۱۰۴۰	۱۱	C	نر	۴	۳۵	طبیعی	۱۴	-	۱۹	-
۴۳	۹.۱۹	۷۳۸۱	۲۳	T۳	ماده	۲	۳۸	طبیعی	۲۴	۲(۹.۱۹)	۷	-
۴۴	۹.۲۰	۱۰۴۱	۸	T۳	نر	۲	۴۳	طبیعی	۱۰	۱۲	۱۴	

تاریخ: ۰۹/۱۴			ساعت شروع:		ساعت پایان:		خمیر روز قبل: ۴۶		مصرف شده:		تعداد باقی مانده:	
	گوساله	سن	تیمار	مصرف خمیر (۱/۱/۳/۵/۷)	وضعیت روزانه تا ۲۱	دمای رکتوم/نمونه رکتال (۳-۲/۵/۷/۱۰/۱۴)		نمونه خون (۲/۵/۱۰/۲۰/۳۰/۵۷)	خون اسهالی	وزن گشی (۱/۱/۳/۴/۶/۱۱/۱۳/۱۵/۱۷) (۵۷)	معاینه بدنی (۳/۳۰/۶۰)	دارو
۱	999	16	C		✓							
۲	1000	15	C		✓							
۳	1003	15	T		✓							
۴	7341	16	T		✓							
۵	7342	16	T		✓							
۶	7343	16	T		✓							
۷	7345	14	T		✓					✓		
۸	7346	13	T D3		✓				✓			
۹	1018	8	T		✓							
۱۰	1019	8	T D2		✓				✓			
۱۱	7361	8	T		✓							
۱۲	7364	7	C		✓	✓	✓					
۱۳	7365	7	C		✓	✓	✓					
۱۴	7368	7	T	✓	✓	✓						
۱۵	1021	7	T	✓	✓	✓						
۱۶	1022	7	T	✓	✓	✓						
۱۷	1024	5	C		✓	✓		✓				
۱۸	1025	5	T	✓	✓	✓		✓				
۱۹	7371	3	T	✓	✓	✓				✓	✓	
۲۰	1026	3	T	✓	✓	✓				✓	✓	
۲۱	1027	3	T	✓	✓	✓				✓	✓	
۲۲	1028	2	T		✓			✓				
۲۳	1029	2	T		✓			✓				
۲۴	1030	2	T		✓			✓				
۲۵												
۲۶												
۲۷												
۲۸												
۲۹												
۳۰												
۳۱												

تاریخ:		ساعت شروع رکورد برداری:										ساعت پایان:										کارشناس طرح:			
	تاریخ	گوساله	جنس	سن	تیمار	وزن تولد	وزن کشی	طول بدن	ارتفاع جدوگاه	عرض هیپ	ارتفاع هیپ	دور سینه		تاریخ	گوساله	جنس	سن	تیمار	وزن تولد	وزن کشی	طول بدن	ارتفاع جدوگاه	عرض هیپ	ارتفاع هیپ	دور سینه
۱	۹۰۱	۷۳۴۱	ماده	۳	T	۵۰		۷۰	۷۰	۲۲	۷۶	۸۸	۹۱۴	۷۳۷۲	ماده	۳	T					۷۶	۱۸	۷۳	۷۷
۲	۹۰۲	۷۳۴۲	ماده	۴	T	۴۰		۶۸	۷۷	۱۹	۷۰	۸۵	۹۱۴	۱۰۲۶	نر	۳	T					۷۶	۱۹	۸۰	۸۲
۳	۹۰۳	۷۳۴۳	ماده	۴	T	۴۲.۵		۷۷	۷۴	۲۰	۸۲	۸۱	۹۱۴	۱۰۲۷	نر	۳	T					۸۰	۲۱	۸۲	۸۷
۴	۹۰۴	۹۹۷	نر	۴	T	۴۳		۶۲	۷۷	۲۱	۸۰	۷۹	۹۱۵	۱۰۲۸	نر	۳	T								
۵	۹۰۵	۹۹۸	نر	۴	T	۴۸		۷۶	۸۰	۱۷	۷۷	۸۵	۹۱۵	۱۰۲۹	نر	۳	T					۷۴	۱۷	۷۶	۷۵
۶	۹۰۶	۹۹۹	نر	۴	C	۴۰		۷۰	۷۸	۱۹	۷۸	۸۴	۹۱۵	۱۰۳۰	نر	۳	T					۷۶	۱۸	۷۹	۸۲
۷	۹۰۷	۱۰۰۴	نر	۵	C	۳۸		۶۴	۷۰	۱۸	۷۸	۷۶	۹۱۵	۱۰۳۱	نر	۳	C					۷۹	۱۹	۸۲	۸۲
۸	۹۰۸	۷۳۴۵	ماده	۵	T	۴۰		۷۲	۸۰	۲۰	۸۵	۸۴	۹۱۵	۷۳۷۴	ماده	۳	C					۸۰	۲۰	۸۳	۸۲
۹	۹۰۹	۷۳۴۶	ماده	۴	T	۴۲		۷۴	۷۴	۱۹	۸۰	۸۰	۹۱۵	۷۳۷۵	ماده	۳	T					۷۴	۲۲	۸۰	۸۰
۱۰	۹۰۱۰	۱۰۰۰	نر	۸	C	۳۹		۷۱	۷۳	۱۸	۷۲	۸۰	۹۱۶	۱۰۳۲	نر	۳	C					۷۹	۲۱	۸۵	۸۲
۱۱	۹۰۱۱	۱۰۰۲	نر	۸	C	۴۳		۷۶	۷۴	۱۹	۸۰	۷۸	۹۱۶	۱۰۳۳	نر	۳	C					۸۰	۲۲	۸۶	۸۶
۱۲	۹۰۱۲	۱۰۰۱۸	نر	3	T	35		۷۰	۷۳	۱۸	۷۷	۷۷	۹۱۶	۱۰۳۴	نر	۳	C					۷۸	۲۰	۸۸	۸۴
۱۳	۹۰۱۳	۱۰۰۱۹	نر	3	T	42		۷۳	۷۷	۱۹	۷۸	۸۶	۹۱۶	۷۳۷۶	ماده	۳	C					۷۷	۱۹	۷۶	۸۰
۱۴	۹۰۱۴	۷۳۶۱	ماده	3	T	42		۷۰	۷۷	۲۰	۷۸	۸۰	۹۱۸	۹۹۹	نر	۲۰	T					۷۵	۲۱	۸۰	۸۲
۱۵	۹۰۱۵	۱۰۰۲۱	نر	4	T	46		۷۰	۷۶	۱۹	۸۰	۸۴	۹۱۸	۷۳۴۱	ماده	۲۰	T					۷۸	۲۳	۸۶	۸۵
۱۶	۹۰۱۶	۱۰۰۲۲	نر	4	T	43		۷۴	۸۰	۲۱	۸۵	۸۴	۹۱۸	۷۳۴۲	ماده	۲۰	T					۷۷	۲۱	۸۵	۸۲
۱۷	۹۰۱۷	۷۳۶۴	ماده	3	C	39		۷۲	۷۵	۱۸	۸۰	۸۱	۹۱۸	۷۳۴۳	ماده	۲۰	T					۷۸	۲۳	۸۳	۸۴
۱۸	۹۰۱۸	۷۳۶۵	ماده	3	C	36		۷۳	۸۲	۲۰	۷۸	۸۲	۹۱۸	۱۰۰۳۵	ماده	۴	T					۷۶	۲۰	۸۰	۸۲
۱۹	۹۰۱۹	۷۳۶۸	ماده	3	T	40		۶۷	۸۰	۱۹	۸۰	۸۴	۹۱۸	۷۳۷۷	ماده	۴	T					۷۷	۲۲	۸۰	۸۰
۲۰	۹۰۲۰	۱۰۰۲۴	نر	۳	C	۴۳		۷۰	۸۰	۲۲	۸۵	۸۲	۹۱۸	۱۰۰۳۶	ماده	۴	T					۷۸	۲۲	۸۰	۸۰

تاریخ:		ساعت شروع رکورد برداری:										ساعت پایان:										کارشناس طرح:			
تاریخ	گوساله	جنس	سن	تیمار	وزن تولد	وزن کشی	طول بدن	ارتفاع جدوگاه	عرض هیپ	ارتفاع هیپ	دور سینه	تاریخ	گوساله	جنس	سن	تیمار	وزن تولد	وزن کشی	طول بدن	ارتفاع جدوگاه	عرض هیپ	ارتفاع هیپ	دور سینه		
۱												۱۹													
۲												۲۰													
۳												۲۱													
۴												۲۲													
۵												۲۳													
۶												۲۴													
۷												۲۵													
۸												۲۶													
۹												۲۷													
۱۰												۲۸													
۱۱												۲۹													
۱۲												۳۰													
۱۳												۳۱													
۱۴												۳۲													
۱۵												۳۳													
۱۶												۳۴													
۱۷												۳۵													
۱۸												۳۶													

تاریخ: ۱۰۰۵			ساعت شروع:			ساعت پایان:			کارشناس طرح:		
سن	شماره گوساله	شیر / آغوز روز قبل	خمیر (ساعت)	عطسه	بینی	چشم	گوش	اسکور مدفوع	دمای رکتال	وزن	دارو روز قبل
۵۷	۱۰۳۵	۱									
۵۷	۷۳۷۷	۲									
۵۷	۱۰۳۶	۳									
۵۶	۷۳۷۸	۴									
۵۶	۷۳۷۹	۵									
۵۷	۷۳۸۰	۶									
۵۷	۱۰۳۷	۷									
۵۶	۱۰۳۹	۸									
۵۶	۱۰۴۰	۹									
۵۷	۷۳۸۱	۱۰									
۵۷	۱۰۴۱	۱۱									
۵۵	۱۰۴۲	۱۲									
۵۵	۷۳۸۳	۱۳									
۵۵	۷۳۸۴	۱۴									
۵۵	۱۰۴۴	۱۵									
۵۵	۷۳۸۵	۱۶									
۵۴	۷۳۸۶	۱۷									
۵۴	۷۳۸۷	۱۸									
۵۴	۷۳۸۸	۱۹									
۵۴	۷۳۸۹	۲۰									
۵۴	۷۳۹۰	۲۱									
۵۳	۷۳۹۱	۲۲									
۵۳	۱۰۴۷	۲۳									
۵۳	۷۳۹۲	۲۴									
۵۲	۷۳۹۵	۲۵									
۵۲	۷۳۹۶	۲۶									
۵۲	۱۰۴۹	۲۷									
۵۲	۱۰۵۰	۲۸									
۵۲	۷۳۹۸	۲۹									
۵۲	۱۰۵۱	۳۰									
۵۱	۷۳۹۹	۳۱									
۵۱	۷۴۰۰	۳۲									
۵۰	۷۴۰۱	۳۳									
۵۰	۷۴۰۲	۳۴									
		۳۵									
		۳۶									

پیوست شماره ۱۱: توجیه اقتصادی طرح



پژوهشگاه رویان

مطالعات امکان سنجی احداث واحد
تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای
محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:

پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:

جناب آقای دکتر قاندي





پژوهشگاه رویان

مطالعات امکان سنجی احداث واحد
تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای
محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندي

مطالعات امکان سنجی طرح

احداث واحد احداث واحد تولید

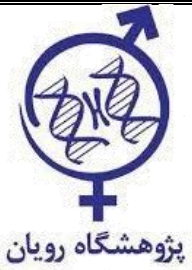
ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندي

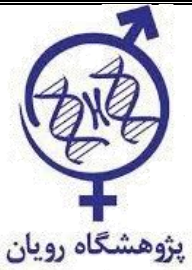
مشاور: مریم ذوالقدر

تاریخ تنظیم: اسفند ماه ۱۴۰۲

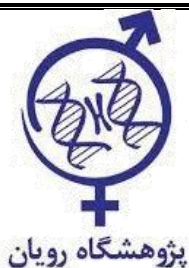
	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

فهرست مطالب

فصل اول: مطالعات بازار.....	۱۰
۱-۱- مقدمه.....	۱۰
۱-۲- معرفی طرح.....	۱۲
۱-۳- معرفی ماهیت محصول.....	۲۲
۱-۴- معرفی کاربردهای محصول.....	۲۲
۱-۵- بررسی الگوی مصرف جامعه.....	۲۳
۱-۵-۲- جایگاه محصول.....	۲۳
۱-۵-۳- بررسی محصول جایگزین و شرح تفاوت آنها.....	۲۳
۱-۶- تحلیل ضرورت اجرای پروژه.....	۲۶
۱-۶-۱- تحلیل ملاحظات اجرایی پروژه.....	۲۶
۱-۶-۱-۱- ملاحظات اقتصادی.....	۲۶
۱-۶-۱-۲- ملاحظات اجتماعی و فرهنگی.....	۲۷
۱-۷- مکان یابی پروژه.....	۲۸
۱-۸- تحلیل جایگاه صنعت مورد بررسی در سیاست های کلان اقتصادی کشور.....	۴۲
۱-۸-۱- سازگاری اجرای پروژه با مجموع استراتژی های کلان اقتصادی.....	۴۲
۱-۸-۲- بررسی سیاست های حمایتی دولت از طرح مورد بررسی.....	۴۳
۱-۸-۳- مزیت های نسبی سرمایه گذاری در صنعت مورد بررسی.....	۴۳
تحلیل بازار.....	۴۴
۱-۹- وضعیت عرضه.....	۴۵
۱-۹-۱- عرضه داخلی.....	۴۵
۱-۹-۱-۱- کد آیسیک مرتبط با محصول.....	۴۵
۱-۹-۱-۲- تولید داخلی بر اساس کد آیسیک مذکور.....	۴۵

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندي

۴۶.....	۳-۱-۹-۱- پیش بینی تولید داخلی بر اساس کد آیسیک مذکور.....
۴۶.....	۱-۹-۲- واردات.....
۴۶.....	۱-۹-۲-۱- کد تعرفه مرتبط با محصول.....
۴۷.....	۲-۹-۱-۲- میزان واردات بر اساس کد تعرفه مذکور.....
۴۸.....	۳-۹-۱-۲- پیش بینی میزان واردات بر اساس کد تعرفه مذکور.....
۵۰.....	۱۰-۱- وضعیت تقاضا.....
۵۳.....	۱۱-۱- جمع بندی، نتیجه گیری و ارائه پیشنهاد.....
۵۵.....	فصل سوم: مطالعات فنی.....
۵۵.....	۱-۳- هدف از اجرای طرح.....
۵۶.....	۳-۲- ظرفیت.....
۵۸.....	۳-۳- مفروضات نوبت کاری.....
۵۹.....	۳-۴- مواد اولیه، کمکی و بسته بندی.....
۶۰.....	۳-۵- سوابق اجرای پروژه.....
۶۱.....	۳-۶- فرآیند تولید.....
۶۲.....	۳-۷- کنترل کیفیت.....
۶۵.....	۳-۸- الزامات زیست محیطی.....
۶۷.....	۳-۹- پیش بینی تولید.....
۶۹.....	۳-۱۰- هزینه های سرمایه گذاری طرح.....
۷۲.....	۱-۱۰-۳- زمین.....
۷۳.....	۲-۱۰-۳- محوطه سازی.....
۷۴.....	۳-۱۰-۳- ساختمان سازی.....
۷۸.....	۴-۱۰-۳- ماشین آلات.....
۷۹.....	۱۰-۳-۵- تأسیسات.....

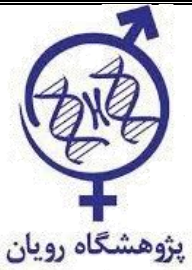


مطالعات امکان سنجی احداث واحد **تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای** **محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)**

مالک طرح:
 پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

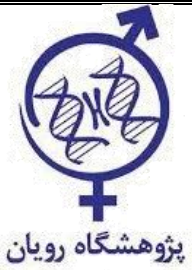
مدیر پروژه:
 جناب آقای دکتر قاندى

۸۱.....	۱۰-۳-۶- هزینه تجهیزات آزمایشگاهی
۸۲.....	۱۰-۳-۷- هزینه تجهیزات و ملزومات اداری و رفاهی
۸۳.....	۱۰-۳-۸- هزینه های قبل از بهره برداری
۸۴.....	۳-۱۱- سرمایه در گردش
۸۵.....	۳-۱۲- زمانبندی اجرای طرح
۸۶.....	۳-۱۳- هزینه های تولید
۸۸.....	۱-۱۳-۳- مواد اولیه، کمکی و بسته بندی
۸۹.....	۲-۱۳-۳- حقوق و دستمزد
۹۰.....	۳-۱۳-۳- هزینه آب، برق، سوخت و ارتباطات
۹۱.....	۴-۱۳-۳- تعمیر و نگهداری
۹۲.....	۵-۱۳-۳- هزینه استهلاک
۹۳.....	۶-۱۳-۳- هزینه بیمه
۹۳.....	۷-۱۳-۳- هزینه های پیش بینی نشده
۹۴.....	۸-۱۳-۳- هزینه های سربار
۹۴.....	۹-۱۳-۳- هزینه های بازاریابی
۹۵.....	۳-۱۴- هزینه های ثابت و متغیر
۹۸.....	فصل چهارم: ارزیابی مالی
۹۸.....	فصل چهارم: مطالعات مالی
۹۸.....	۱-۴- خلاصه پیش بینی های مالی گزارش در مورد طرح های با تسهیلات ریالی
۹۹.....	۲-۴- هزینه های طرح و نحوه تأمین منابع آن
۱۰۰.....	۳-۴- سرمایه در گردش
۱۰۱.....	۴-۴- نتیجه و پیشنهاد
۱۰۲.....	۴-۵- جداول مالی

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

فهرست جداول

جدول ۱- کد آیسیک مرتبط با محصول موضوع طرح	۴۵
جدول ۲- کد تعرفه مرتبط با محصول موضوع طرح	۴۶
جدول ۳- واردات طی سالهای ۱۳۹۷ الی ۱۴۰۱ (تن)	۴۷
جدول ۴- پیش بینی واردات طی پنج سال آینده	۴۸
جدول ۵- تعداد دام های سبک و سنگین طی سال های گذشته و پیش بینی سالهای آتی (با نرخ رشد)	۵۱
جدول ۶- برآورد میزان مصرف تولیدات شرکت با در نظر گرفتن سهم از بازار طی سالهای آتی	۵۲
جدول ۷- محصولات تولیدی	۵۶
جدول ۸- ظرفیت عملی طرح	۵۷
جدول ۹- تعداد نوبت کاری	۵۸
جدول ۱۰- مشخصات و هزینه مواد اولیه، کمکی و بسته بندی جهت محصول	۵۹
جدول ۱۱- پیش بینی برنامه تولید طرح	۶۷
جدول ۱۲- برنامه قیمت و فروش طرح (میلیون ریال)	۶۸
جدول ۱۳- هزینه های سرمایه گذاری کل طرح (ارقام به میلیون ریال)	۷۰
جدول ۱۴- هزینه های سرمایه گذاری ثابت طرح (ارقام به میلیون ریال)	۷۱
جدول ۱۵- مشخصات زمین طرح	۷۲
جدول ۱۶- محوطه سازی	۷۳
جدول ۱۷- ساختمانها در طرح	۷۶
جدول ۱۸- هزینه ماشین آلات در طرح (میلیون ریال)	۷۸
جدول ۱۹- هزینه های تأسیسات (میلیون ریال)	۷۹
جدول ۲۰- هزینه تجهیزات آزمایشگاهی (میلیون ریال)	۸۱
جدول ۲۱- هزینه تجهیزات و ملزومات اداری و رفاهی (میلیون ریال)	۸۲

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

جدول ۲۲- هزینه های قبل از بهره برداری (میلیون ریال).....	۸۳
جدول ۲۳- سرمایه در گردش (میلیون ریال).....	۸۴
جدول ۲۴- روزهای پوشش و ضریب گردش برای سرمایه در گردش.....	۸۴
جدول ۲۵- جدول زمانبندی پروژه.....	۸۵
جدول ۲۶- هزینه های تولید (میلیون ریال).....	۸۶
جدول ۲۷- هزینه مواد اولیه.....	۸۸
جدول ۲۸- هزینه حقوق و دستمزد پرسنل مستقیم (میلیون ریال).....	۸۹
جدول ۲۹- برآورد میزان مصرف برق، آب، سوخت، ارتباطات و غیره.....	۹۰
جدول ۳۰- تعمیر و نگهداری.....	۹۱
جدول ۳۱- هزینه های بیمه کارخانه (میلیون ریال).....	۹۳
جدول ۳۲- هزینه های پیش بینی نشده (میلیون ریال).....	۹۳
جدول ۳۳- هزینه های سربار کارخانه (میلیون ریال).....	۹۴
جدول ۳۴- هزینه های بازاریابی.....	۹۴
جدول ۳۵- هزینه های ثابت و متغیر.....	۹۶
جدول ۳۶- هزینه های طرح و منابع تأمین.....	۹۹
جدول ۳۷- هزینه های سرمایه در گردش در طرح (میلیون ریال).....	۱۰۰
جدول ۳۸- ترازنامه (میلیون ریال).....	۱۰۲
جدول ۳۹- صورت سود و زیان (میلیون ریال).....	۱۰۳

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)		مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	---	--	---

خلاصه مدیریتی

عنوان طرح	احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)
مواد اولیه مصرفی عمده	تخم مرغ
اشتغال زایی طرح	۳۳ نفر
سرمایه گذاری طرح	دارایی های موجود
	دارایی های مورد نیاز
	قبل از بهره برداری
	سود دوران مشارکت
	سرمایه در گردش
	سرمایه گذاری کل
نرخ بازده سرمایه (IRR)	۶۰٫۰۸ درصد
سال های برگشت سرمایه گذاری عادی	۳٫۴۱ سال
NPV با نرخ تنزیل ۳۰٪	۱٫۸۶۲٫۹۶۶٫۱ میلیون ریال



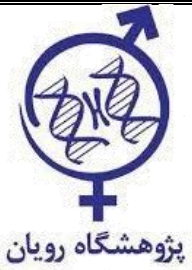
پژوهشگاه رویان

**مطالعات امکان‌سنجی احداث واحد
تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای
محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)**

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندي

مطالعات بازار

	مطالعات امکان‌سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

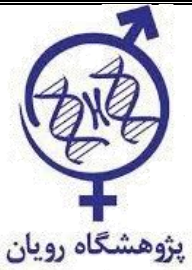
فصل اول: مطالعات بازار

۱-۱- مقدمه

مطالعات امکان‌سنجی بررسی‌های کارشناسی است که قبل از اجرای طرح‌های سرمایه‌گذاری اقتصادی انجام می‌گیرد. در این مطالعات، موارد به لحاظ بازار، فنی، مالی و اقتصادی بررسی و آنالیز قرار گرفته و نتایج حاصل از آن به عنوان مبنایی برای تصمیم‌گیری سرمایه‌گذاران مورد استفاده قرار می‌گیرد.

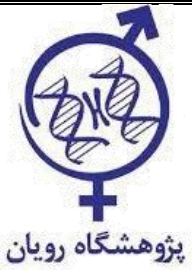
این مطالعات در قالب متدولوژی مطالعات امکان‌سنجی تهیه گردیده است و مطابق متدولوژی فوق، ابتدا محصول مورد مطالعه به طور دقیق معرفی شده و سپس بررسی‌های لازم روی بازار آن صورت خواهد گرفت و در ادامه مطالعات فنی در خصوص چگونگی تولید و امکانات سخت و نرم افزاری مورد نیاز شناسایی شده و در نهایت ظرفیت‌های اقتصادی و حجم سرمایه‌گذاری مورد نیاز برای اجرای طرح برآورد و ارائه خواهد شد تا با استفاده از آن سرمایه‌گذاران و علاقه‌مندان بتوانند کلیه اطلاعات مورد نیاز را کسب و در جهت انجام سرمایه‌گذاری اقتصادی با دید باز و مسیر شفاف اقدام نمایند.

غذا به عنوان مهمترین عامل حیات پس از آب و هوا یکی از نگرانی‌های بشر از ابتدای خلقت تا به حال می‌باشد. با گسترش تمدن بشری و رشد علم، تغذیه هم جایگاه ویژه خود را یافته و به سرعت در سطوح بالای علمی و با ایجاد دانشگاه‌ها و مراکز علمی و آزمایشگاه‌های مجهز جهت بالا بردن کیفیت غذای مصرفی و افزودن به خواص بیولوژیکی آن و کم کردن هزینه‌های تولید و همچنین حفاظت محیط زیست، گام‌های بلندی توسط دانشمندان و محققان برداشته شده است. یکی از مهمترین فاکتورهایی که در تغذیه انسان نقش بسزایی دارد گوشت، شیر، تخم مرغ و فرآورده‌های دامی مشتق آن می‌باشد که بشر از ابتدای خلقت تا به حال همواره به آن نیازمند بوده است. به منظور بهبود در میزان و کیفیت تولید این فرآورده‌ها، دانشمندان با کمک گرفتن از علم ژنتیک، اقدام به طراحی سیستم‌های

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

به نژادی نموده اند. یکی از ملزومات نتیجه گیری در سیستم های به نژادی، فراهم نمودن تغذیه مناسب در دام و طیور و آبزیان است. بدین منظور رد پای مکمل های تغذیه ای در کنار نهاده های اصلی تغذیه ای، در این صنعت نمودار گردید.

همزمان با توسعه صنعت دام، طیور و آبزیان در ایران همانند بسیاری از کشورهای دیگر، موضوع کنترل بیماری های طیور، دام و آبزیان یکی از چالش های اساسی مدیریت کلان کشوری بوده است. متأسفانه اجرای ناقص قرنطینه و استفاده غیر اصولی از راه کارهای درمانی (مصرف بی رویه آنتی بیوتیک) چالشی بس بزرگ در روند توسعه صنعت دامپروری ایجاد کرده است. این چالش دو بعد مهم و موثر در پی داشته است. یکی از آن ها هزینه تولید دام را به شدت افزایش می دهد و دیگر آن که افزایش مقاومت در برابر آنتی بیوتیک ها را به همراه داشته است. مقاومت آنتی بیوتیکی نه تنها برای دام، طیور و آبزیان تهدید محسوب می شود بلکه این مقاومت با واسطه تغذیه به زیست بوم انسانی نیز سرایت می کند و بحران فعلی مشکلات درمان بیماری های عفونی در انسان و دام را به همراه خواهد داشت. میزان مصرف آنتی بیوتیک در ایران ۱۶ برابر استاندارد جهانی و به میزان کل مصرف آنتی بیوتیک در قاره اروپا می باشد و این در حالی است که بیش از نیمی از آنتی بیوتیک مصرفی در دنیا در بخش پرورش دام و طیور متمرکز است. تولید انبوه دام های جوان و سالم برای دستیابی به موفقیت اقتصادی و تامین آینده گله های گاو شیری، گوسفند و بز ضروری است. از آنجایی که اغلب مدیران در دامداری های بزرگ، سالانه ۲۵ تا ۳۵ درصد از گله را حذف می کنند، باید تولید دام جوان در حد کافی برای جایگزین کردن در اختیار داشته باشند. اسهال در دام های تازه به دنیا آمده یکی از دلایل اصلی افت عملکرد و یا تلفات در دوران شیرخوارگی است. برآوردها نشان می دهد که ۵۰ درصد از تلفات گوساله ها و بره ها در دوران پیش از شیرگیری مربوط به اسهال می باشد. اسهال یکی از شایع ترین بیماری های گوساله ها تا سه ماهگی می باشد که از علل عمده ضرر و زیان برای تولید کنندگان گاو و از عوامل اصلی مرگ و میر در صنعت گاو در سراسر جهان است.

	مطالعات امکان‌سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۲-۱- معرفی طرح

گزارش حاضر مطالعات امکان‌سنجی جهت تولید آنتی بادی بعنوان ماده موثره محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس) دامی در شهرک صنعتی دارویی برکت یا زمینی واقع در منطقه هلجرد می‌باشد.

شرح تغذیه تلایسه‌ها با کلستروم، میزان مصرف و نحوه مصرف

تلایسه‌های در حال رشد در آینده هسته مرکزی گاوداری خواهند بود و باید به‌خوبی تغذیه شوند و آماده جهت ادامه فرآیند تولید شیر و تولید دام‌های مولد جایگزین باشد. برای به حداقل رسانیدن مرگ و میر در فاصله بین تولد و از شیرگیری می‌بایستی گوساله‌ها به خوبی و اصولی تغذیه بشوند. گوساله در بدو تولید مقاومت کمی در برابر بیماری‌ها دارد. کلستروم اولین شیر بعد از زایش در مقایسه با شیر معمولی از نظر چربی مواد جامد، کل پروتئین و آنتی‌بادی بسیار بالا است و گوساله را در برابر بیماری‌ها حفاظت می‌کند.

بیماری اسهال در دام

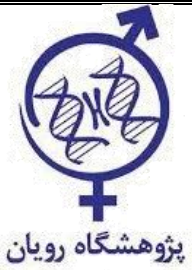
اسهال اغلب با از دست دادن آب بدن و الکترولیت‌ها همراه است. عوارض مختلفی در نتیجه اسهال پدیدار می‌شود که می‌توان به از دست دادن مایعات بدن و کاهش حجم خون، عدم تعادل الکترولیت‌ها و اسیدوز، شوک و مرگ حیوان اشاره کرد. اسهال شامل اسهال تغذیه ای و اسهال عفونی می‌باشد. اسهال عفونی گوساله به دو صورت یافت می‌شود، مورد اول باعث ترشح مقادیر زیادی مایعات و الکترولیت‌ها از روده می‌شوند مانند *E. coli K⁹⁹+* و گروه دیگر که باعث کاهش جذب مواد از روده می‌شوند از قبیل سالمونلا، روتاویروس، کورونا ویروس و گونه‌های دیگر اشریشیا کلی، گوساله ای که دچار اسهال شده است با مشکلات عمده ای در آینده می‌تواند مواجه شود. از جمله می‌توان به کاهش وزن از شیرگیری، افزایش زمان از شیرگیری و مشکلات عدیده تنفسی از جمله پنومونی اشاره کرد. مطالعات نشان

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندي

داده است، گوساله‌هایی که مبتلا به اسهال می شوند در مقایسه با گوساله‌های سالم، حساسیت بیشتری به بیماری‌های دیگر در طول زندگی داشته و از تولید کمتر در دوره شیردهی اول برخوردارند. بحث در مورد علل عفونی اسهال گوساله‌ها از ۳۰ سال پیش به طور جدی مورد توجه قرار گرفته است. تا سال‌ها سالمونلا را تنها عامل مولد اسهال می‌دانستند ولی در سال ۱۹۶۷ نشان داده شد که گروه کوچکی از سوش‌های کلی‌باسیل، منجر به اسهالی آبکی می‌شوند. این دسته از باکتری‌ها بعداً اشرشیاکلی انتروتوکسینوزن نام گرفتند و امروزه مشخص شده است که مهمترین پاتوژن‌هایی هستند که در نوزاد علف‌خواران باعث اسهال می‌شوند. اسهال در گوساله‌های تازه متولد شده می‌تواند ناشی از تغذیه نادرست و یا شرایط نگهداری باشد. بیشتر منابع آلودگی در این دوره از زندگی گوساله شامل کلی‌باسیلوس‌های انترو وکسیژنیک *E. coli K⁹⁹⁺* می‌باشد که سبب ۳۰ تا ۵۰٪ از مرگ و میر ناشی از اسهال است.

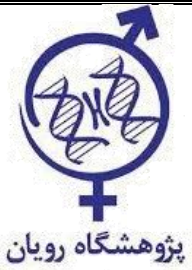
عوامل غیر عفونی منجر به اسهال شامل جذب ناکافی آغوز، بهداشت نامناسب، استرس و هوای سرد است. در واقع آسیب‌پذیری گوساله تازه متولد شده در برابر عفونت به دلیل ضعف ایمنی است. واکسیناسیون گاوها و مصرف آغوز توسط گوساله‌ها در ۶ ساعت اول زندگی، راهبردهای حیاتی برای جلوگیری از اسهال شدید است، اما این راهبردها هنوز ناکافی هستند. همزمان با توسعه صنعت دام در ایران همانند بسیاری از کشورهای دیگر، موضوع کنترل بیماری‌های دام نیز یکی از چالش‌های اساسی در مدیریت کلان کشوری شده است.

اهمیت انتخاب درمان بیماری‌های دامی با آنتی بادی و جایگزینی آن با درمان آنتی بیوتیکی این است که با افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در درمان بیماری‌های دامی، نه تنها هزینه تولید دام در دامپروری‌ها افزایش یافته، بلکه واردات آنتی بیوتیک‌های نسل جدید، معبری برای خروج ارز از کشور باز کرده که مشکلات اخیر ارزی و تخصیص ردیف مناسب ارزی، چالش‌های درمان بیماری‌ها را دو چندان کرده است. از طرف دیگر مصرف فرآورده‌های غذایی با منشأ دامی که ممکن است حاوی باقی مانده‌های آنتی بیوتیکی باشند، نگرانی‌های زیادی را برای مصرف کنندگان ایجاد کرده است. از مهمترین خطر باقیمانده‌های آنتی بیوتیکی در مواد غذایی، بروز مقاومت دارویی در برابر باکتری‌های پاتوژن در بدن مصرف کنندگان می‌باشد. کاربرد آنتی بیوتیک‌ها در گوساله‌های مبتلا به اسهال به دلیل اختلال بیشتر

	مطالعات امکان‌سنجی احداث واحد تولید ماده مؤثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندي

در فلور میکروبی روده و ایجاد عوامل مقاومت ضد میکروبی مورد تردید بوده است. اگرچه گوساله‌های بسیار بیمار مبتلا به سالمونلوز ممکن است از درمان ضد میکروبی بهره مند شوند، اما اکثر مطالعات نیز هیچ گونه اثر مفید درمان ضد میکروبی را نشان نداده اند. برخی از مطالعات اثر محدود آنتی بیوتیک‌ها را در کاهش مرگ و میر و عوارض در شیوع اسهال نشان می دهد. این امر باعث ممنوعیت استفاده فرعی از آنتی بیوتیک‌ها در بسیاری از کشورها شده است. از طرف دیگر آزمایش‌های تشخیصی برای شایع ترین عوامل عفونی مرتبط با اسهال گوساله نوزادی همیشه در دسترس نیست و یا نمی توان به موقع انجام داد. این وضعیت نیاز به راه حل های جایگزین برای آنتی بیوتیک‌ها را برجسته می کند که همچنین می تواند یک استراتژی جایگزین مناسب برای کنترل اسهال مرتبط با ویروس و انگل باشد که به آنتی بیوتیک‌ها حساس نیستند.

مهم‌ترین عامل چسبنده ای که تاکنون بر روی سویه‌های اشریشیاکلی درگیر در اسهال گوساله‌ها شناخته شده است، فاکتور $F^{5}(K^{99})$ می‌باشد که امکان اتصال باکتری به سطوح اپیتلیال سلولهای روده را فراهم می‌سازد فاکتور $F^{5}(K^{99})$ که از واحدهای تکراری با وزن مولکول ۱۸ KD تشکیل شده، قادر است که به ماده-N گلیکوزیل نورامینیک اسید متصل شود. این ترکیب در سطح سلول‌های روده گاو حضور داشته و به عنوان رسپتور برای فاکتور $F^{5}(K^{99})$ به کار می رود. بنابراین باکتری‌ها قادرند بطور مؤثر Sta یا $enterotoxin$ (heat stable type ۱) که بطور معمول تولید می‌شوند را انتقال دهند. با ساکن شدن باکتری، انتروتوکسین تولیدی توسط باکتری موجب آسیب به سلول های اپیتلیال روده شده و در نتیجه موجب از هم گسیختگی در ترشح و جذب مایعات و الکترولیت‌ها می‌شود. بدین وسیله دفع وسیع مایعات القاء می‌شود و کاهش آب و الکترولیتها به سرعت منجر به دهیدراتاسیون خواهد شد. این رخداد موجب اسهال آبکی، دهیدراتاسیون و اسیدوز در گوساله های شیرخوار می شود. اسهال عفونی، بیشترین سهم را در ایجاد تلفات در دامداری‌ها داراست و معمولاً بیشترین شیوع را در بین بیماری های مرتبط با گوساله‌ها دارد. این امر موجب شده است که، اسهال عفونی، ضررهای اقتصادی گسترده‌ای را به صنعت گاو شیری در سطح جهان وارد کند.

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

ایمونوتراپی

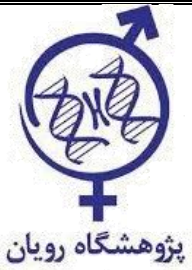
امروزه ایمونوتراپی به عنوان یک درمان بیولوژیک و روشی نو ظهور در درمان انواع سرطان، بیماری‌های خود ایمنی، بیماری‌های آلرژیک و ازدیاد حساسیت و نیز جلوگیری از رد پیوند به شمار می رود.

روش‌های مختلفی در ایمونوتراپی وجود دارد که شامل:

- محرک‌های ایمنی
- آنتی‌بادی‌ها
- سلول درمانی
- واکسن‌ها

آنتی‌بادی ترابی در درمان بیماری اسهال

آنتی‌بادی‌ها مولکول‌های گلیکوپروتئینی هستند که در پاسخ به حضور آنتی‌ژن‌ها از لنفوسیت‌های B تولید و ترشح می‌گردند. از ویژگی‌های مهم آنتی‌بادی‌ها اتصال اختصاصی آنها به آنتی‌ژن‌ها است. آنتی‌ژن‌ها می‌توانند میکروب‌ها و یا محصولات حاصل از آنها و همچنین مولکول‌های تولید شده توسط سلول‌های سرطانی باشند. اختصاصی بودن آنتی‌بادی‌ها برای آنتی‌ژن‌ها و همچنین قابلیت اتصال شیمیایی مولکول‌های مختلف که با استفاده از تکنیک‌های نسبتاً آسان انجام می‌پذیرد. نواحی از آنتی‌بادی که تداخلی در اتصال آنتی‌بادی به آنتی‌ژن اختصاصی خود ندارد، سبب کاربرد وسیع آنتی‌بادی‌ها به عنوان مولکول‌هایی جادویی در پزشکی برای پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری‌ها گردیده است. آنتی‌بادی‌ها را می‌توان علیه هر نوع مولکول درشت یا مولکول‌های کوچک شیمیایی تولید کرد. امروزه آنتی‌بادی‌ها اغلب با استفاده از تکنیک‌های مهندسی ژنتیک در محیط آزمایشگاه تولید می‌گردند. چهار خصوصیت آنتی‌بادی‌ها که آنها را برای استفاده در درمان مناسب نموده است شامل:

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان‌سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندي
--	--	---

(۱) عملکرد اتصال اختصاصی آن‌ها به آنتی ژن‌ها؛

(۲) عملکرد اجرایی آنها پس از اتصال به آنتی ژن که سبب برانگیختن سلسله پاسخ‌های ایمنی به آنتی ژن می‌گردد؛

(۳) ظرفیت تنظیم‌کنندگی پاسخ‌های ایمنی در بدن؛

(۴) با متصل کردن بعضی از مواد (که برای سلول‌ها سمی و کشنده هستند) به آنها، می‌توان از آنها به عنوان حامل‌های اختصاصی که این مواد را به جایگاه‌های وجود آنتی ژن (به عنوان مثال در سلول‌های سرطانی) منتقل می‌نمایند، استفاده نمود و سبب مرگ سلول‌های مضر سرطانی گردید.

به طور کلی استراتژی‌هایی که بر اساس آنها آنتی‌بادی تراپی انجام می‌شود، شامل:

(۱) بلاک کردن عملکرد مولکول‌های دخیل در بیماری؛

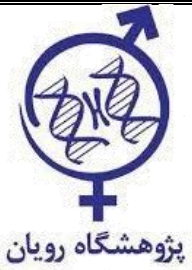
(۲) فعال کردن سیستم ایمنی بر علیه مولکول‌های دخیل در ایجاد بیماری و متمرکز شدن پاسخ‌های ایمنی درست در مکانی که بیماری در آنجا مستقر می‌باشد؛

(۳) استفاده از آنتی‌بادی در ژن تراپی به جهت اصلاح ژن‌هایی که دخیل در ایجاد بیماری می‌باشند؛

(۴) انتقال مواد کشنده و سمی به مکان سلول‌های درگیر در ایجاد بیماری و کشتن آن‌ها؛

(۵) استفاده از آنتی ایدئوتایپ آنتی‌بادی‌ها در واکسیناسیون علیه آنتی ژن‌های ایجاد کننده بیماری.

چندین درمان غیرفعال ایمنی مبتنی بر آنتی بادی‌ها از منابع مختلف، به عنوان درمان اسهال عفونی نوزادی گوساله پیشنهاد و آزمایش شده است. استفاده از آنتی بادی های IgY به عنوان یک رویکرد جذاب و موثر در درمان اسهال و بهبود سیستم ایمنی شناخته شده است. علاوه بر این، آنتی بادی های IgY را می‌توان در سیستم های تولید مقرون به صرفه تحت شرایط کنترل شده تولید کرد.

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	--	---

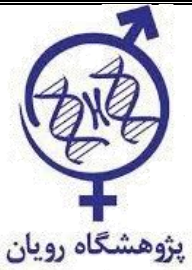
آنتی بادی های تجاری در کنترل بیماری اسهال دام

یکی از روش های کنترل در ابتلاء به بیماری اسهال در دام های تازه متولد شده در دنیا، استفاده از آنتی بادی ها جهت افزایش در سطح ایمنی ذاتی و کنترل جمعیت میکروبی هدف در ابتلاء های پرتکرار می باشد. محصولاتی با غلظت ها و تنوع در نوع آنتی بادهای توسط شرکت های تجاری مختلفی در بازار عرضه شده است. شرکت ImmuCell واقع در آمریکا (با محصول First Defense)، شرکت Adbiotech در کره جنوبی، و شرکت های EW-Nutrition (با محصول Josera (Dia-Stop (با محصول Colostrin) در کشور آلمان در حال تولید محصولات مشابهی هستند.

مطابق اعلام شرکت سازنده محصول Colostrin حاوی آنتی بادی غیر اختصاصی می باشد. این محصول سبب افزایش قدرت سیستم ایمنی گوساله می شود. در برخی موارد حتی مصرف به موقع آغوز نمی تواند پاسخگوی نیاز گوساله باشد زیرا کیفیت آغوز نقش بسیار تاثیرگذاری دارد. کیفیت آغوز به تعداد شیردهی، تغذیه و سطح آنتی بادی موجود در آغوز بستگی دارد. افزودن Colostrin به آغوز سبب افزایش کیفیت آن می گردد و از طرفی با تامین ویتامین ها و عناصر معدنی کمیاب نیاز به این مواد را در روز های اول زندگی تامین می کند. این محصول به طور کلی سبب تقویت سیستم ایمنی، تامین ویتامین ها و عناصر کمیاب و تامین انرژی می گردد. اضافه کردن پروبیوتیک ها در فرمولاسیون این محصول توانسته است سبب افزایش کارآمدی دستگاه گوارش گردد.



بسته بندی محصول Colostrin شرکت Josera

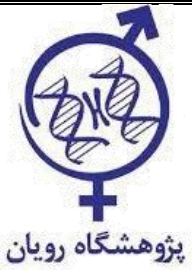
	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	--	---

شرکت ImmuCell واقع در آمریکا محصولات علمی اثبات شده‌ای را توسعه می‌دهد که پتانسیل ژنتیکی دام‌های پر تولید را از طریق پیشگیری از بیماری‌ها به حداکثر می‌رساند و وابستگی به آنتی بیوتیک‌ها را کاهش می‌دهد. این شرکت تنها مجموعه فعال با توانایی در خالص سازی و تعیین کمیت آنتی‌بادی‌های خاص آغوز (E. coli و کرونا ویروس) در مقیاس تجاری است. نمایندگی این شرکت در ایران شرکت پیشگامان سپند گستر می باشد.



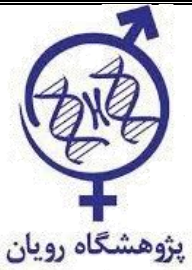
پک بسته بندی محصول فرست دیفنس شرکت ImmuCell

این شرکت مدعی شده است که محصول First Defense اولین روش پیشگیری برای اصلی ترین پاتوژن‌های ایجاد کننده اسهال در گوساله‌های تازه متولد شده است. مدیریت مناسب گاو، گوساله و محیط در جلوگیری از اسهال نقش حیاتی و بسیاری مهمی دارند. گوساله‌های تازه متولد شده ایمنی اولیه خود را از طریق "ایمنی غیرفعال" به دست می‌آورند، که به موجب آن آنتی‌بادی‌ها از مادر به گوساله از طریق کلستروم منتقل می شود. در واقع First Defense ایمنی فوری و هدفمند را به گوساله‌ها به شکل بسیار سریعی می‌دهد که منبع تضمین شده‌ای از ایمنوگلوبولین‌های ویژه و اختصاصی گاوی را زمانی که آنها نیاز دارند برای گوساله‌ها فراهم می کند. در واقع تقلیدی از فرآیندهای طبیعی "ایمنی غیرفعال" را ایجاد می‌کند. استفاده از این محصول در ساعت‌های اول تولد توصیه می‌گردد زیرا جذب آنتی‌بادی‌های کلستروم از دستگاه گوارش به سرعت کاهش می یابد.

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

First Defense حاوی آنتی بادی های خالص سازی شده علیه کورونا ویروس و آنتی بادی های تولید شده ویژه برای آنتی ژن های *E. coli K99+* می باشد. این آنتی بادی ها از کلستروم گاوی با ایمنی بسیار بالا تهیه شده است. این محصول شامل آنتی بادی های موجود در کلستروم است که از اتصالات انتروتوکسیژنیک پیلای های باکتری *E. coli K99+* به سلول های اپیتلیال روده جلوگیری می کند. با مصرف آن به طور واضح و قابل توجهی اسکور مدفوع کاهش می یابد و ایمنی فوری برای گوساله های شیری و گاو تازه متولد شده ایجاد می شود. این محصول تنها محصول مورد تایید USDA و CFIA، مشتق از آغوز، برای محافظت در برابر *E. coli K99+* و ویروس کرونا است. آنتی بادی های اختصاصی در First Defense برای بلاک کردن الصاق *enterotoxigenic E. coli* و برای تداخل با عفونت ویروس سلول های اپیتلیال روده ای به کار می رود که به موجب آن مرگ و میر و بیماری مربوط به اسهال را کاهش می دهد.

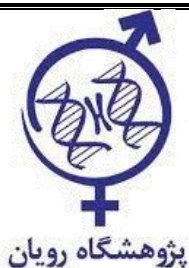
همچنین این شرکت در اطلاعات منتشر شده خود در سایت و کاتالوگ های مرتبط با این محصول اشاره نموده است که First Defense تامین کننده آنتی بادی های ضروری برای گوساله های نوزاد است که توانایی تولید سریع آن را در اوایل تولد نداشته و در نهایت قادر است به طور آبی و سریع ایمنی لازم در دو هفته اول تولد که گوساله به شدت به آن نیاز دارد را تامین نماید. بعد از خوردن کپسول، ابتدا ایمونوگلوبولین های ویژه به دستگاه گوارش رسانده می شود تا فوراً محافظت گوساله در مقابل بیماری ها را ایجاد نماید و همزمان آنتی بادی های موجود در آن، جذب جریان خون می شود. این گردش آنتی بادی ها مشابه مکانیزم طبیعی بدن بوده و مجدداً در ترشح دوباره در زمان لازم سبب استمرار حفاظت گوساله خواهد شد. محصولاتی که دارای تاییدیه وزارت کشاورزی ایالت متحده (USDA) هستند باید ادعای خود را در خصوص اثر گذاری در درمان را اثبات نمایند. این موضوع برخلاف مکمل ها و افزودنی های خوراک است که تنها اجزاء تشکیل دهنده را روی محصول شرح می دهند بدون اینکه هیچ تاییدی از عملکرد محصول داشته باشند. چنانچه محصولی ادعا کند که از بیماری خاصی جلوگیری می کند، کارخانه موظف است تا تمام آزمایشات کامل را برای نشان دادن محافظت یا درمان بیماری انجام دهد. این آزمایشات به طور مستقیم تحت نظارت و بازنگری کارشناسان USDA قرار گرفته و چنانچه استانداردهای آماری بالا را به دست آورد مورد تایید USDA قرار خواهد

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

گرفت. این محصول بر روی ۴۷۳ راس گوساله در دو شرایط آزمایشگاهی و مزرعه تست شد. نتایج حاکی از آن است که ۹۰ درصد از گوساله‌هایی که با این محصول تغذیه شده اند بدون دریافت درمان دیگر بهبود پیدا کرده‌اند. میزان بیماری از روی اسکور مدفع اندازه گیری می شود. با مصرف First Defense به طور واضح و قابل توجهی اسکور مدفع کاهش می یابد.

در واقع فرست دیفنس تامین کننده‌ی آنتی‌بادی‌های ضروری برای گوساله‌های نوزاد است که توانایی تولید سریع آن را در اوایل تولد نداشته و قادر است به طور آبی و سریع ایمنی لازم در دو هفته اول تولد که گوساله به شدت به آن نیاز دارد را تامین نماید. فرست دیفنس بعد از خوردن، ابتدا ایمونوگلوبولین‌های ویژه را به دستگاه گوارش رسانده تا فوراً سبب محافظت گوساله در مقابل بیماری‌ها باشد و همزمان آنتی‌بادی‌های موجود در آن، جذب جریان خون می‌شود. این گردش آنتی‌بادی‌ها مشابه مکانیزم طبیعی بدن بوده و مجدداً در ترشح دوباره در زمان لازم سبب استمرار حفاظت گوساله خواهد شد. محصول مشابه مکمل کلستروم، کپسول فرست دیفنس و egg tek می باشد که وارداتی بوده و در حال حاضر دارای قیمت بالایی می باشد. لذا محصول موضوع طرح با در نظر گرفتن قیمت (حدود یک سوم اقلام وارداتی)، مزایا و کاربرد آن می تواند جایگزین مناسبی برای این محصول باشد.





**مطالعات امکان سنجی احداث واحد
تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای
محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)**

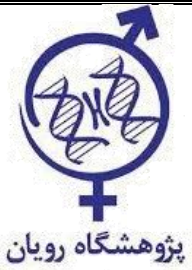
مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندي



محصول CALF AID

محصول CALF AID تولید شده در شرکت Mervue در کشور ایرلند بصورت یک مکمل است، که به صورت خوراکی برای گوساله‌های تازه متولد شده و گوساله‌های تحت تنش‌های دستگاه گوارش تجویز می گردد. این محصول حاوی مواد مغذی لازم جهت حمایت از رشد و نمو، ارتقا سیستم ایمنی و حمایت از مقاومت در برابر بیماری‌های عفونی در گوساله هاست. این محصول با ترکیبات منحصر به فرد باعث تحریک اشتها و مصرف آغوز همچنین با تقویت سیستم ایمنی بدن و تامین مواد مغذی ضروری و ترویج رشد فلور مفید روده باعث پیشگیری و کاهش دوره های اسهال و بیماری های عفونی در گوساله ها می گردد این محصول هم اکنون با اخذ مجوز از سازمان دامپزشکی و با قیمت ۲,۷۰۰,۰۰۰ ریال در داروخانه ها در حال فروش است.

	مطالعات امکان‌سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۳-۱- معرفی ماهیت محصول

محصول مورد بررسی در طرح حاضر در دسته محصولات دامپزشکی و مورد استفاده در دام‌های سنگین و سبک تازه متولد شده می‌باشد.

۴-۱- معرفی کاربردهای محصول

قابل ذکر است که مصرف کلستروم بعد از تولد راهی موثر در تقویت سیستم ایمنی و جلوگیری از بروز بیماری‌هاست. با مصرف کلستروم باکیفیت، گوساله در مدت زمان کوتاه، ترکیبی غنی از ایمنوگلوبولین‌ها و فاکتورهای مرتبط با ایمنی از جمله لاکتوفرین، لیزوزیم، فاکتورهای رشد، هورمون‌ها، مواد معدنی ویتامین‌ها را جهت تقویت سیستم ایمنی در برابر عوامل بیماری‌زا دریافت می‌کند. لذا جلوگیری از بیماری دام‌های تازه متولد شده موجب جلوگیری از هزینه‌های اضافی جهت مشکلات سلامتی دام و عملکرد ضعیف آنها و هم‌چنین حفظ یا افزایش تعداد گله، بهبود ژنتیکی گله و بهبود درآمدهای اقتصادی می‌گردد. اما به علت عدم دسترسی دائم به کلستروم با کیفیت و هم‌چنین لزوم داشتن آنتی‌بادیهای اختصاصی در ساختار کلستروم، واحد‌های دامپروری جهت افزایش سطح کیفیت آغوز دام‌های تولیدی خود به دنبال مکمل‌های ویژه آغوز و مکمل‌های اختصاصی آنتی‌بادی هستند. در این پروژه، مجربان طرح با تولید غلظت قابل توجهی از آنتی‌بادی‌های اختصاصی مکمل خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس) را تهیه و تولید خواهند نمود.

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندي
--	--	---

۵-۱- بررسی الگوی مصرف جامعه

۵-۱-۲- جایگاه محصول

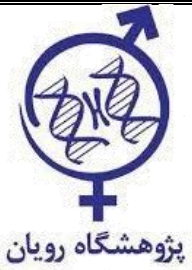
با توجه به نقش کلیدی مکمل‌ها بخصوص مکمل کلستروم در بدو تولد دام با توجه به مزایا و فواید آن، در جهت توسعه، رشد سلامت و تغذیه صحیح دام و هم چنین با توجه به اینکه تغذیه انسان از دام صورت می‌گیرد و جهت حفظ سلامت دام و انسان، استفاده از محصول موضوع طرح در تلیسه‌ها لازم و ضروری است.

۵-۱-۳- بررسی محصول جایگزین و شرح تفاوت آنها

اسهال مشکلی بسیار رایج در گوساله‌های نوزاد است. در مقایسه با آنتی بیوتیک‌ها، مدیریت دقیق کلستروم می‌تواند شیوه‌ای بهتر برای سلامت گوساله باشد. ۵۶ درصد از مشکلات سلامت گوساله در روزهای اول زندگی مرتبط با اسهال است و به همین دلیل مهم‌ترین مشکل برای سلامت گوساله‌های نوزاد به حساب می‌آید. ۵۲٫۲ درصد مرگ و میر گوساله‌های از شیر گرفته نشده به دلیل اسهال است. یکی از مهم‌ترین علت‌های رشد ضعیف، افزایش کار مورد نیاز و افزایش هزینه‌ها نیز همین مسئله اسهال گوساله‌ها می‌باشد.

بروز آلودگی‌های به وجود آمده از اسهال گاو اغلب سریع به وجود می‌آید و طبیعت آن، چند عاملی است. پاتوژن‌های روده بزرگ که به عنوان عامل اسهال گوساله شناخته می‌شوند ویروس‌ها (مثلاً روتاویروس گاوی، کورونا ویروس گاوی، ویروس اسهال ویروسی گاو و انگل‌های میکروسکوپی (کریپتوزپوریدیوم پاروم)، هستند. باکتری‌هایی مثل سالمونلا انتریکا، اشریشیا کلی، کلستریدیوم، پرفرنزنز، اغلب عوامل ثانویه آلودگی می‌باشند.

از آنجایی که آنتی بیوتیک‌ها در برابر ویروس‌ها و انگل‌ها کارآمد نیستند، استفاده از آن‌ها به عنوان ضد اسهال کارایی بسیار پایینی دارد. استفاده از آنتی بیوتیک در این موارد معایب متعددی دارد. اول از همه، گوساله‌هایی که با

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

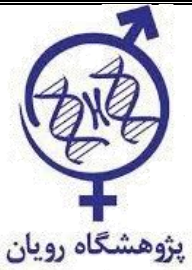
آنتی بیوتیک درمان می شوند، در اولین شیردهی ۴۹۲ کیلوگرم کمتر از بقیه گوساله ها شیر تولید می کنند. دوم این که آنتی بیوتیک ها، باکتری های مفید روده را از بین می برند و در نتیجه سلامت روده را به خطر می اندازند. سوم این که، از بین بردن باکتری گرم منفی موجب آزاد شدن اندوتوکسین ها و لیپوپلی ساکاریدهای دیواره های سلولی می شود.

به گفته جیمز کالور از دانشگاه دیویس، تاثیر کلی اندوتوکسین ها به خوبی ثبت شده است و شامل بیماری ها، دیسترس تنفسی، بالا رفتن گذرای دمای بدن و در پی آن کم شدن دمای بدن، کاهش سیستمیک فشار خون، افزایش ضربان قلب و در پی آن کاهش برون ده قلبی، اسهال، تغییر تعداد سلول های خون و تغییرات در سیستم انعقاد خون می شود. چهارم این که استفاده از آنتی بیوتیک با مقاومت آنتی بیوتیکی نیز همراه است.

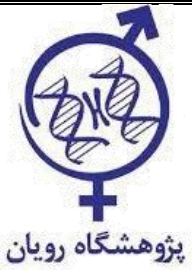
لیکن کلستروم گاوی نوعی کیت بقا است که از مادر به گوساله نوزاد انتقال پیدا می کند تا او را از چالش های ابتدای زندگی محافظت کند. کلستروم، موارد لازم برای سلامت و رشد سازنده را همراه دارد و حاوی مواد مغذی به میزان بالا است. انتقال ایمنی غیرفعال از گوساله تا زمانی محافظت می کند که سیستم شناسایی و منهدم سازی پاتوژن فعال شود.

اثبات شده است که کلستروم به دست آمده از گاوهای واکسینه، قابلیت کشتن باکتری ها و ویروس های مهاجم را دارد، بازسازی بافت را تحریک می کند (به خصوص پوشش روده)، با انواع آلرژن ها مبارزه می کند و ارگانیزم های تولید کننده توکسین را خنثی می نماید. همچنین نشان داده شده است که کلستروم در مبارزه با اسهال سخت نیز بسیار قوی عمل می کند.

با توجه به مطالب ارائه شده قابل نتیجه گیری است که همه دام ها از جمله گوساله هایی که در فارم متولد می شوند شانس برای حفظ یا افزایش تعداد گله، بهبود ژنتیکی گله و بهبود درآمدهای اقتصادی به حساب می آیند. حمله پاتوژن ها می تواند هزینه های اضافی به بار آورد و مشکلات سلامتی و عملکرد ضعیف را به دنبال داشته باشد. تقویت کلستروم با استفاده از مکمل های حاوی آنتی بادی باعث تقویت عملکرد عمومی و اختصاصی کلستروم در مواجهه با

	مطالعات امکان‌سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

عوامل پرتکرار ایجاد کننده بیماری شده و می تواند به گاوداران این امکان را دهد تا به درآمدی موفق دست یابند.
بنابراین توصیه می گردد، برای مبارزه با اسهال در گوساله ها از کلستروم های غنی شده با مکمل های کلستروم به جای آنتی بیوتیک ها استفاده شود.

	مطالعات امکان‌سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

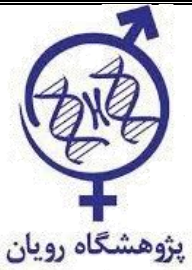
۶-۱- تحلیل ضرورت اجرای پروژه

با توجه به مشکلاتی که کشور ایران در زمینه تحریم ها با آنها مواجه است، تولید داخلی در راستای تولید داروها و مکمل های غذایی همواره مورد توجه بوده است، چرا که مکمل های غذایی مورد مصرف دام و انسان به علت تحریم ها با قیمت بالایی که وارد کشور می شوند، قابل استفاده برای افراد یا دام ها نیستند. با توجه به این مطلب ضروری است که این داروها در داخل کشور تولید و تجاری سازی شده، وارد بازار گردیده و با قیمت مناسب مورد مصرف متقاضیان قرار بگیرد.

۱-۶-۱- تحلیل ملاحظات اجرایی پروژه

۱-۶-۱-۱- ملاحظات اقتصادی

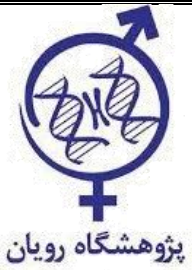
بدون شک مهمترین دلایل توجیه یک طرح بر ملاحظات اقتصادی آن استوار است. کسب سهمی مناسب از بازار داخلی یا خارجی، گسترش بازار هدف و برخورداری از شاخص های مناسب مالی- اقتصادی (NPV، IRR و غیره)، از مهمترین اهداف یک بنگاه اقتصادی برای ایجاد یا توسعه یک طرح تولیدی می باشد و قطعاً با تغییرات احتمالی، تجزیه و تحلیل های اقتصادی صاحبان سرمایه دستخوش تغییرات خواهند شد. در کنار این موارد، از جنبه های ملی و کلان اقتصادی نیز باید ویژگی های طرح مورد بررسی قرار گیرد. لذا در این بخش به اختصار برجسته ترین ویژگی های اقتصادی طرح معرفی می شود.

	مطالعات امکان‌سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی‌بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندي

۲-۱-۶-۱- ملاحظات اجتماعی و فرهنگی

مشکل بیکاری در جامعه بر هیچ کس پوشیده نیست و اغلب این بیکاری نیز به علت سوق سرمایه به سمت مشاغل غیر تولیدی می‌باشد. بطور کلی هر صنعت تولیدی که در کشور ایجاد شود به دو صورت مستقیم و غیر مستقیم افرادی را جذب کار می‌کند. افرادی که مستقیماً در خود واحد مشغول بکار می‌شوند که بر اساس نوع صنعت تعداد پرسنل آن مشخص می‌شود و دسته دوم که اهمیت شاید بیشتری داشته باشند صنایع یا مشاغل پایین‌دست و بالادست محصول تولیدی می‌باشد که با ایجاد یک واحد صنعتی شکل می‌گیرد. بعضاً یک واحد تولیدی/خدماتی تعداد محدودی پرسنل جذب می‌کند ولی بصورت غیرمستقیم افراد زیادی در پایین‌دست و بالادست این صنعت مشغول به کار می‌شوند.

این واحد خدماتی فرصت اشتغال دائم برای حداقل ۳۰ نفر بصورت مستقیم را فراهم می‌آورد. با توجه به بحران بیکاری نسل جوان جامعه، ایجاد فرصت‌های اشتغال دائم هر چند به تعداد کم می‌تواند حتی به تنهایی یک طرح را توجیه نماید. چرا که اشتغال دائم می‌تواند به طرز چشمگیری باعث رشد شاخص‌های اجتماعی و فرهنگی جامعه شود.

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۷-۱- مکان یابی پروژه

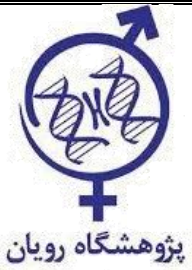
محل اجرای طرح حاضر استان البرز، کیلومتر ۱۰ آزادراه کرج - قزوین، کردان، شهرک صنعتی دارویی برکت یا واقع در زمینی در منطقه هلجرد می باشد.

استان البرز

استان البرز سی و یکمین استان ایران است. استان البرز از شمال با استان مازندران، از غرب با استان قزوین، از شرق با استان تهران و از جنوب با استان مرکزی همجوار است.

در جلسه هیئت دولت در تاریخ ۱۲ بهمن ۱۳۸۸ لایحه تأسیس این استان تصویب و به مجلس شورای اسلامی فرستاده شد. در ادامه با تصویب نمایندگان مجلس شورای اسلامی در تاریخ ۱۳۸۹/۰۴/۰۷ استان البرز به طور رسمی شکل گرفت و کرج به عنوان مرکز استان در نظر گرفته شد. این شهر در ۲۰ کیلومتری غرب تهران و در حوزه استحفاظی استان تهران قرار گرفته بود که با جمعیتی بالغ بر ۱,۶۱۴,۶۲۶ نفر، چهارمین شهر پرجمعیت ایران پس از شهرهای تهران، مشهد و اصفهان محسوب می گردد.



	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

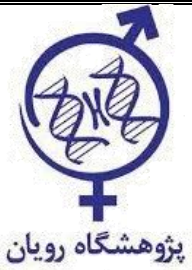
شهرک صنعتی دارویی برکت

شهرک صنعتی دارویی برکت به عنوان بزرگترین شهرک تخصصی دارویی منطقه با هدف ایجاد بستری مناسب برای توسعه صنعت دارویی جمهوری اسلامی ایران بنا گذاشته شده است. گسترش و متمرکزسازی مراکز تحقیق و توسعه از یک سو و کارخانه های دارویی پیشرفته از سوی دیگر از مهم ترین اهداف این شهرک است. تامین نیازهای دارویی کشور، جذب دانش، سرمایه و مشارکت بین المللی و توسعه صادرات دارویی نیز از دیگر اهداف این شهرک به شمار می روند.

شهرک صنعتی دارویی برکت با مساحتی حدود ۲۰۰ هکتار و اختصاص ۱۰۰ هکتار به قطعات صنعتی و دانش بنیان با ۲۰۵ قطعه در شمال آزادراه کرج - قزوین احداث شده است. این شهرک موقعیت و فاصله ای مناسب از شهر تهران، کرج و فرودگاه های امام خمینی (ره) و مهرآباد دارد.

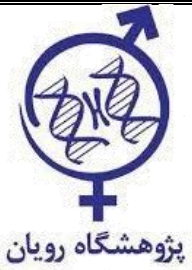
آینده نگاری در خصوص فناوری های داروسازی در جهان، تحلیل ده سال گذشته و پیش بینی ده سال آینده ی وضعیت مصرف دارو در ایران، مطالعه ی گسترده براساس ویژگی های جمعیتی در کشور، به ویژه وضعیت سالمندی در ده سال آینده و بیماری های موجود به خصوص در عرصه ی بیماری های غیرواگیردار و بیماری های نوپدید و بازپدید که به پیامد آن سالانه بیش از هزاران میلیارد ریال صرف واردات دارو به کشور می شود، گروه توسعه ی اقتصادی تدبیر را بر آن داشت تا از طریق گروه دارویی برکت مبادرت به احداث شهرک صنعتی دارویی برکت نماید.

این پروژه در ۶۰ کیلومتری تهران و در منطقه ی گردان استان البرز به انجام رسیده و در سال ۱۳۹۷ افتتاح شده است.

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

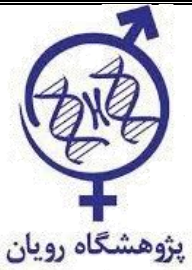
منطقه بندی شهرک صنعتی دارویی برکت

- انکوباتورها، آزمایشگاه های مرکزی و دفتر مدیریت تحقیق و توسعه به مساحت ۴,۶ هکتار
- شرکت های دانش بنیان به مساحت ۱۱,۴ هکتار
- شرکت های سل تراپی به مساحت ۵,۲ هکتار
- شرکت های بیوتکنولوژی به مساحت ۵ هکتار
- پالایشگاه خون و فرآورده های پلاسمایی به مساحت ۴,۵ هکتار
- کارخانه های واکسن سازی به مساحت ۳,۹ هکتار
- شرکت های با فناوری های پیشرفته حوزه سلامت به مساحت ۱۳,۵ هکتار
- شرکت های دارویی مختلف به مساحت ۳۹,۸ هکتار
- انبارهای مرکزی و بارانداز به مساحت ۸ هکتار
- پردیس مرکزی شامل دفتر مرکزی، دفاتر تجاری، دانشکده داروسازی و خدمات رفاهی

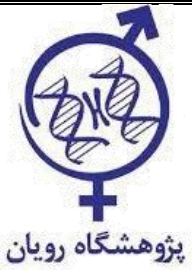
	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

زیرساخت‌های اجرا شده در شهرک صنعتی دارویی برکت

- تامین آب
- انشعاب از مخزن آب کمالشهر به ظرفیت ۱۷ لیتر بر ثانیه
- انشعاب از خط لوله طالقان به ظرفیت ۳۲ لیتر بر ثانیه
- برداشت از چاه به ظرفیت ۳۰ لیتر بر ثانیه
- تامین برق
- پست برق اختصاصی ۶۳,۲۰ کیلوولت به ظرفیت اولیه ۴۰ مگاوات و امکان افزایش توان پست تا ۱۲۰ مگاوات
- خط انتقال برق به طول ۱۰ کیلومتر از خط انتقال کن - زیاران و ۱۳,۵ کیلومتر از پست هشتگرد
- تامین گاز
- احداث ۳ ایستگاه تقلیل فشار به ظرفیت ۳۰ هزار مترمکعب
- اجرای شبکه لوله پلی اتیلن گازی به طول ۱۴۵۰۰ متر
- اجرای شبکه لوله فلزی به طول ۲۱۰۰ متر
- شبکه مخابرات
- اجرای سرویس‌های FTTH (SIP Phone – SIP Trunk – MPLS):
- اجرای کابل فیبرنوری به طول ۱۸۵۰۰ متر

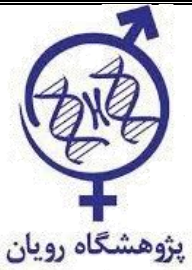
	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

- احداث مرکز مخابرات با ۱۰ هزار خط تلفن
- تامین پهنای باند به ظرفیت ۵۰۰۰ مگابیت بر ثانیه
- شبکه معابر
- اجرای شبکه خیابان‌های داخلی به طول ۱۵۳۰۰ متر
- اجرای معابر پیاده‌رو به مساحت ۴۲۰۰۰ مترمربع
- دریاچه مصنوعی
- احداث دریاچه مصنوعی به ظرفیت ۲۵۰۰۰ مترمکعب
- باغ‌موزه گیاهان دارویی
- طرح تقدیر شده در بخش ساختمان‌های عمومی از نهمین جایزه معماری داخلی ایران
- فضای سبز
- اجرای فضای سبز در رفوژ خیابان‌ها به مساحت ۲۹,۵ هکتار
- اجرای جنگل‌کاری در شمال سایت به مساحت ۹,۲ هکتار
- اجرای فضای سبز قطعات به مساحت ۱۵,۴ هکتار
- شبکه هدایت آب‌های سطحی
- اجرای شبکه هدایت آب‌های سطحی به طول ۶۶۵۰ متر

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

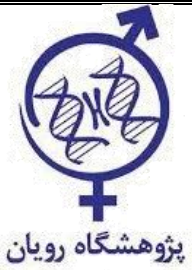
ویژگی های اصلی شهرک

- وسعتی بالغ بر ۲۰۰ هکتار
- استقرار فرآیند زنجیره ی تولید دارو از ایده، توسعه یا تولید دانش و فناوری تا محصول به ویژه در عرصه های نوین و پیشرفته ی دارویی و سلامت
- رعایت آخرین استانداردهای دارویی جهان، صنعت سبز و مصرف بهینه ی انرژی
- سامان دهی مجموعه ی کامل تحقیق و توسعه، شامل ده ها انکوباتور، آزمایشگاه پیشرفته ی دارویی و مرکز قراردادهای تحقیقاتی
- شرکت های دانش بنیان و کارآفرینی برای فناوران و مخترعان یا مبتکران عرصه ی صنعت دارویی
- تأسیس ده ها کارخانه ی تولید داروها و فرآورده های سلامت با تمرکز بر فناوری های نوین، به ویژه زیست فناوریانه
- ایجاد مرکز تحقیقات سلولی با مشارکت پژوهشگاه رویان به منظور سلول درمانی و ورود در عرصه ی فناوری های پیشرفته ی سلولی
- استقرار دانشگاه بین المللی تحصیلات تکمیلی در عرصه های دارویی با هدف تأمین نیروهای مورد نیاز متخصص و پژوهشگران و فناوران عرصه ی سلامت

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

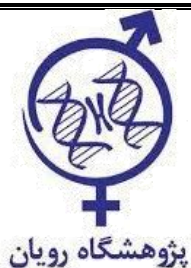
مهم ترین دستاوردها و پیامدهای اجتماعی احداث شهرک

- امکان تولید داروهای تخصصی و فوق تخصصی برای بیماران خاص با بهره گیری از فناوری های پیشرفته
- کاهش قابل توجه هزینه های تمام شده ی دارو برای جامعه و به ویژه بیماران خاص
- امکان صادرات دارو، کاهش وابستگی به واردات و خروج ارز
- امکان اشتغال بیش از ۷۰۰۰ نیرو و به ویژه به کارگیری بیش از ۲۰۰۰ نیروی متخصص و محقق ایرانی و خارجی و صدها نفر از نخبگان صاحب دانش فنی و فناوری تولید
- تبدیل ایران به عنوان یکی از قطب های اصلی دارویی در منطقه ی خاورمیانه و منطقه ی منا
- توانمندسازی ملی در تحقیق و توسعه و توسعه ی دانش و فناوری در عرصه ی دارویی
- ایجاد زمینه و بستر مناسب برای جذب پژوهشگران، اندیشمندان و متخصصان عرصه ی دارویی کشور
- زمینه ی جذب متخصصان و پژوهشگران صنعت دارویی از داخل و خارج از کشور
- امکان جذب سرمایه های داخلی و خارجی
- حضور ایران در فهرست کشورهای با توان تولید داروهای بیوتکنولوژیک و همچنین فناوری های نوین داروسازی

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

اولین شهرک صنعتی تخصصی دارویی به منظور متمرکزسازی مراکز تحقیق و توسعه و کارخانه‌های دارویی پیشرفته در منطقه‌ی کردان کرج تأسیس و به بهره‌برداری رسیده است. ایجاد شهرک صنعتی دارویی و فراهم آوردن زمینه‌های احداث کارخانه‌های دارویی متعدد، برخوردار از سبد کالاهای متنوع منطبق بر استانداردهای ملی و جهانی علاوه بر تأمین نیازهای داخلی، زمینه‌ساز ورود ایران به بازارهای جهانی و سبب افتخار ملی است. مشارکت و جلب همکاری شرکت‌های تخصصی خارجی در ایجاد و بهره‌برداری از شهرک تخصصی دارویی و کارخانه‌های فعال در آن، انتقال دانش فنی و تأمین تجهیزات مورد نیاز را امکان‌پذیر ساخته است. شهرک صنعتی تخصصی دارویی علاوه بر موارد مذکور، سبب ایجاد فرصت‌های شغلی برای جذب نوآوران، متخصصان و استعدادهای برتر داخلی و خارجی شده و از فرار مغزها جلوگیری می‌نماید. زیرسازی و محوطه‌سازی این شهرک بر مبنای آخرین استانداردهای شهرک‌های صنعتی دارویی دنیا و بر پایه‌ی بررسی‌های انجام‌گرفته در شهرک‌های مشابه در دنیا، اجرا شده است. بنابراین ساختمان‌ها براساس آخرین نکات و استانداردهای صنعت سبز و مصرف بهینه‌ی انرژی تأسیس شده و خواهند شد که در کنار تلفیق معماری ایرانی جلوه‌ی دل‌نواز و پرافتخاری را در منطقه ایجاد کرده است.

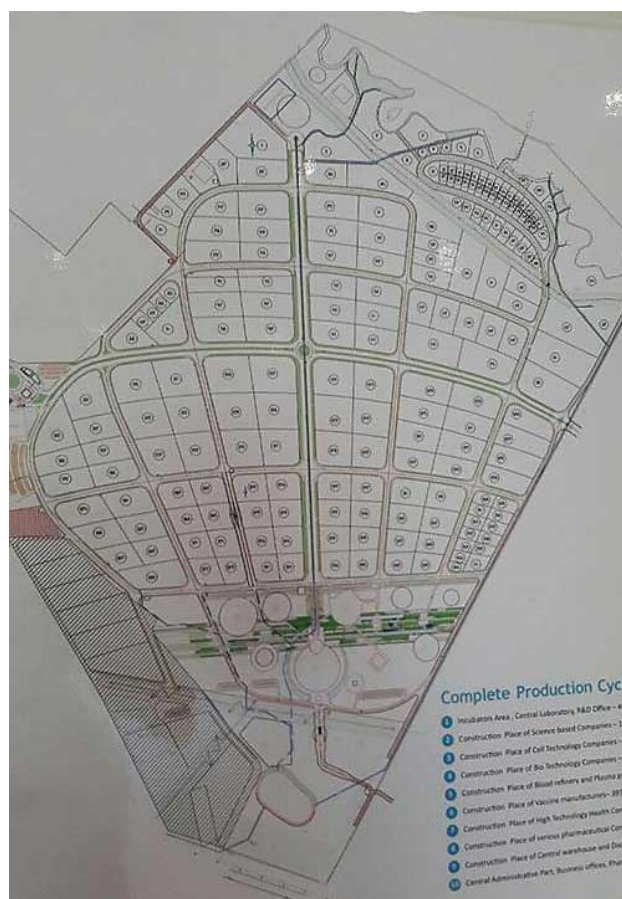
در این شهرک، مجموعه‌ی کامل کلاستر تحقیق و توسعه اعم از آزمایشگاه پیشرفته‌ی تحقیق و توسعه و انکوباتورها و محل استقرار مؤسسه‌های دانش‌بنیان، تا مرحله‌ی تولید فرآورده‌های های‌تک برنامه‌ریزی شده است. جلب مشارکت سرمایه‌گذاران داخلی و خارجی، انتقال دانش به کشور، افزایش ظرفیت‌های ملی تولید دانش و تجاری‌سازی آن از اولویت‌های این مجموعه به شمار می‌رود.



مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى



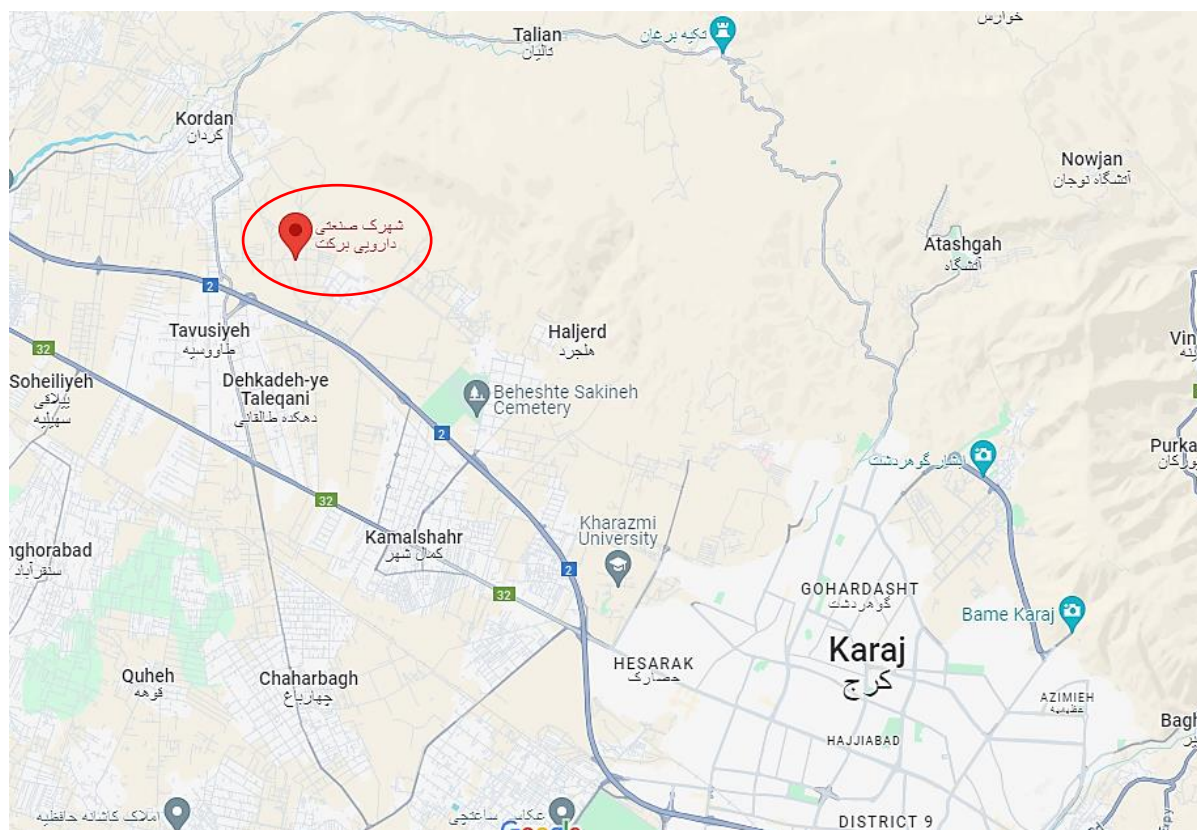


پژوهشگاه رویان

**مطالعات امکان سنجی احداث واحد
تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای
محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)**

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى





پژوهشگاه رویان

**مطالعات امکان سنجی احداث واحد
تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای
محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)**

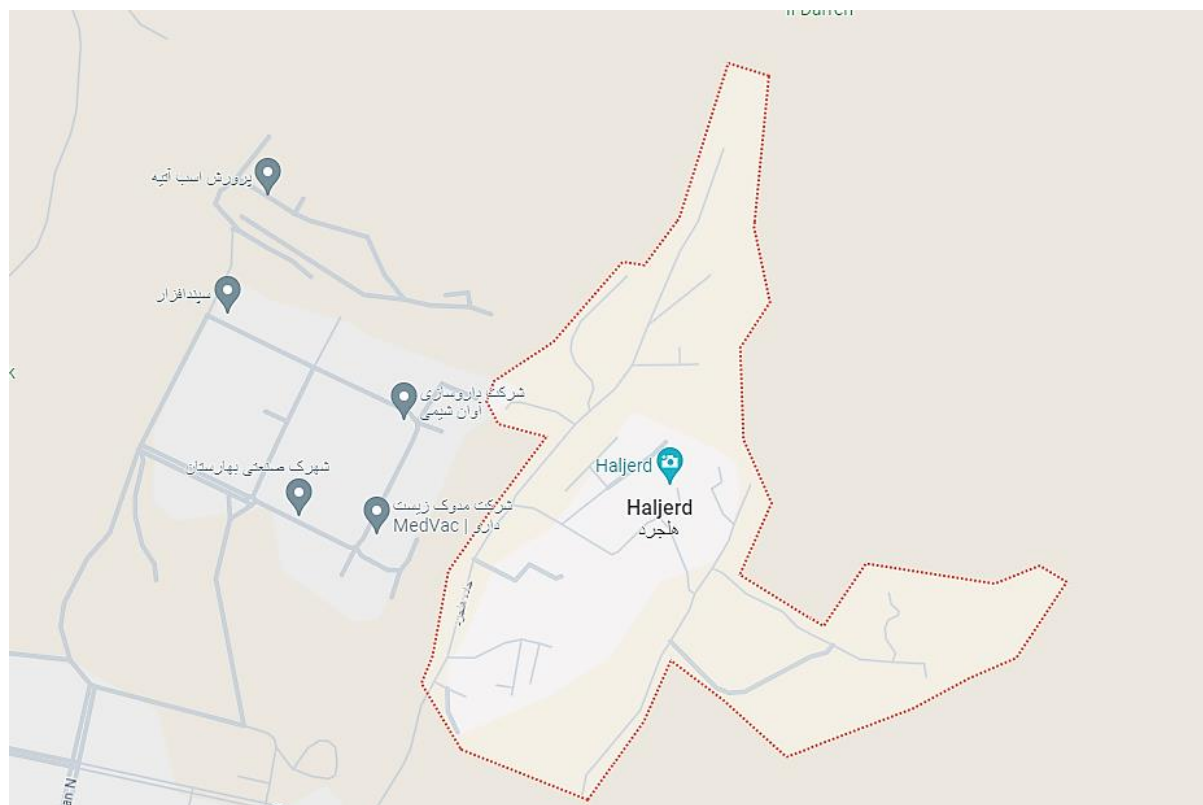
مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

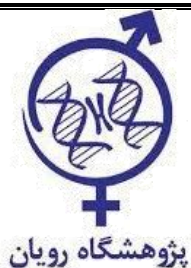
مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى



 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	---	---

منطقه هلجرد



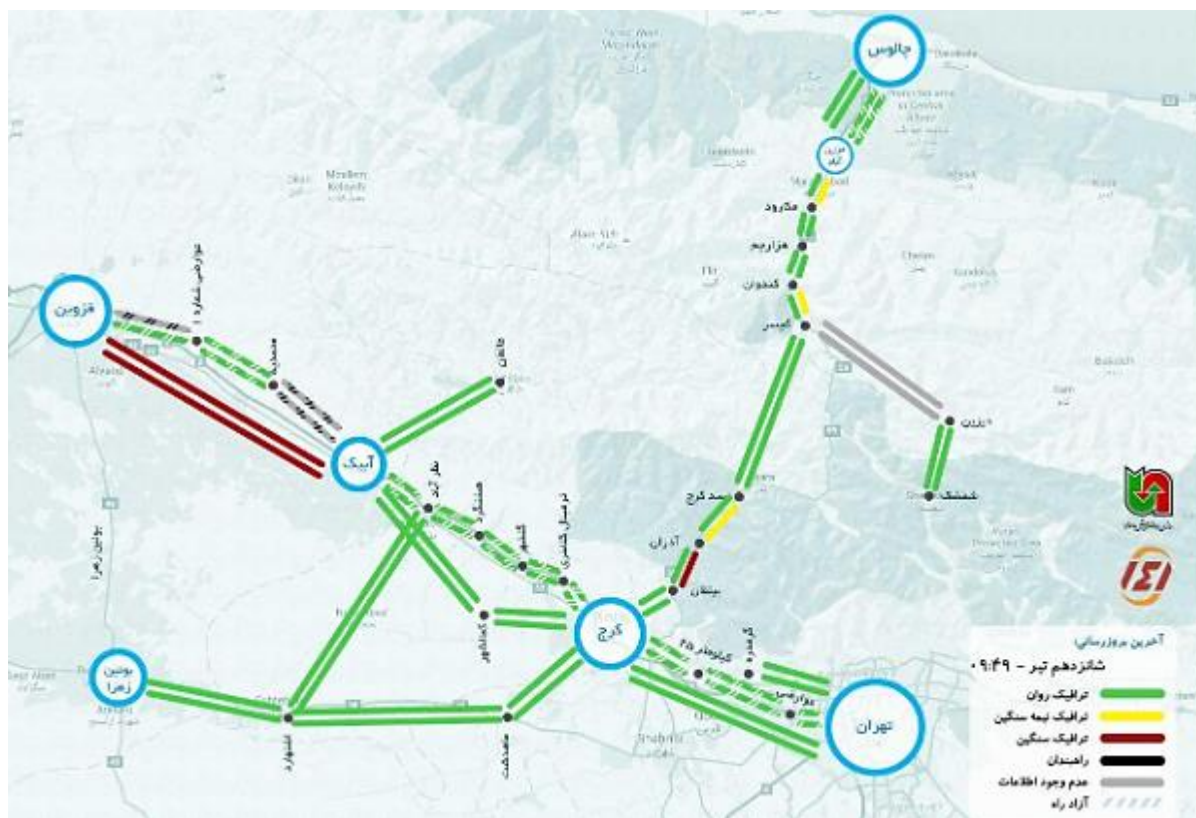


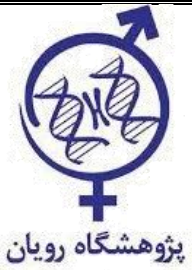
مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

نقشه راه های ارتباطی استان



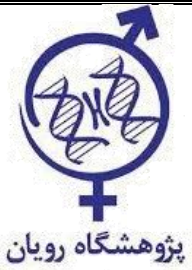
	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۸-۱- تحلیل جایگاه صنعت مورد بررسی در سیاست های کلان اقتصادی کشور

اجرای این طرح به دلیل اهمیت استراتژیکی بخش دامداری و دامپروری در داخل کشور، تاکید مقام معظم رهبری برای توجه، تولید داخلی و توسعه در این حوزه و اشتغالزایی برای جامعه مفید می باشد. علاوه بر تأثیر در متغیرهای کلان اقتصادی، از جمله موارد بسیار با اهمیت در سطح کلان، تضمین سلامت دام و کمک به تغذیه سالم دام از طریق مصرف محصول موضوع طرح می باشد. لذا با توجه به مطالبی که تاکنون برای این خدمت بیان شد بازار خوبی را برای آینده این طرح، می توان پیش بینی کرد.

۸-۱-۱- سازگاری اجرای پروژه با مجموع استراتژی های کلان اقتصادی

طرح تولید ماده موثره خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس) دامی در پی سیاست های دولتی مبنی بر تولید داخلی، جلوگیری از واردات و ارزبری از کشور با تمرکز بر کیفیت جهت ارائه این خدمات از اولویت های سرمایه گذاری کشور به حساب می آید و در راستای تحقق اهداف و سیاست های کلان کشور در بخش دامداری و دامپروری در داخل کشور می باشد.

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان‌سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندي

۲-۸-۱- بررسی سیاست‌های حمایتی دولت از طرح مورد بررسی

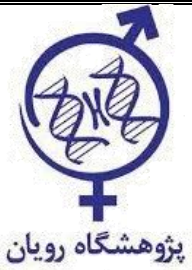
طرح حاضر یک طرح تولیدی است و لذا به نظر نمی‌رسد که حمایت‌های خاص دولتی برای آن وجود داشته باشد. البته اجرای طرح در نقاط محروم می‌تواند مشمول برخی حمایت‌های عمومی دولتی شود که این حمایت‌ها ارتباطی به نوع طرح نداشته بلکه تابع محل انتخاب شده برای اجرای آن خواهد بود. لذا بدینوسیله می‌توان گفت از لحاظ این معیار محدودیت یا تسهیلات خاص دولتی برای طرح وجود ندارد اما با توجه به ضرورت این طرح یکی از طرح‌های اولویت‌دار در سطح ملی می‌باشد.

در خصوص حمایت‌های مالی از طرح‌های خدماتی در کشورمان باید گفت که این حمایت‌ها صرفاً در سطح ارائه تسهیلات بانکی می‌باشد که این تسهیلات حالت عمومی داشته و برای کلیه طرح‌هایی که از توجیه اقتصادی مناسب برخوردار هستند، پرداخت می‌شود از این‌رو می‌توان گفت که حمایت مالی خاصی وجود ندارد.

از آنجائیکه بخش دامداری و دامپروری و ارتقاء سلامت در این بخش، از اهمیت استراتژیکی برخوردار می‌باشد؛ لذا در تدوین و ابلاغ سیاست‌های کلی دولت به این بخش توجه شایانی شده است.

۳-۸-۱- مزیت‌های نسبی سرمایه‌گذاری در صنعت مورد بررسی

از جمله مزایای سرمایه‌گذاری در بخش مورد بررسی، شرایط مطلوب احداث آن و ارائه خدمات درمانی، افزایش کیفیت خدمات، کم کردن هزینه‌های ناشی از بیماری دام و عملکرد ضعیف آن، تحقق سیاست‌های دولت مبنی بر توجه به بخش دامداری و دامپروری و توسعه آن با تولید داخلی اقلام وارداتی، در سطح دام‌های تازه متولد شده می‌باشد.

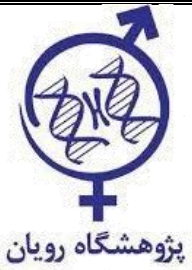
	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

تحليل بازار

اركان مطالعه بازار شامل عرضه و تقاضا مى باشد. در اين بخش به بررسى توليد داخلى و واردات به عنوان بخش عرضه و ميزان نياز به محصول در دام هاى تازه متولد شده در بخش دامدارى و دامپرورى با بر اساس اطلاعات سالنامه آمارى ۱۴۰۰ و ميزان مصرف مورد نياز هر دام به عنوان بخش تقاضا پرداخته شده است و در نهايت در يك جمع بندى وضعيت بازار تحليل مى گردد.

کلستروم که در زبان محاوره از آن به عنوان اولین شیر یاد می شود، غنی از آنتی بادی است، این ماده از اهمیت حیاتی برای دام تازه متولد شده برخوردار است. در دام ها، جنین ها (تقریباً) هیچ آنتی بادی را از طریق جفت در رحم مادر دریافت نمی کنند. این بدان معناست که برای دستیابی به ایمنی، این دام کاملاً وابسته به آنتی بادی هایی هست که از اولین شیر در چند ساعت اول پس از تولد به دست می آورد. بیشترین جذب آنتی بادی از کلستروم در ۶ تا ۸ ساعت اول پس از تولد است.

این محصول را به دام تازه متولد شده به عنوان جایگزینی کلستروم در صورتی که این ماده توسط مادبان تامین نشود، یا در مقادیر کافی نباشد، داده می شود که میزان ایمونوگلوبولین ها در خون افزایش می دهد. این امر باعث می شود که دام تازه متولد شده در هفته اول زندگی، هنگامی که در حال تقویت سیستم ایمنی خود است، بهتر بتواند در برابر عوامل بیماری زا مانند ویروس ها و باکتری ها مبارزه کند.

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۹-۱- وضعیت عرضه

۹-۱-۱- عرضه داخلی

۹-۱-۱-۱- کد آیسیک مرتبط با محصول

بر اساس اطلاعات موجود در سامانه بهین یاب (وزارت صنعت، معدن و تجارت) نزدیک ترین کد آیسیک مرتبط با محصول موضوع طرح (مکمل کلستروم پلاس) به شرح ذیل می باشد:

جدول ۱- کد آیسیک مرتبط با محصول موضوع طرح

ردیف	نام محصول	کد آیسیک
۱	ساخت ماده موثره دارویی با منشأ طبیعی	۲۴۲۳۳۱۳۶۳۱

کد محصول	عنوان
0	ISICS
24	ساخت مواد و محصولات شیمیایی
2423	ساخت محصولات دارویی، مواد شیمیایی مورد استفاده در داروسازی و محصولات گیاهی دارویی
2423313631	ساخت ماده موثره دارویی با منشأ طبیعی

۹-۱-۲- تولید داخلی بر اساس کد آیسیک مذکور

بر اساس اطلاعات وزارت صنعت، معدن و تجارت تا پایان مهر ماه ۱۴۰۱، هیچ واحد فعالی برای کد آیسیک مذکور وجود ندارد. بنابراین هیچ واحد فعالی تاکنون محصول موضوع طرح را به تولید داخلی نرسانده و محصول این شرکت، دارای رقیب داخلی نمی باشد.

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	--	---

۱-۹-۳- پیش بینی تولید داخلی بر اساس کد آیسیک مذکور

بر اساس اطلاعات وزارت صنعت، معدن و تجارت تا پایان خرداد ماه ۱۴۰۱، هیچ واحد در دست احداثی برای کد آیسیک مذکور وجود ندارد. بنابراین میزان تولید این محصول قابل پیش بینی نمی باشد.

۲-۹-۱- واردات

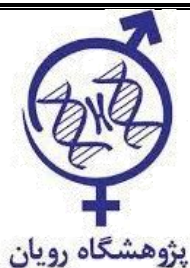
۲-۹-۱-۱- کد تعرفه مرتبط با محصول

بر اساس اطلاعات موجود در گمرک جمهوری اسلامی ایران، کد تعرفه مرتبط با محصول موضوع طرح به شرح جدول ذیل می باشد:

جدول ۲- کد تعرفه مرتبط با محصول موضوع طرح

ردیف	کد تعرفه	عنوان	تعرفه ورودی	واحد
۱	۲۱۰۶۹۰۸۰	مکمل غذایی	۱۰	KG

شماره تعرفه	نام کالا	حقوق ورودی	SUQ	ملاحظات
۰	قسمت چهارم: محصولات صنایع غذایی؛ نوشابه ها؛ آبگون های الکلی و سرکه ها؛ توتون و تنباکو و بدل ساخته آنها			
۲۱	فصل بیست و یکم: فرآورده های خوراکی گوناگون			
۲۱۰۶	فرآورده های غذایی که درجای دیگری گفته نشده و مشمول شماره دیگر تعرفه نشده باشد.			
۲۱۰۶۹۰	- سایر:			
۲۱۰۶۹۰۸۰	-- مکمل غذایی	۱۰	KG	



مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

۲-۹-۱-۲- میزان واردات بر اساس کد تعرفه مذکور

بر اساس اطلاعات موجود در آمارنامه های رسمی واردات طی سالهای اخیر، میزان واردات کد تعرفه مذکور به شرح

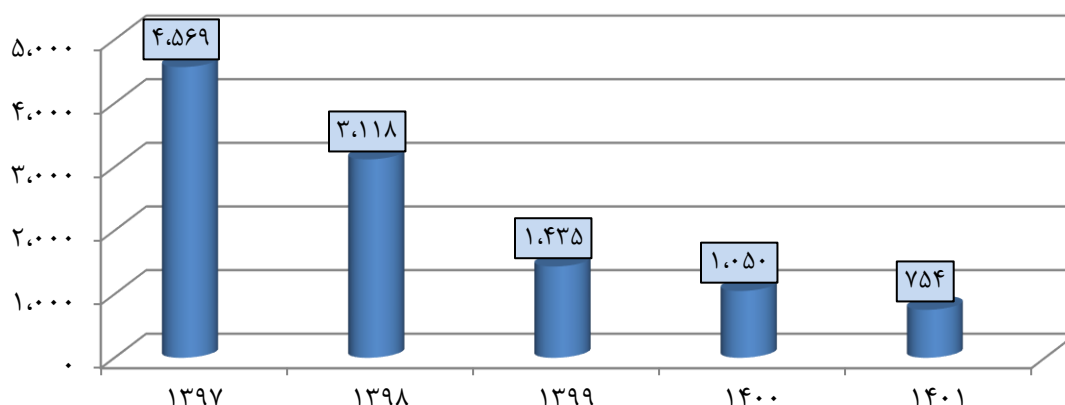
جدول ذیل می باشد:

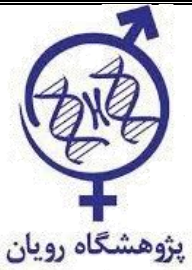
جدول ۳- واردات طی سالهای ۱۳۹۷ الی ۱۴۰۱ (تن)

سال	وزن (تن)	ارزش ریالی	ارزش دلاری	نرخ رشد وزنی واردات
۱۳۹۷	۴,۵۶۹	۴,۸۶۷,۳۱۳,۵۰۱,۸۵۵	۱۱۸,۲۴۹,۹۶۱	۰٪
۱۳۹۸	۳,۱۱۸	۳,۴۹۷,۳۲۹,۳۴۴,۵۵۹	۸۳,۲۹۲,۸۱۰	-۳۲٪
۱۳۹۹	۱,۴۳۵	۱,۷۸۲,۸۷۶,۶۰۶,۱۳۵	۴۲,۴۴۹,۴۴۳	-۵۴٪
۱۴۰۰	۱,۰۵۰	۱,۲۹۳,۴۴۸,۷۰۲,۶۴۵	۳۰,۷۹۶,۳۹۸	-۲۷٪
۱۴۰۱	۷۵۴	۳,۷۸۵,۷۴۹,۰۵۴,۸۱۸	۱۸,۲۴۸,۸۶۲	-۲۸٪
مجموع	۱۰,۹۲۶	۱۵,۲۲۶,۷۱۷,۲۱۰,۰۱۲	۲۹۳,۰۳۷,۴۷۴	-۲۸٪

مأخذ: گمرک جمهوری اسلامی ایران

واردات طی سالهای ۱۳۹۷ الی ۱۴۰۱ (تن)



 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندي
--	--	---

۲-۹-۱-۳- پیش بینی میزان واردات بر اساس کد تعرفه مذکور

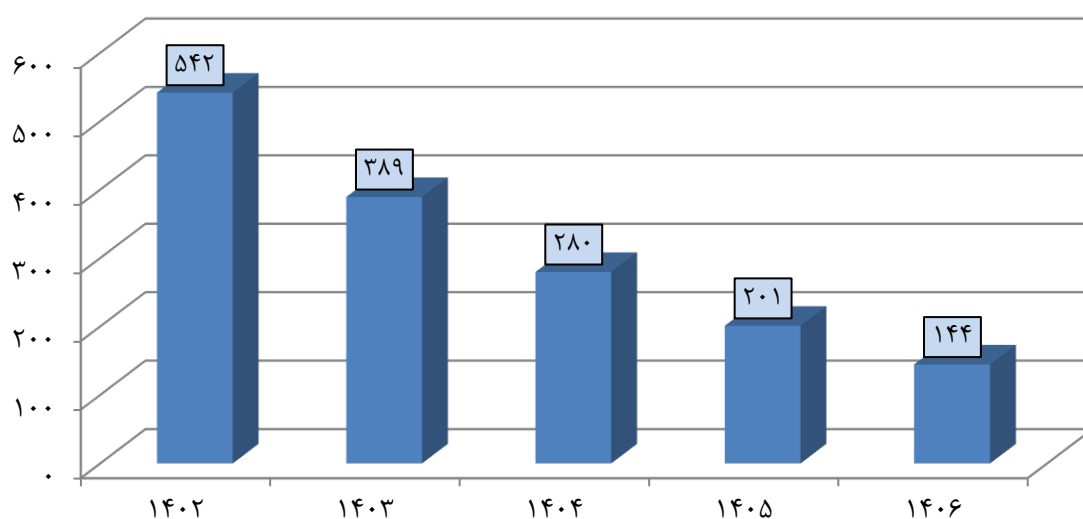
پیش بینی میزان واردات کد تعرفه مذکور، به دو روش رگرسیون گیری و بر اساس میانگین نرخ رشد ارقام طی سالهای

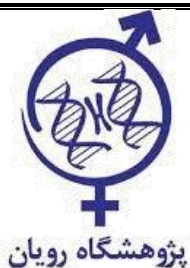
اخیر، به شرح جدول ذیل می باشد:

جدول ۴- پیش بینی واردات طی پنج سال آینده

سال	نرخ رشد بر اساس رگرسیون گیری	پیش بینی واردات بر اساس رگرسیون گیری - تن	نرخ رشد بر اساس میانگین رشد در سالهای قبل	پیش بینی واردات بر اساس میانگین رشد در سالهای قبل - تن
۱۴۰۱	۰٪	۲۴۶	-۲۸٪	۷۵۴
۱۴۰۲	-۱۰۰٪	۰	-۲۸٪	۵۴۲
۱۴۰۳	۰٪	۰	-۲۸٪	۳۸۹
۱۴۰۴	۰٪	۰	-۲۸٪	۲۸۰
۱۴۰۵	۰٪	۰	-۲۸٪	۲۰۱
۱۴۰۶	۰٪	۰	-۲۸٪	۱۴۴

پیش بینی واردات بر اساس میانگین رشد در سالهای قبل-تن



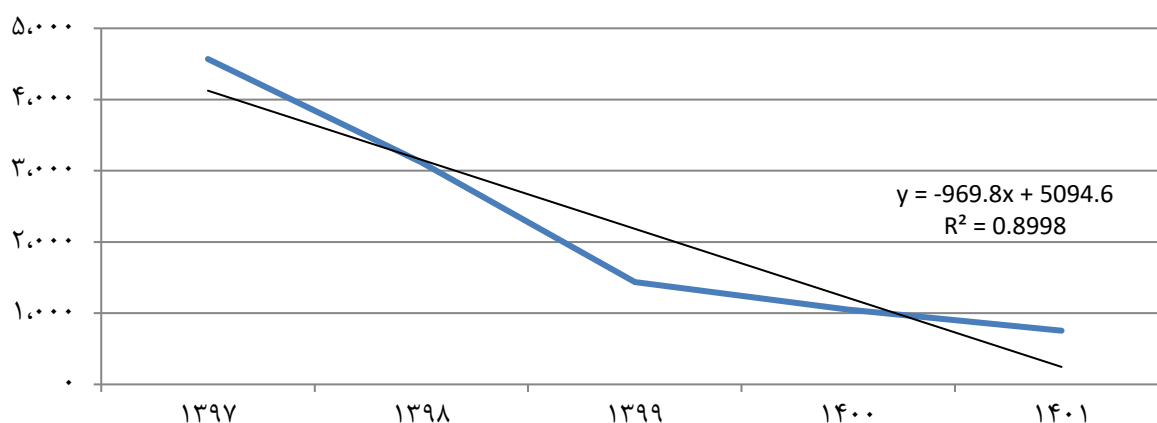


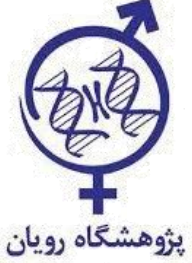
**مطالعات امکان سنجی احداث واحد
تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای
محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)**

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

رگرسیون گیری واردات طی سالهای ۱۳۸۷ الی ۱۳۹۱



	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	---	---

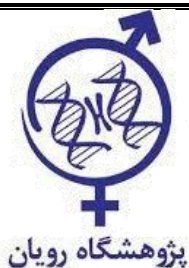
۱۰-۱- وضعیت تقاضا

بر اساس اطلاعات سالنامه آماری سال ۱۴۰۰، تعداد دام به تفکیک نوع دام، به شرح جدول ذیل ارائه شده است.

سالنامه آماری کشور - ۱۴۰۰ _____ ۵- کشاورزی، جنگلداری و شیلات

۱۳-۵- تعداد بهره‌برداری‌های دارای انواع دام و تعداد دام آن‌ها در روز آمارگیری برحسب استان (بهره برداری - راس)

سال و استان		گوسفند و بره		بز و بزغاله		گاو و گوساله	
		تعداد بهره‌برداری	دام	تعداد بهره‌برداری	دام	تعداد بهره‌برداری	دام
.....	۱۳۸۴	۱۲۱۸۷۹۷	۵۳۸۰۰۱۳۶	۱۱۵۶۰۰۹	۳۵۵۳۰۶۴۹	۱۳۲۱۵۳۱	۷۶۰۹۳۵۸
.....	۱۳۸۷	۱۱۰۵۷۲۷	۴۹۹۷۶۱۳۸	۱۰۸۷۹۳۲	۲۲۳۳۳۵۴۷	۱۲۱۰۷۴۱	۷۰۸۸۹۸۴
.....	۱۳۹۰	۱۲۷۷۷۹۸	۵۰۲۱۴۶۱۷	۱۱۲۹۴۲۷	۲۲۰۹۴۲۵۱	۱۰۹۶۳۰۳	۶۰۷۵۷۷۲
.....	۱۳۹۳	۸۷۴۴۳۴	۴۴۷۳۱۷۵۷	۷۱۵۳۰۷	۱۵۹۱۸۲۵۹	۶۵۱۳۳۲	۴۵۷۲۶۸۱
.....	۱۳۹۶	۸۰۱۹۳۵	۴۰۰۲۹۶۸۷	۷۱۲۹۶۲	۱۵۷۱۱۰۸۴	۶۱۹۶۶۷	۴۸۷۹۳۶۳
.....	۱۳۹۹	۸۱۴۹۰۲	۴۶۵۸۷۰۱۰	۶۹۷۹۰۷	۱۶۶۶۳۷۲۱	۵۶۰۸۰۲	۵۳۲۳۹۷۴



مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

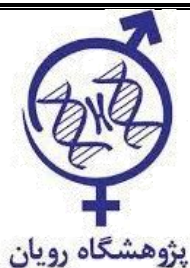
میزان تقاضا برای محصول تولیدی بر اساس تعداد دام به تفکیک نوع دام است که برآورد تقاضا برای سال های آتی بر اساس نرخ رشد در سال های گذشته به شرح جدول زیر در نظر گرفته شده است:

جدول ۵- تعداد دام های سبک و سنگین طی سال های گذشته و پیش بینی سالهای آتی (با نرخ رشد)

سال	گوسفند و بره	بز و بزغاله	گاو و گوساله	مجموع تعداد دام	مجموع دام سبک (تازه متولد شده)	مجموع دام سنگین (تازه متولد شده)
۱۳۸۴	۵۳,۸۰۰,۱۳۶	۲۵,۵۳۰,۶۴۹	۷,۶۰۹,۳۵۸	۸۶,۹۴۰,۱۴۳	۳۹,۶۶۵,۳۹۳	۳,۰۴۳,۷۴۳
۱۳۸۷	۴۹,۹۷۶,۱۳۸	۲۲,۳۳۳,۵۴۷	۷,۰۸۸,۹۸۴	۷۹,۳۹۸,۶۶۹	۳۶,۱۵۴,۸۴۳	۲,۸۳۵,۵۹۴
۱۳۹۰	۵۰,۲۱۴,۶۱۷	۲۲,۰۹۴,۲۵۱	۶,۰۷۵,۷۷۲	۷۸,۳۸۴,۶۴۰	۳۶,۱۵۴,۴۳۴	۲,۴۳۰,۳۰۹
۱۳۹۳	۴۴,۷۳۱,۷۵۷	۱۵,۹۱۸,۲۵۹	۴,۵۷۲,۶۸۱	۶۵,۲۲۲,۶۹۷	۳۰,۳۲۵,۰۰۸	۱,۸۲۹,۰۷۲
۱۳۹۶	۴۰,۰۲۹,۶۸۷	۱۵,۷۱۱,۰۸۴	۴,۸۷۹,۳۶۳	۶۰,۶۲۰,۱۳۴	۲۷,۸۷۰,۳۸۶	۱,۹۵۱,۷۴۵
۱۳۹۹	۴۶,۵۸۷,۰۱۰	۱۶,۶۶۳,۷۲۱	۵,۳۲۳,۹۷۴	۶۸,۵۷۴,۷۰۵	۳۱,۶۲۵,۳۶۶	۲,۱۲۹,۵۹۰
۱۴۰۲	۴۵,۶۸۰,۱۱۶	۱۵,۶۴۲,۰۹۵	۵,۰۵۷,۳۱۸	۶۶,۳۱۱,۴۳۳	۳۰,۶۶۱,۱۰۶	۲,۰۲۲,۹۲۷
۱۴۰۳	۴۵,۳۸۱,۷۵۸	۱۵,۳۱۵,۶۶۷	۴,۹۷۱,۴۳۴	۶۵,۴۴۱,۹۱۵	۳۰,۳۴۸,۷۱۲	۱,۹۸۸,۵۷۴
۱۴۰۴	۴۵,۰۸۵,۳۴۹	۱۴,۹۹۶,۰۵۰	۴,۸۸۷,۰۰۹	۶۴,۹۶۸,۳۴۱	۳۰,۰۴۰,۷۰۰	۱,۹۵۴,۸۰۳
۱۴۰۵	۴۴,۷۹۰,۸۷۶	۱۴,۶۸۳,۱۰۴	۴,۸۰۴,۰۱۷	۶۳,۹۲۹,۶۰۶	۲۹,۷۳۶,۹۹۰	۱,۹۲۱,۶۰۷
۱۴۰۶	۴۴,۴۹۸,۳۲۶	۱۴,۳۷۶,۶۸۸	۴,۷۲۲,۴۳۵	۶۳,۱۸۶,۶۰۸	۲۹,۴۳۷,۵۰۷	۱,۸۸۸,۹۷۴
۱۴۰۷	۴۴,۲۰۷,۶۸۷	۱۴,۰۷۶,۶۶۷	۴,۶۴۲,۲۳۸	۶۲,۴۵۲,۲۴۵	۲۹,۱۴۲,۱۷۷	۱,۸۵۶,۸۹۵
۱۴۰۸	۴۳,۹۱۸,۹۴۶	۱۳,۷۸۲,۹۰۷	۴,۵۶۳,۴۰۳	۶۱,۷۲۶,۴۱۷	۲۸,۸۵۰,۹۲۶	۱,۸۲۵,۳۶۱
۱۴۰۹	۴۳,۶۳۲,۰۹۱	۱۳,۴۹۵,۲۷۷	۴,۴۸۵,۹۰۷	۶۱,۰۰۹,۰۲۴	۲۸,۵۶۳,۶۸۴	۱,۷۹۴,۳۶۳
۱۴۱۰	۴۳,۳۴۷,۱۱۰	۱۳,۲۱۳,۶۴۹	۴,۴۰۹,۷۲۷	۶۰,۲۹۹,۹۷۰	۲۸,۲۸۰,۳۸۰	۱,۷۶۳,۸۹۱
۱۴۱۱	۴۳,۰۶۳,۹۹۰	۱۲,۹۳۷,۸۹۹	۴,۳۳۴,۸۴۱	۵۹,۵۹۹,۱۵۶	۲۸,۰۰۰,۹۴۵	۱,۷۳۳,۹۳۶

❖ تعداد دام های سنگین تازه متولد شده معادل ۴۰ درصد تعداد گاو و گوساله های هر سال است؛

❖ تعداد دام های سبک تازه متولد شده معادل ۵۰ درصد تعداد مجموع دام های سبک هر سال است.



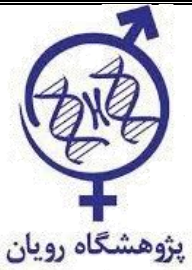
**مطالعات امکان سنجی احداث واحد
تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای
محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)**

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

جدول ۶- برآورد میزان مصرف تولیدات شرکت با در نظر گرفتن سهم از بازار طی سالهای آتی

سال	مجموع دام سبک (تازه متولد شده)	مجموع دام سنگین (تازه متولد شده)	درصد سهم از بازار دام سبک	سهم از بازار دام سبک	درصد سهم از بازار دام سنگین	سهم از بازار دام سنگین	مجموع سهم از بازار
۱۴۰۴	۳۰,۰۴۰,۷۰۰	۱,۹۵۴,۸۰۳	۱,۰۱٪	۳۰۳,۴۱۱	۲,۹٪	۵۶,۶۸۹	۳۶۰,۱۰۰
۱۴۰۵	۲۹,۷۳۶,۹۹۰	۱,۹۲۱,۶۰۷	۱,۵۶٪	۴۶۳,۸۹۷	۴,۰٪	۷۶,۸۶۴	۵۴۰,۷۶۱
۱۴۰۶	۲۹,۴۳۷,۵۰۷	۱,۸۸۸,۹۷۴	۲,۱۲٪	۶۲۴,۰۷۵	۵,۱٪	۹۶,۳۳۸	۷۲۰,۴۱۳
۱۴۰۷	۲۹,۱۴۲,۱۷۷	۱,۸۵۶,۸۹۵	۲,۷۱٪	۷۸۹,۷۵۳	۶,۰٪	۱۱۱,۴۱۴	۹۰۱,۱۶۷
۱۴۰۸	۲۸,۸۵۰,۹۲۶	۱,۸۲۵,۳۶۱	۳,۳۱٪	۹۵۴,۹۶۶	۷,۰٪	۱۲۷,۷۷۵	۱,۰۸۲,۷۴۱
۱۴۰۹	۲۸,۵۶۳,۶۸۴	۱,۷۹۴,۳۶۳	۳,۹۵٪	۱,۱۲۸,۲۶۶	۸,۰٪	۱۴۳,۵۴۹	۱,۲۷۱,۸۱۵
۱۴۱۰	۲۸,۲۸۰,۳۸۰	۱,۷۶۳,۸۹۱	۴,۵۵٪	۱,۲۸۶,۷۵۷	۹,۰٪	۱۵۸,۷۵۰	۱,۴۴۵,۵۰۷
۱۴۱۱	۲۸,۰۰۰,۹۴۵	۱,۷۳۳,۹۳۶	۵,۸۱٪	۱,۶۲۶,۸۵۵	۱۰,۰٪	۱۷۳,۳۹۴	۱,۸۰۰,۲۴۹

	مطالعات امکان‌سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۱۱-۱- جمع‌بندی، نتیجه‌گیری و ارائه پیشنهاد

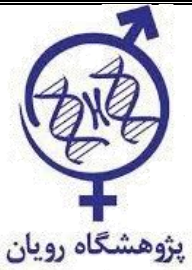
با توجه به افزایش روز افزون جمعیت انسان‌ها و تقاضای محصولات دامی مانند شیر و گوشت، توجه به کیفیت محصولات عرضه شده بسیار قابل توجه و مهم می‌باشد. از این جهت تقویت سیستم ایمنی در دام جهت جلوگیری از انتقال و گسترش انواع عفونت‌ها و مقابله با بیماری‌ها امری ضروری تلقی می‌شود. در صورت ضعف سیستم ایمنی، دام می‌تواند به انواع عفونت‌ها مبتلا شود.

از طرفی با توجه به مشکلاتی که کشور در زمینه تحریم‌ها با آن مواجه است، تلاش کرده‌اند تا از تمام قابلیت‌ها و دانش خود در راستای تولید داروها و مکمل‌های دارویی بهره ببرند که مورد نیاز کشور می‌باشد اما به دلیل تحریم‌ها با قیمت‌های بالایی که وارد می‌شوند، قابل استفاده برای عموم نیستند.

لذا با استفاده از مطالب ارائه شده تولید داخلی و استفاده از مکمل غذایی کلستروم پلاس در انواع دام مانند گاو، گوسفند و بز جهت پیشگیری از بیماری‌ها، تقویت و بهبود فعالیت سیستم ایمنی ضروری و قابل توجه می‌باشد. بنا به مطالعات صورت پذیرفته و بررسی‌های بعمل آمده میزان مصرف در حال حاضر از طرق واردات تأمین می‌گردد، میزان واردات با روند نزولی رو به کاهش بوده و به سمت صفر میل می‌کند. هم‌چنین با توجه به تعداد دام در کشور و نیاز افزایشی انسان به محصولات دامی، تولید داخلی محصول مورد نظر جهت حفظ سلامتی دام و به تبع آن، حفظ سلامتی انسان لازم و ضروری می‌باشد. بنابراین با توجه به جمیع موارد مذکور تولید ماده موثره کلستروم پلاس دامی از توجیه اقتصادی و اجرایی مطلوبی برخوردار می‌باشد.

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	---	---

مطالعات فنی

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندي

فصل سوم: مطالعات فنی

۱-۳- هدف از اجرای طرح

هدف از اجرای این طرح، احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس) است، واقع در شهرک صنعتی دارویی برکت یا زمینی واقع در منطقه هلجرد می باشد.

مزایای اجرای طرح

- اشتغالزایی مستقیم و غیرمستقیم برای افراد جویای کار؛
- ایجاد محصول با کیفیت؛
- افزایش کیفیت کلستروم به جهت تامین آنتی بادی های اختصاصی؛
- کاهش اثرات آنتی بیوتیک در چرخه زندگی؛
- درمان اسهال در دام به ویژه گاو.

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	--	---

۳-۲- ظرفیت

جدول ۷- محصولات تولیدی

۱۰۰٪		درصد ظرفیت عملی				
واحد	ظرفیت عملی		ظرفیت اسمی		نام محصول	ردیف
	مورد نیاز	موجود	مورد نیاز	موجود		
گرم	۱۶۲،۰۰۰،۰۰	۰	۱۶۲،۰۰۰،۰۰۰	۰	ماده موثر کلستروم پلاس	۱
کیلوگرم	۱،۱۴۳،۵۲۹	۰	۱،۱۴۳،۵۲۹	۰	سفیده تخم مرغ	۲
کیلوگرم	۱،۵۵۳،۲۹۴	۰	۱،۵۵۳،۲۹۴	۰	مخلوط تخم مرغ	۳

◀ ۱۰ درصد از کل ماده اولیه ورودی (تخم مرغ) به عنوان ضایعات در حین فرآیند جداسازی و استخراج ماده

موثر در نظر گرفته شده است.

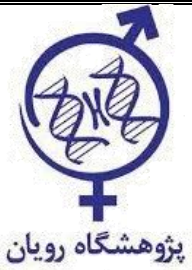
 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

جدول ۸- ظرفیت عملی طرح

ردیف	نام محصولات	واحد	ظرفیت عملی سالانه	برنامه تولید سالانه بر اساس ظرفیت عملی				
				اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم
				۲۰٪	۳۰٪	۴۰٪	۵۰٪	۶۰٪
۱	ماده موثر کلستروم پلاس	سری دوز مصرف دام	۱,۸۰۰,۰۰۰	۳۶۰,۰۰۰	۵۴۰,۰۰۰	۷۲۰,۰۰۰	۹۰۰,۰۰۰	۱,۰۸۰,۰۰۰
۲	سفیده تخم مرغ	کیلوگرم	۱,۱۴۳,۵۲۹	۲۲۸,۷۰۶	۳۴۳,۰۵۹	۴۵۷,۴۱۲	۵۷۱,۷۶۵	۶۸۶,۱۱۸
۳	مخلوط تخم مرغ	کیلوگرم	۱,۵۵۳,۲۹۴	۳۱۰,۶۵۹	۴۶۵,۹۸۸	۶۲۱,۳۱۸	۷۷۶,۶۴۷	۹۳۱,۹۷۶

ردیف	نام محصولات	واحد	ظرفیت عملی سالانه	ششم	هفتم	هشتم	نهم
				۷۰٪	۸۰٪	۹۰٪	۱۰۰٪
				۱,۰۸۷,۳۰۶	۱,۲۴۲,۶۳۵	۱,۳۹۷,۹۶۵	۱,۵۵۳,۲۹۴
۱	ماده موثر کلستروم پلاس	سری دوز مصرف دام	۱,۸۰۰,۰۰۰	۱,۲۶۰,۰۰۰	۱,۴۴۰,۰۰۰	۱,۶۲۰,۰۰۰	۱,۸۰۰,۰۰۰
۲	سفیده تخم مرغ	کیلوگرم	۱,۱۴۳,۵۲۹	۸۰۰,۴۷۱	۹۱۴,۸۲۴	۱,۰۲۹,۱۷۶	۱,۱۴۳,۵۲۹
۳	مخلوط تخم مرغ	کیلوگرم	۱,۵۵۳,۲۹۴	۱,۰۸۷,۳۰۶	۱,۲۴۲,۶۳۵	۱,۳۹۷,۹۶۵	۱,۵۵۳,۲۹۴

❖ به ازای هر دام، ۹۰ گرم از محصول تولیدی در سه دوز ۳۰ گرمی در نظر گرفته شده است.

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۳-۳- مفروضات نوبت کاری

جهت دستیابی به ظرفیت اسمی تولید به ۱ شیفت کاری ۸ ساعته و ۲۸۸ روز کاری در سال نیاز می باشد.

جدول ۹- تعداد نوبت کاری

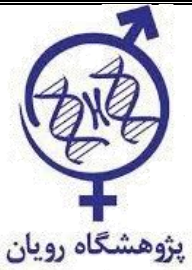
ردیف	شرح	واحد سنجش	نوبت / ساعت / روز
۱	تعداد روز کار در سال	روز کاری	۲۸۸
۲	تعداد شیفت در روز	شیفت	۱
۳	ساعت کار در هر شیفت	ساعت	۸

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	---	---

۳-۴- مواد اولیه، کمکی و بسته بندی

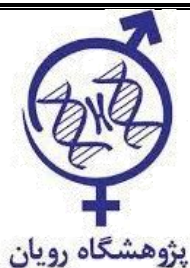
جدول ۱۰- مشخصات و هزینه مواد اولیه، کمکی و بسته بندی جهت محصول

ردیف	شرح	محل تامین	میزان مواد مورد نیاز در ۱۰۰٪ ظرفیت عملی	واحد	بهای واحد	مبلغ کل
					ریال	میلیون ریال
۱	تخم مرغ	داخلی	۵۴,۰۰۰,۰۰۰	عدد	۴۴,۱۱۸	۲,۳۸۲,۳۵۳
۲	هزینه مواد جداسازی	داخلی	۵۴,۰۰۰,۰۰۰	عدد	۵,۰۰۰	۲۷۰,۰۰۰
۳	مواد شستشو و ضد عفونی کننده	داخلی	۶	تن	۸۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۴,۶۰۸
۴	تهیه و آماده سازی آنتی ژن	داخلی	۵۴,۰۰۰,۰۰۰	عدد	۵,۰۰۰	۲۷۰,۰۰۰
۵	افت تولید تخم مرغ	داخلی	۵۴,۰۰۰,۰۰۰	عدد	۵,۰۰۰	۲۷۰,۰۰۰
جمع کل هزینه های خرید مواد اولیه (میلیون ریال)						۳,۱۹۶,۹۶۱

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۳-۵- سوابق اجرای پروژه

پروژه تولید داروهای حاوی آنتی بادی در سال ۱۳۸۸ در پژوهشکده زیست فناوری رویان در اصفهان با ایده تولید آنتی بادی برای درمان بیمارهای خاص گوارشی و پوستی توسط مولفین این پروژه مطرح گردید. در ادامه مقرر گردید تا این پروژه در غالب یک طرح پژوهشی جهت بررسی امکان سنجی تولید این دسته از آنتی بادی ها و میزان اثر بخشی آنتی بادی های اختصاصی در روند کنترل بیماری اسهال در گوساله ها اجراء گردد. این پروژه در سال ۱۳۹۳ با راه اندازی زیر ساخت های لازم در پژوهشگاه رویان اقدامات لازم برای ساخت نسخه آزمایشی آنتی بادی ضد اسهال دامی را اجرایی نمود. در سال ۱۳۹۴ اولین تست فارمی در یک فارم صنعتی با نمونه محصولات مایع بدست آمده اجرایی گردید. نتایج موفقیت آمیز درمان و کنترل بیماری در گوساله های مبتلا، مجریان طرح را برای تست اثر گذاری محصول در فارم های بیشتر ترقیب نمود و این در حالی بود که فروش نمونه های تحقیقاتی این محصول بخشی از هزینه اجرای طرح را نیز تامین می نمود. در سال ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ بیش از ۱۰ دامداری صنعتی بزرگ و متوسط در استان اصفهان خریدار این محصول تحقیقاتی بودند و تا آن زمان مجریان طرح با بررسی روش های استخراج و فرآوری آنتی بادی، فرم پودری محصول مورد نظر را در اختیار دامداران قرار می دادند. در سال ۱۳۹۷ با توجه به درخواست ها برای تهیه این محصول توسط واحد های دامپروری تصمیم برای توسعه زیر ساخت های تولید و تحقیقات بر روی محصول مورد نظر گرفته شد. طرح تولید دارو در مانگر گاما در سال ۱۳۹۷ بعنوان ۱۰ طرح فناوران ملی موفق در کشور شناخته شد و در سال ۱۳۹۸ محصول این طرح بعنوان یک دستاورد ملی فناورانه در سالگرد جهاد دانشگاهی رونمایی گردید. در همان سال و با توجه به نتایج بدست آمده در فارم های صنعتی پرورش گاو شیری و همچنین لزوم ارائه این محصول به واحد های پرورش دام های سبک اقدامات برای معرفی طرح توسعه این محصول در غالب یک خمیر خوراکی در سرنگ های ۵۰ تا ۱۰۰ میلی لیتری مطرح گردید و این طرح با حمایت معاونت پژوهشی پژوهشگاه رویان و تامین مالی از دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی جهاد دانشگاهی اجراء گردید.



مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

۳-۶- فرآیند تولید

▼ Egg

▼ Cleaning and Sorting Machine

▼ Broken Egg

- Egg Mix liquid

▼ Health Egg

▼ Egg Breaking Machine

- Egg Sell

▼ Egg Yolk

- Filter and Centrifuge

- Pasteurization

▼ Extractor

- Mix liquid

- Biomaterial

- Evaporator

- Dense Biomaterial

- Spray Dryer

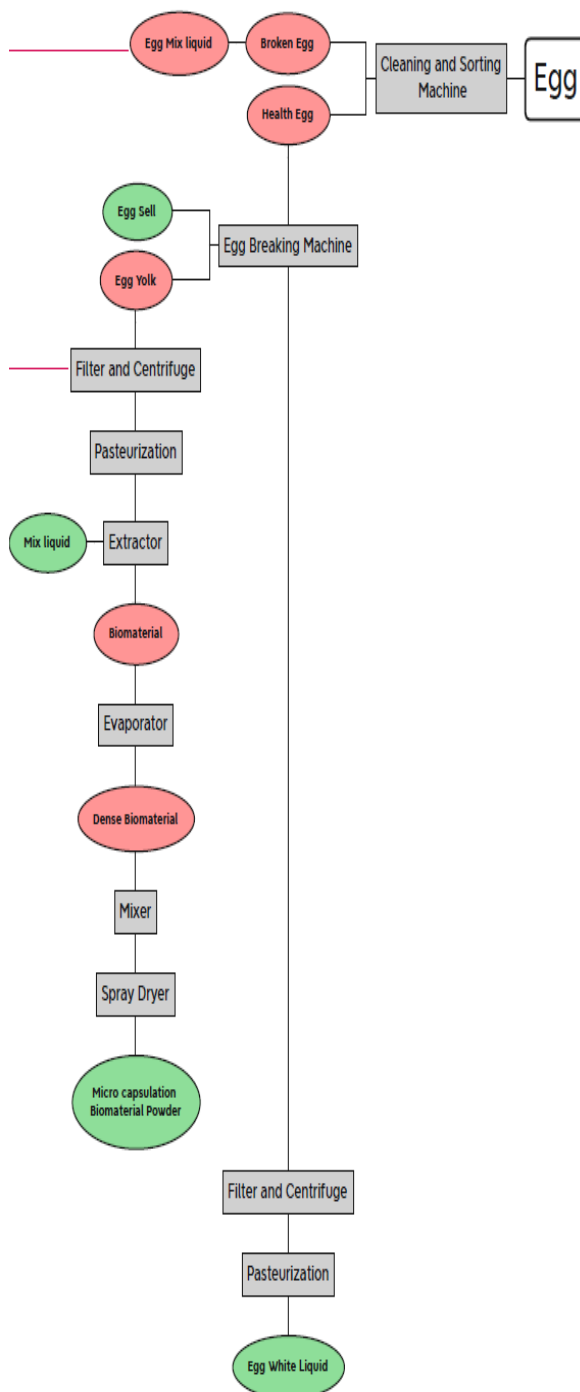
- Micro capsulation Biomaterial Powder

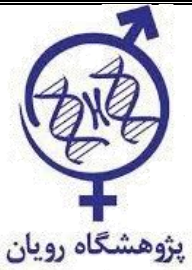
- Mixer

- Filter and Centrifuge

- Pasteurization

- Egg White Liquid



	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده مؤثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۳-۷- کنترل کیفیت

بررسی ایستگاه‌ها و شیوه های کنترل کیفیت

کنترل کیفیت محصول یک امر بسیار مهم در تولید می باشد. کیفیت بالای تولید، تضمین ایمنی و افزایش طول عمر مفید را به همراه دارد. لذا توجه به این نکته موجب افزایش کیفی محصول و به تبع آن افزایش جذب بازار می باشد. رشد و تکامل صنایع در جهان تا حدود زیادی مرهون بین واحدهای صنعتی می باشد. در این راستا هر واحد صنعتی سعی دارد با افزایش کیفیت محصولات خود سهم بیشتری از بازار را در اختیار بگیرد. این روند به مرور باعث افزایش کیفیت و رشد جوامع شده است. کنترل کیفیت جهت تعیین صحت عمل برای دستیابی به محصولی با مشخصات تعریف شده است، این عمل باعث می شود تا ضمن جلوگیری از تولید محصولات معیوب از هدر رفتن سرمایه جلوگیری شده و قیمت تمام شده محصول نیز کمتر شود.

هدف از کنترل کیفیت:

مهمترین هدف کنترل کیفیت عبارت است از نظارت دقیق بر تمام پدیده های مؤثر در تولید، به نحوی که محصول حاصل در تمام شرایط و تحت تأثیر متغیرهای گوناگون همواره دارای ویژگیهای ثابت و یکنواختی باشد.

بطور کلی اهداف کنترل کیفیت شامل موارد ذیل می باشد:

الف- حفظ معیارهای تعریف شده؛

ب- تشخیص و بهبود انحراف های تولید؛

ج- تشخیص و بهبود محصولات خارج از معیار؛

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان‌سنجی احداث واحد تولید ماده مؤثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	--	---

د- ارزیابی کارایی افراد و واحدها.

در این فرآیند، بازرسی به عنوان یکی از اجزای جدایی ناپذیر کنترل کیفیت محسوب شده و بطور کلی دارای مراحل زیر می باشد:

۱- در مرحله تحویل مواد اولیه؛

۲- در مرحله فرآیند؛

۳- قبل از آغاز عملیات پر هزینه؛

۴- قبل از آغاز عملیات غیر قابل برگشت؛

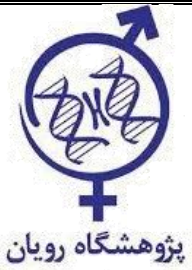
۵- پیش از آغاز عملیاتی که سبب پوشیده شدن عیوب و نواقص گردد؛

۶- در مرحله پایانی کار.

طراحی ایستگاه‌های کنترل کیفیت

موظفین کنترل کیفیت

کنترل کیفیت در واحدهای تولیدی نمی تواند وظیفه یک فرد یا حتی یک واحد سازمانی مستقل بنام واحد کنترل کیفی باشد، بلکه برای حصول آن همکاری تمام واحدها و کارکنان در رده های مختلف ضروری است، زیرا هر یک به نوبه خود می توانند نقش مؤثری در بهبود کیفیت ایفا نمایند، حتی رده های شغلی غیر تخصصی رشته مربوطه مانند کارکنان اداری نیز در این امر مؤثر می باشند.

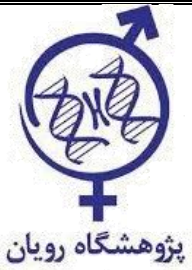
	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندي

کارکنان قسمت بازاریابی و فروش قادر به جمع آوری نظریات مشتریان و کسب خواسته های آنان هستند و در واقع رابط بین مصرف کنندگان و واحد تولیدی می باشند، کارکنان این واحد با انجام آزمونهای بازاریابی، مراجعه مستقیم به مصرف کنندگان و خرده فروشها می توانند اطلاعات با ارزشی را کسب نمایند و از طرف دیگر می توانند روش استفاده صحیح تر از فرآورده را به مشتریان عمده و جزء بیاموزند و شرایطی را فراهم سازند که مصرف کننده از محصول رضایت بیشتری داشته باشد.

کارکنان مهندسی تولید که در واقع مترجمان خواسته های مصرف کننده با توجه به امکانات واحد تولیدی هستند، برای انجام این کار لازم است ویژگیهای مورد نظر قانون گذار، مصرف کننده و تولید کننده را ترسیم و راهها و خطوط صحیح برای رسیدن به آنها را هموار نمایند.

مأمورین خرید مواد اولیه و خدمات، با گزینش صحیح مواد اولیه بر اساس ویژگیهای مورد نظر مهندسين تولید و انجام بازرسی های لازم و آزمونهای ضروری و بکار بردن روشهای صحیح جابجایی مواد اولیه و نگهداری آنها در شرایط مساعد، می توانند موجب دسترسی واحدهای تولیدی به مواد اولیه مناسب و مورد نیاز خود باشند.

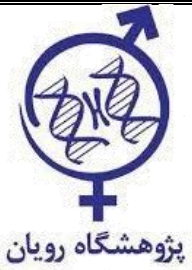
بالاخره سایر کارکنان، هر یک با بکار بستن دستور العملهای تعیین شده و رعایت موازین فنی می توانند موجبات افزایش بهره وری و بهبود کیفیت را فراهم سازند و این امر در صورتی تحقق خواهد یافت که رقابت سالم و روابط دوستانه ای بین تمام آنان برقرار باشد و همگی مشتاقانه برای ارتقاء سطح کیفیت همکاری نمایند.

	مطالعات امکان‌سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۳-۸- الزامات زیست محیطی

امروزه محیط زیست ما در کره خاکی بیش از پیش مورد تهدید قرار گرفته است و آب، خاک، هوا و موجودات زنده بیش از هر زمانی در معرض نابودی قرار دارند.

توسعه از یک سو با صنعت، تکنولوژی و از سوئی دیگر با تخریب آلودگی های محیط زیست ارتباطی ارگانیک دارد. امروزه دیگر حتی از دیدگاه دوستداران و متخصصین محیط زیست نمی توان متوقع بود که همراه با توسعه صنعتی که از ملزومات پیشرفت و رونق اقتصادی بشر است محیط زیست دست نخورده و بکر باقی بماند زیرا که رشد شدید جمعیت نیازها و ملزوماتی را خواستار است که از طریق اینگونه فعالیتها پاسخگو می باشد. مدیریت محیط زیست امر محالی نیست لیکن تقلیل آلودگی ها و کاهش اثرات تخریبی آن در حدی معقول و در روند توسعه پایدار همراه با استفاده از تکنولوژی های متعادل و منطبق با وضعیت فیزیکی جامعه، همراه برای حفظ و تضمین سلامت، رشد و بقای حال و آینده موجودات زنده و بستر حیاتشان مد نظر بوده است. این امر مهم از طرق مختلف مدیریت صحیح، آموزش و تحقیقات محیط زیست، اعمال ارزیابی زیست محیطی (E.I.A) قبل و بعد از اجرای هر گونه پروژه عمرانی (بوژه صنعتی و معدنی)، تصویب لوایح و قوانین لازم جهت پیشگیری و بالاخره کاربرد وسایل مورد لزوم و نظارت و پایش بموقع و صحیح، ممکن می گردد. چنانچه همزمان با صنعتی شدن یک جامعه به امر مهمی چون محیط زیست توجه نشود، نه تنها توسعه اقتصادی حاصل نخواهد آمد، بلکه گرفتاری های زیادی به بار می آید که گاهی منافع حاصله از یک فعالیت صنعتی برای جامعه را در دراز مدت کلاً در راه جبران خسارت وارده از آن صرف خواهد نمود. در حالی که در بسیاری از موارد با کاربرد تکنولوژی هم از محیط زیست محافظت می گردد و هم با استفاده از پسماندهای باقیمانده از یک فعالیت صنعتی دیگر، نه تنها از به هدر رفتن منابع طبیعی و انسانی تا حدود زیادی جلوگیری می شود بلکه با حفظ منابع تجدید ناپذیر یک کشور به همراه حفاظت محیط زیست به بودجه اقتصادی جامعه نیز کمک شایانی خواهد شد. بدون شک، توسعه و تحولات صنعتی امکانات رفاهی بسیاری را در اختیار جوامع انسانی قرار داده است. لیکن مشکلات زیست محیطی متفاوتی را نیز به موازات آن ممکن است برای جامعه فراهم آورد. این مشکلات

	مطالعات امکان‌سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قائدی
--	--	---

گاهی ناشی از خود تکنولوژی نبوده، بلکه به دنبال عدم توجه به نتایج جانبی و کاربرد نادرست تکنولوژی و بالاخره عدم توجه به مقررات و ضوابط حاکم ایجاد می‌شود. در کل هر واحد صنعتی را می‌توان از سه دیدگاه زیست محیطی مورد بررسی و ارزیابی قرار داد.

❖ ۱۵ درصد از محل اجرای طرح به فضای سبز اختصاص داده شده است.

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	--	---

۳-۹- پیش بینی تولید

جدول ۱۱- پیش بینی برنامه تولید طرح

ردیف	نام محصولات	واحد	ظرفیت عملی سالانه	برنامه تولید سالانه بر اساس ظرفیت عملی				
				اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم
				۲۰٪	۳۰٪	۴۰٪	۵۰٪	۶۰٪
۱	ماده موثر کلستروم پلاس	سری دوز مصرف دام	۱,۸۰۰,۰۰۰	۳۶۰,۰۰۰	۵۴۰,۰۰۰	۷۲۰,۰۰۰	۹۰۰,۰۰۰	۱,۰۸۰,۰۰۰
۲	سفیده تخم مرغ	کیلوگرم	۱,۱۴۳,۵۲۹	۲۲۸,۷۰۶	۳۴۳,۰۵۹	۴۵۷,۴۱۲	۵۷۱,۷۶۵	۶۸۶,۱۱۸
۳	مخلوط تخم مرغ	کیلوگرم	۱,۵۵۳,۲۹۴	۳۱۰,۶۵۹	۴۶۵,۹۸۸	۶۲۱,۳۱۸	۷۷۶,۶۴۷	۹۳۱,۹۷۶

ردیف	نام محصولات	واحد	ظرفیت عملی سالانه	برنامه تولید سالانه بر اساس ظرفیت عملی			
				ششم	هفتم	هشتم	نهم
				۷۰٪	۸۰٪	۹۰٪	۱۰۰٪
۱	ماده موثر کلستروم پلاس	سری دوز مصرف دام	۱,۸۰۰,۰۰۰	۱,۲۶۰,۰۰۰	۱,۴۴۰,۰۰۰	۱,۶۲۰,۰۰۰	۱,۸۰۰,۰۰۰
۲	سفیده تخم مرغ	کیلوگرم	۱,۱۴۳,۵۲۹	۸۰۰,۴۷۱	۹۱۴,۸۲۴	۱,۰۲۹,۱۷۶	۱,۱۴۳,۵۲۹
۳	مخلوط تخم مرغ	کیلوگرم	۱,۵۵۳,۲۹۴	۱,۰۸۷,۳۰۶	۱,۲۴۲,۶۳۵	۱,۳۹۷,۹۶۵	۱,۵۵۳,۲۹۴

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	--	---

جدول ۱۲- برنامه قیمت و فروش طرح

ردیف	شرح	واحد	قیمت فروش واحد (ریال)	برنامه فروش سالانه بر اساس ظرفیت عملی (میلیون ریال)				
				اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم
۱	ماده موثر کلستروم پلاس	سری دوز مصرف دام	۲,۱۰۰,۰۰۰	۷۵۶,۰۰۰	۱,۱۳۴,۰۰۰	۱,۵۱۲,۰۰۰	۱,۸۹۰,۰۰۰	۲,۲۶۸,۰۰۰
۲	سفیده تخم مرغ	کیلوگرم	۱,۰۳۶,۰۰۰	۲۳۶,۹۳۹	۳۵۵,۴۰۹	۴۷۳,۸۷۹	۵۹۲,۳۴۸	۷۱۰,۸۱۸
۳	مخلوط تخم مرغ	کیلوگرم	۹۲۳,۰۰۰	۲۸۶,۷۳۸	۴۳۰,۱۰۷	۵۷۳,۴۷۶	۷۱۶,۸۴۵	۸۶۰,۲۱۴
جمع کل فروش (میلیون ریال)				۱,۲۷۹,۶۷۷	۱,۹۱۹,۵۱۶	۲,۵۵۹,۳۵۵	۳,۱۹۹,۱۹۳	۳,۸۳۹,۰۳۲

ردیف	شرح	واحد	قیمت فروش واحد (ریال)	برنامه فروش سالانه بر اساس ظرفیت عملی (میلیون ریال)				
				پنجم	ششم	هفتم	هشتم	نهم
۱	ماده موثر کلستروم پلاس	سری دوز مصرف دام	۲,۱۰۰,۰۰۰	۲,۲۶۸,۰۰۰	۲,۶۴۶,۰۰۰	۳,۰۲۴,۰۰۰	۳,۴۰۲,۰۰۰	۳,۷۸۰,۰۰۰
۲	سفیده تخم مرغ	کیلوگرم	۱,۰۳۶,۰۰۰	۷۱۰,۸۱۸	۸۲۹,۲۸۸	۹۴۷,۷۵۷	۱,۰۶۶,۲۲۷	۱,۱۸۴,۶۹۶
۳	مخلوط تخم مرغ	کیلوگرم	۹۲۳,۰۰۰	۸۶۰,۲۱۴	۱,۰۰۳,۵۸۳	۱,۱۴۶,۹۵۲	۱,۲۹۰,۳۲۱	۱,۴۳۳,۶۹۰
جمع کل فروش (میلیون ریال)				۳,۸۳۹,۰۳۲	۴,۴۷۸,۸۷۱	۵,۱۱۸,۷۱۰	۵,۷۵۸,۵۴۸	۶,۳۹۸,۳۸۷

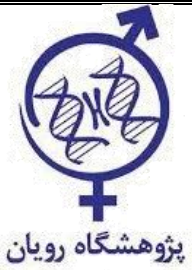
 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۳-۱۰- هزینه های سرمایه گذاری طرح

منظور از سرمایه ثابت، آن گروه از دارایی های متعلق به واحد است که ماهیتی نسبتاً ثابت و دائمی دارند و به منظور استفاده در جریان عملیات جاری شرکت و نه برای فروش، نگهداری می شوند. به سرمایه ثابت، دارایی های سرمایه ای یا دارایی بلند مدت نیز اطلاق می گردد.

با گذشت زمان، سرمایه های ثابت به استثناء زمین (منظور زمینی است که برای احداث ساختمان مورد استفاده قرار می گیرد)، قابلیت بهره دهی خود را از دست می دهند. بدین لحاظ بهای تمام شده این قبیل دارایی ها، باید در طی عمر مفیدشان، به طور منظم به تدریج به حساب هزینه منظور گردد. این کاهش تدریجی بهای تمام شده، استهلاك خوانده می شود. ارزش قابل بازیافت دارایی مستهلك شده در تاریخ خروج از خدمت، ارزش اسقاطی خوانده می شود. مازاد بهای تمام شده نسبت به ارزش اسقاط دارایی ثابت، نشان دهنده مبلغی است که باید طی دوره عمر مفید دارایی به عنوان هزینه استهلاك در حسابها منظور شود.

چنانچه ارزش اسقاط با بهای تمام شده دارایی، قابل توجه نباشد، در محاسبه می توان از آن صرف نظر کرد. روش های مختلفی برای محاسبه هزینه استهلاك وجود دارد که متداول ترین آن، محاسبه هزینه استهلاك به روش خطی است. در این روش که در این طرح از آن استفاده می شود مازاد بهای تمام شده دارائی نسبت به ارزش اسقاط، به طور مساوی در طول دوره عمر آن تقسیم می شود و هر ساله این مقدار به حساب هزینه های استهلاك منظور می شود. به منظور تعیین میزان سوددهی و شاخصهای اقتصادی طرح لازم است بررسی های مالی که مشتمل بر برآورد هزینه ها (کل هزینه های سرمایه ای، هزینه های مواد اولیه، تعمیرات و نگهداری، بالاسری کارخانه، استهلاك) و تنظیم جداول مالی می باشد، صورت گیرد. به منظور تعیین وضعیت مالی نیز می بایست جداول سود و زیان، گردش وجوه نقدی و ترازنامه طرح برای دوره معین (۱۰ سال) پیش بینی و تنظیم گردد. این جداول باید همزمان و هماهنگ تکمیل گردند زیرا در آنها ارقام مشترکی وجود دارند که نیاز به همترازی خواهند داشت.

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

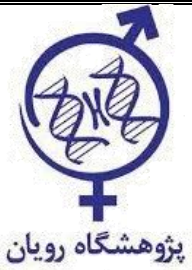
جدول ۱۳- هزینه های سرمایه گذاری کل طرح (ارقام به میلیون ریال)

ردیف	شرح	انجام شده	مورد نیاز	جمع کل
۱	هزینه های سرمایه گذاری ثابت	۰	۱,۱۲۰,۴۹۱	۱,۱۲۰,۴۹۱
۲	مجموع هزینه های قبل از بهره برداری	۰	۵,۴۸۱	۵,۴۸۱
	جمع سرمایه گذاری ثابت	۰	۱,۱۲۵,۹۷۲	۱,۱۲۵,۹۷۲
۳	سرمایه در گردش	۰	۱,۰۸۹,۸۳۰	۱,۰۸۹,۸۳۰
	مجموع کل سرمایه گذاری	۰	۲,۲۱۵,۸۰۲	۲,۲۱۵,۸۰۲

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

جدول ۱۴- هزینه های سرمایه گذاری ثابت طرح (ارقام به میلیون ریال)

ردیف	شرح	انجام شده	مورد نیاز	جمع کل
۱	هزینه های خرید زمین	۰	۱۸۳،۷۵۰	۱۸۳،۷۵۰
۲	هزینه های محوطه سازی	۰	۱۲،۹۵۴	۱۲،۹۵۴
۳	هزینه های ساختمان سازی	۰	۲۰۷،۲۷۰	۲۰۷،۲۷۰
۴	هزینه های خرید ماشین آلات اصلی	۰	۴۷۶،۰۹۱	۴۷۶،۰۹۱
۵	هزینه های تأسیسات عمومی	۰	۲۱۳،۸۹۲	۲۱۳،۸۹۲
۶	هزینه خرید وسایل آزمایشگاه و کارگاهی	۰	۱۵،۰۹۴	۱۵،۰۹۴
۷	هزینه های خرید اثاثه و ملزومات اداری	۰	۱۱،۴۳۹	۱۱،۴۳۹
هزینه های سرمایه گذاری ثابت				۱،۱۲۰،۴۹۱
۸	کل هزینه های قبل از بهره برداری	۰	۵،۴۸۱	۵،۴۸۱
جمع کل				۱،۱۲۵،۹۷۲

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندي
--	--	---

۳-۱۰-۱- زمین

محل اجرای طرح واقع در شهرک صنعتی دارویی برکت یا زمینی واقع در منطقه هلجرد می باشد.

جدول ۱۵- مشخصات زمین طرح

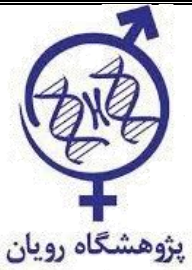
مجموع کل مبلغ	مورد نیاز	موجود	بهای واحد	مساحت	شرح	ردیف
میلیون ریال	میلیون ریال	میلیون ریال	ریال	متر مربع		
۱۷۵،۰۰۰	۱۷۵،۰۰۰	۰	۷۰،۰۰۰،۰۰۰	۲،۵۰۰	زمین	۱
۸،۷۵۰	۸،۷۵۰	۰	۵٪	پیش بینی نشده		
۱۸۳،۷۵۰	۱۸۳،۷۵۰	۰	متر مربع	۲،۵۰۰	مجموع هزینه های خرید زمین	

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندي
--	---	---

۳-۱۰-۲- محوطه سازی

جدول ۱۶- محوطه سازی

ردیف	شرح	مقدار	واحد	بهای واحد	انجام شده	مورد نیاز	مجموع کل
				ریال	میلیون ریال	میلیون ریال	میلیون ریال
۱	دیوار کشی	۱۵۰	متر طول/با آجر و سیمان و به ارتفاع ۲ متر از سطح زمین به عرض ۳۵ سانتی متر و ۵/۰ متر پی سنگی با قرنیز مربوطه و سیمان کشی و فونداسیون	۴۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۶,۰۰۰	۶,۰۰۰
۲	فضای سبز	۳۷۵	مترمربع/درختکاری (۱۵ درصد از کل فضای زمین)	۹۰۰,۰۰۰	۰	۳۳۸	۳۳۸
۳	محوطه سازی	۵۰۰	مترمربع/با زیرسازی و بتن محوطه و روشنایی محوطه و لوله کشی آب	۱۲,۰۰۰,۰۰۰	۰	۶,۰۰۰	۶,۰۰۰
	پیش بینی نشده			۵٪	۰	۶۱۷	۶۱۷
	مجموع هزینه های محوطه سازی				۰	۱۲,۹۵۴	۱۲,۹۵۴

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۳-۱۰-۳- ساختمان سازی

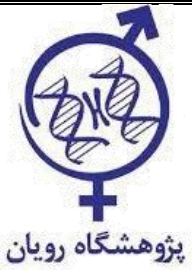
ساختمان های اصلی تولید

سالن تولید:

برای محاسبه سالن تولید، مساحت خالص دستگاه ها از کاتالوگ های مربوط به دستگاه استخراج می شود سپس با توجه به خصوصیات کاری هر دستگاه فضای مورد نیاز جهت مواد اولیه و محصول خروجی دستگاه مانور اپراتور، تعمیرات و نگهداری و ... برآورد شده به مساحت خالص دستگاه افزوده می گردد. این جمع، مساحت مورد نیاز هر دستگاه را بیان می کند سپس با در نظر گرفتن تعداد دستگاه مورد نیاز جمع کل مساحت هر نوع ماشین محاسبه می شود برای کارهای غیرماشینی نیز مساحت میز کار و محوطه مورد نیاز به همین صورت محاسبه می گردد.

ساختمان اداری:

از آنجائی که سرویس های دیگر کارخانه مثل بخش های اداری، رفاهی و خدماتی نیز در ایفای وظایف واحد، نقش عمده ای دارند، لازم است فضای مورد نیاز این بخش ها نیز به طریق مناسبی برآورد شود. بخش های اداری به منظورهای مختلف مثل اداره کارخانه، ارائه سرویس به کارکنان، ارائه سرویس به مشتریان و طرف های قرارداد تأمین مواد و ... در کارخانه ها احداث می شوند. در صنایع کوچک ساختمان های اداری متمرکز و معمولاً در معرض دید یعنی در قسمت جلوی اولین ساختمان بعد از در ورودی کارخانه می باشند. سایر سرویس ها نیز در محلی مناسب که دسترسی استفاده کنندگان را میسر سازد مستقر می شوند.

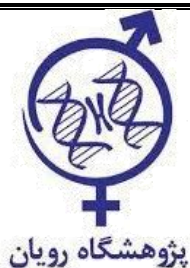
	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	--	---

تأسیسات و تعمیرگاه:

با توجه به تأسیسات مورد نیاز این واحد شامل تأسیسات برق، آب، سوخت و ... مساحت مورد نیاز موارد فوق در ادامه برآورد شده است. همچنین در این واحد به منظور انجام تعمیرات جزئی و اتفاقی مساحتی به منظور احداث تعمیرگاه اختصاص می یابد. جمع بندی این موارد در ادامه ذکر گردیده است.

محل ساختمان ها

موقعیت ساختمان ها از لحاظ موقعیت مکانی آنها نسبت به یکدیگر باید متناسب با خطوط تولید و سهولت گردش مواد و کالا باشد. خطوط ارتباطی داخلی در محوطه کارخانه می بایست به گونه ای باشد که در ارتباط با جریان مواد اولیه، محصول، سوخت، سهولت امکان اطفاء حریق و سایر موارد دیگر، ترافیک در حداقل ممکن باشد. جهت توسعه احتمالی طرح می بایست پیش بینی فضای کافی در طراحی محل ساختمان ها و محوطه صورت گیرد.



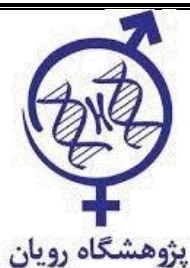
مطالعات امکان سنجی احداث واحد **تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای** **محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)**

مالک طرح:
 پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
 جناب آقای دکتر قاندى

جدول ۱۷- ساختمان‌ها در طرح

ردیف	شرح	مقدار (مترمربع)	توضیحات	بهای واحد ریال	انجام شده	مورد نیاز	مجموع کل میلیون ریال
۱	سالن شستشو و جدا سازی	۶۰۰	اسکلت سوله - ارتفاع کناری ۶ متر- دیوار آجری با سیمانکاری داخل و نماسازی خارج - کف سازی با آپوکسی - پوشش سقف با ساندویچ پنل نصب درب- با کاشی کاری تا ارتفاع ۴ متر	۱۴۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۸۴,۰۰۰	۸۴,۰۰۰
۲	سردخانه	۵۰	اسکلت سوله فلزی- کف سازی با بتن مسلح و عایق کاری- سقف ورق موجدار با عایق بندی رطوبتی و حرارتی - دیوارها ساندویچ پنل و عایق و بتن ریزی کف - جداسازی اطاقهای سرد با ساندویچ پنل - نصب درب دو جداره اتاق‌های سرد	۲۶۰,۰۰۰,۰۰۰		۱۳,۰۰۰	۱۳,۰۰۰
۳	سالن تولید کلین روم و تخلیص و فرآوری	۱۰۰	اسکلت سوله فلزی- دیوارها و سقف با ساندویچ پنل و عایق - نصب درب کلین روم آپوکسی کف - به همراه بخش الکتریکال و ابزار دقیق (کلید و پریز و لامپ و سیستم اینترلاک درب های ورودی و نصب سنسورهای اختلاف فشار - تابلو برق)- نصب فن فیلترباکس- اجرای عایق داکتینگ مسیر رفت و برگشت هوا -	۶۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۶۰,۰۰۰	۶۰,۰۰۰
۴	آزمایشگاه	۱۰۰	اسکلت سوله - ارتفاع کناری ۶ متر - دیوار آجری با سیمانکاری داخل و نماسازی خارج - کف سازی - پوشش سقف با ساندویچ پنل نصب	۱۴۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۱۴,۰۰۰	۱۴,۰۰۰



مطالعات امکان سنجی احداث واحد
تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای
محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
 پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
 جناب آقای دکتر قانعی

ردیف	شرح	مقدار (مترمربع)	توضیحات	بهای واحد ریال	انجام شده	مورد نیاز میلیون ریال	مجموع کل
			درب- با کاشی کاری تا ارتفاع ۴ متر				
۵	نگهبانی	۴۰	اسکلت فلزی یا بتن با شناژبندی، دیوارهای جانبی- نصب درب و پنجره، کف سازی و نماسازی با امکانات کامل (با مصالح مناسب)	۱۳۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۵,۲۰۰	۵,۲۰۰
۶	تاسیسات	۴۰	آجر و سیمان و آرماتور بندی	۸۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۳,۲۰۰	۳,۲۰۰
۷	اداری	۱۲۰	اسکلت فلزی یا بتن با شناژبندی، دیوارهای جانبی- نصب درب و پنجره، کف سازی و نماسازی با امکانات کامل (با مصالح مرغوب)	۱۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۱۸,۰۰۰	۱۸,۰۰۰
	پیش بینی نشده			۵٪	۰	۹,۸۷۰	۹,۸۷۰
	جمع	۱,۰۵۰		-	۰	۲۰۷,۲۷۰	۲۰۷,۲۷۰
مجموع هزینه های ساختمان سازی				۲۰۷,۲۷۰			

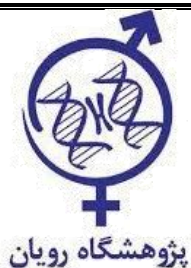
 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۳-۱۰-۴- ماشین آلات

به کارگیری ماشین آلات و دستگاه های مناسب از اساسی ترین ارکان طراحی واحدهای صنعتی می باشد، چرا که انتخاب ماشین آلات مناسب می تواند در بهبود کیفیت محصول و بهینه سازی سرمایه گذاری نقش مؤثری داشته باشد.

جدول ۱۸- هزینه ماشین آلات در طرح (میلیون ریال)

ردیف	نام ماشین آلات و تجهیزات	تعداد	واحد	بهای خرید واحد	موجود	مورد نیاز	مبلغ کل
				میلیون ریال			
۱	سیستم پاستوریزاتورزرده kg/h۲۵۰ سفیده و مخلوط ۵۰۰ kg/h	۳	دستگاه	۱۴,۷۰۰		۴۴,۱۰۰	۴۴,۱۰۰
۲	دستگاه سانتریفیوژ kg/h۱۵۰۰	۱	دستگاه	۲,۶۰۰	۰	۲,۶۰۰	۲,۶۰۰
۳	دستگاه فیلتر مایع تخم مرغ سه تایی kg/h۲۰۰۰	۱	دستگاه	۳۴۰	۰	۳۴۰	۳۴۰
۴	پلیت کولر ۲۰۰۰ لیتر	۹	دستگاه	۱,۵۰۰	۰	۱۳,۵۰۰	۱۳,۵۰۰
۵	مخزن ۳۰۰۰ لیتر پروسس	۱۲	دستگاه	۲,۳۴۰	۰	۲۸,۰۸۰	۲۸,۰۸۰
۶	فیدینگ پمپ	۱	عدد	۲۸۰	۰	۲۸۰	۲۸۰
۷	اسپری درایر با ظرفیت ورودی تقریبی ۱۵۰ کیلوگرم	۷	دستگاه	۳۵,۴۰۰	۰	۲۴۷,۸۰۰	۲۴۷,۸۰۰
۸	دستگاه شستشو و جداکننده تخم مرغ	۱	دستگاه	۷,۵۰۰	۰	۷,۵۰۰	۷,۵۰۰
۹	دستگاه CIP و تجهیزات به همراه کلیه متعلقات	۱	دستگاه	۲۱,۰۰۰	۰	۲۱,۰۰۰	۲۱,۰۰۰
۱۰	تخلیص کننده ۲۰۰۰ لیتری	۸	دستگاه	۵,۰۰۰	۰	۴۰,۰۰۰	۴۰,۰۰۰
۱۱	دستگاه پرکن و بسته بندی	۱	دستگاه	۷,۰۰۰	۰	۷,۰۰۰	۷,۰۰۰
جمع ارزش ماشین آلات و تجهیزات اصلی داخلی و خارجی					۰	۴۱۲,۲۰۰	۴۱۲,۲۰۰
مالیات بر ارزش افزوده				۱۰٪		۴۱,۲۲۰	۴۱,۲۲۰
پیش بینی نشده				۵٪	۰	۲۲,۶۷۱	۲۲,۶۷۱
مجموع کل هزینه های خرید ماشین آلات					۰	۴۷۶,۰۹۱	۴۷۶,۰۹۱



مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

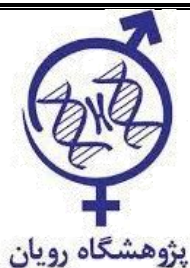
مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

۳-۱۰-۵- تأسیسات

جدول ۱۹- هزینه های تأسیسات (میلیون ریال)

ردیف	عنوان تأسیسات	تعداد	واحد/مشخصات	بهای خرید واحد ریال	انجام شده میلیون ریال	مورد نیاز میلیون ریال	مبلغ کل میلیون ریال
۱	AIR COMPRESSORS ۱۰۰ CFM, ۷ BAR Pressure	۲	دستگاه	۳۵,۹۵۵,۰۰۰,۰۰۰	۰	۷۱,۹۱۰	۷۱,۹۱۰
۲	HVAC SYSTEM WITH cooling & control	۱	دستگاه	۳۱,۱۲۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۳۱,۱۲۰	۳۱,۱۲۰
۳	heating system	۱	دستگاه	۱,۰۳۹,۰۰۰,۰۰۰	۰	۱,۰۳۹	۱,۰۳۹
۴	آب ساز (۵ هزار لیتری)	۴	دستگاه	۷,۰۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۲۸,۰۰۰	۲۸,۰۰۰
۵	UPS SYSTEMS	۱	دستگاه	۶,۴۴۷,۰۰۰,۰۰۰	۰	۶,۴۴۷	۶,۴۴۷
۶	هزینه های برق رسانی	۱	انشعاب برق - ترانس برق, برقگیر، کنسول، سکوی تراس، کابل، سیم، کلمپ مسی، کابلشو، کاور بوشینگ ترانس، تسمه ارت، مقر سوزنی، دستمزد نصب و تابلو برق ایستاده ، ...	۱۷,۰۵۷,۳۱۷,۳۵۰	۰	۱۷,۰۵۷	۱۷,۰۵۷
۷	هزینه های آب رسانی	۱	انشعاب آب قطر لوله ۳/۴ اینچ به همراه هزینه های پیمانکاری	۲,۵۳۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۲,۵۳۰	۲,۵۳۰
۸	هزینه های گاز رسانی	۱	انشعاب گاز به همراه هزینه های پیمانکاری	۳,۸۶۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۳,۸۶۰	۳,۸۶۰
۹	هزینه تجهیزات ایمنی و حفاظتی	۱	شامل: دوربین های حفاظتی و امنیتی، دستگاه	۴,۱۸۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۴,۱۸۰	۴,۱۸۰



**مطالعات امکان سنجی احداث واحد
تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای
محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)**

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

ردیف	عنوان تأسیسات	تعداد	واحد/مشخصات	بهای خرید واحد ریال	انجام شده میلیون ریال	مورد نیاز میلیون ریال	مبلغ کل میلیون ریال
			دی وی ار، مانیتور، سرور و سایر متعلقات				
۱۰	ژنراتور ولوو ۱۱۰ کاوا	۱	دستگاه - از شرکت رادوکو	۶,۶۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۶,۶۵۰	۶,۶۵۰,۰۰۰
۱۱	سپتیک فاضلاب	۱	با بتن مسلح با ایزولاسیون	۱,۲۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۱,۲۰۰	۱,۲۰۰,۰۰۰
۱۲	تجهیزات سردخانه	۱	شامل اواپراتور و کندانسور و لوله اتصالات مربوطه	۱۲,۰۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۱۲,۰۰۰	۱۲,۰۰۰,۰۰۰
	پیش بینی نشده				۰	۹,۳۰۰	۹,۳۰۰
	مالیات بر ارزش افزوده				۰	۱۸,۵۹۹	۱۸,۵۹۹
	مجموع ارزش تأسیسات عمومی				۰	۲۱۳,۸۹۲	۲۱۳,۸۹۲

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۳-۱۰-۶- هزینه تجهیزات آزمایشگاهی

جدول ۲۰- هزینه تجهیزات آزمایشگاهی (میلیون ریال)

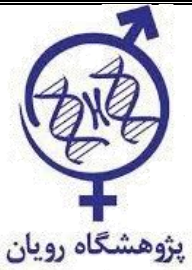
ردیف	شرح	تعداد	واحد	شرکت سازنده	بهای خرید واحد	موجود	مورد نیاز	مبلغ کل
					ریال		میلیون ریال	
۱	COOLING Incubator ۲۰ to ۵۵ Temp	۲	دستگاه	طیف آزما	۳۳۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۶۶۰	۶۶۰
۲	BACTERIOLOGICAL Incubator	۱	دستگاه	طیف آزما	۱۸۵,۰۰۰,۰۰۰	۰	۱۸۵	۱۸۵
۳	Small Autoclave	۲	دستگاه	طیف آزما	۳۸۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۷۶۰	۷۶۰
۴	Hot air oven	۱	دستگاه	طیف آزما	۱۸۵,۰۰۰,۰۰۰	۰	۱۸۵	۱۸۵
۵	Refrigerator / Fridge	۱	دستگاه	طیف آزما	۸۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۸۵۰	۸۵۰
۶	Laminar Flow ۴Ft X ۲Ft	۱	دستگاه	صنعت گذاران خاورمیانه	۹۳۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۹۳۰	۹۳۰
۷	pH meter	۱	دستگاه	طیف آزما	۲۴۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۲۴۰	۲۴۰
۸	Desktop PC	۱	دستگاه	مهندسی پردیس رایان دیبا	۳۳۳,۰۰۰,۰۰۰	۰	۳۳۳	۳۳۳
۹	Microscope	۲	دستگاه	تایسیز تجهیز	۱۲۹,۰۰۰,۰۰۰	۰	۲۵۸	۲۵۸
۱۰	Laboretory Galss wears	۲	دستگاه	فروشگاه اینترنتی	۳۶۰,۰۰۰	۰	۱	۱
۱۱	Leak Tester	۱	دستگاه	دقیق پرتو	۴,۱۶۵,۰۰۰,۰۰۰	۰	۴,۱۶۵	۴,۱۶۵
۱۲	Weighing Balance	۱	دستگاه	تجهیز کیا گستر پایدار فردا	۱۹۵,۰۰۰,۰۰۰	۰	۱۹۵	۱۹۵
۱۳	Hot Plate	۱	دستگاه	طیف آزما	۷۴,۰۰۰,۰۰۰	۰	۷۴	۷۴
۱۴	Gas burner	۱	دستگاه	فروشگاه اینترنتی	۲,۱۸۰,۰۰۰	۰	۲	۲
۱۵	fermenter (۵۰۰ لیتری استیل توان ۱,۵ اسب بخار- استیل ۳۱۶)	۲	دستگاه	پرشین ترامند	۲,۳۴۸,۰۰۰,۰۰۰		۴,۶۹۶	۴,۶۹۶
	پیش بینی نشده							
	مالیات بر ارزش افزوده							
	جمع							
						۰	۱۵,۰۹۴	۱۵,۰۹۴

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۳-۱۰-۷- هزینه تجهیزات و ملزومات اداری و رفاهی

جدول ۲۱- هزینه تجهیزات و ملزومات اداری و رفاهی (میلیون ریال)

ردیف	شرح	تعداد	واحد	بهای خرید واحد ریال	موجود میلیون ریال	مورد نیاز میلیون ریال	مبلغ کل میلیون ریال
۱	میز اداری	۱۸	عدد	۸,۰۰۰,۰۰۰	۰	۱۴۴	۱۴۴
۲	صندلی	۱۸	عدد	۱۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۱,۸۰۰	۱,۸۰۰
۳	کامپیوتر و متعلقات	۱۸	دستگاه	۳۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۵,۴۰۰	۵,۴۰۰
۴	گاو صندوق	۳	عدد	۲۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۶۰۰	۶۰۰
۵	پرینتر چندکاره (پرینتر چندکاره لیزری اچ پی مدل HP ۱nf۱۲۱۲M LaserJet Pro MFP nf۱۲۱۲M Multifunction (Printer	۳	دستگاه	۱۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۴۵۰	۴۵۰
۶	یخچال	۳	دستگاه	۲۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۷۵۰	۷۵۰
۷	تجهیزات آشپزخانه (میز و صندلی، سرویس های قاشق و چنگال و سماور و)	۱	سری	۶۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۶۵۰	۶۵۰
۸	مایکروفر	۱	دستگاه	۲۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۲۵۰	۲۵۰
۹	تلفن های سانترال و تجهیزات وابسته	۱	سری	۴۵۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۴۵۰	۴۵۰
۱۰	مبلمان اداری	۱	سری	۴۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۰	۴۰۰	۴۰۰
	پیش بینی نشده				۰	۵۴۵	۵۴۵
	مجموع ارزش ملزومات اداری				۰	۱۱,۴۳۹	۱۱,۴۳۹

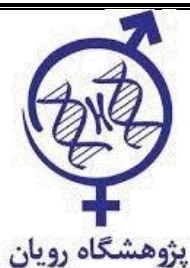
	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۳-۱۰-۸- هزینه های قبل از بهره برداری

هزینه های این بخش شامل هزینه اخذ تسهیلات مالی، هزینه کارشناسی، هزینه بیمه، هزینه اخذ مجوزات و... می شود. موارد فوق الذکر به همراه هزینه های مربوطه در جدول ذیل با عنوان "هزینه های قبل از بهره برداری" آورده شده است.

جدول ۲۲- هزینه های قبل از بهره برداری (میلیون ریال)

ردیف	شرح	موجود	مورد نیاز	مبلغ کل
۱	نقشه های ساختمانی و سایت پلان	۰	۳,۸۰۰	۳,۸۰۰
۲	هزینه اخذ مجوزات	۰	۱,۳۵۰	۱,۳۵۰
۳	هزینه مشاوره، تهیه طرح توجیهی	۰	۲۵۰	۲۵۰
۴	سایر (۱,۵ درصد)	۰	۸۱	۸۱
	هزینه های قبل از بهره برداری	۰	۵,۴۸۱	۵,۴۸۱



مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

۳- ۱۱- سرمایه در گردش

جدول ۲۳- سرمایه در گردش (میلیون ریال)

ردیف	شرح	سال اول بهره برداری		سال دوم بهره برداری		سال سوم بهره برداری		سال چهارم بهره برداری	
		٪۲۰	ظرفیت	٪۳۰	ظرفیت	٪۴۰	ظرفیت	٪۵۰	ظرفیت
۱	کل موجودی کالا	۸۲,۶۴۷		۱۲۱,۱۹۹		۱۶۰,۰۹۱		۱۹۸,۶۴۳	
۱	حسابهای دریافتی	۱۴۰,۴۳۶		۲۰۵,۱۱۱		۲۷۰,۴۶۷		۳۳۵,۱۴۱	
۲	موجودی نقد	۱۱,۵۳۲		۱۴,۵۲۷		۱۷,۸۶۲		۲۰,۸۵۶	
	کل سرمایه در گردش مورد نیاز	۲۳۴,۶۱۵		۳۴۰,۸۳۶		۴۴۸,۴۱۹		۵۵۴,۶۴۰	

ردیف	شرح	سال پنجم بهره برداری		سال ششم بهره برداری		سال هفتم بهره برداری		سال هشتم بهره برداری		سال نهم بهره برداری	
		٪۶۰	ظرفیت	٪۷۰	ظرفیت	٪۸۰	ظرفیت	٪۹۰	ظرفیت	٪۱۰۰	ظرفیت
۱	کل موجودی کالا	۲۳۷,۵۳۵		۲۷۶,۰۸۷		۳۱۴,۹۷۹		۳۹۲,۴۲۳		۳۹۲,۴۲۳	
۱	حسابهای دریافتی	۴۰۰,۴۹۷		۴۶۵,۱۷۲		۵۳۰,۵۲۷		۶۶۰,۵۵۸		۶۶۰,۵۵۸	
۲	موجودی نقد	۲۴,۱۹۱		۲۷,۱۸۵		۳۰,۵۲۰		۳۶,۸۴۹		۳۶,۸۴۹	
	کل سرمایه در گردش مورد نیاز	۶۶۲,۲۲۳		۷۶۸,۴۴۵		۸۷۶,۰۲۷		۱,۰۸۹,۵۳۰		۱,۰۸۹,۵۳۰	

جدول ۲۴- روزهای پوشش و ضریب گردش برای سرمایه در گردش

شرح	روزهای پوشش	ضریب گردش
مواد خام	۱۰	۳۶
موجودی کالای ساخته شده (ماده موثر کلستروم پلاس (تن))	۶۰	۶
موجودی کالای ساخته شده (مخلوط تخم مرغ (کیلوگرم))	۱۵	۲۴
موجودی کالای ساخته شده (سفیده تخم مرغ (کیلوگرم))	۱۵	۲۴
حسابهای دریافتی (ماده موثر کلستروم پلاس (تن))	۶۰	۶
حسابهای دریافتی (سفیده تخم مرغ (کیلوگرم))	۶۰	۶
حسابهای دریافتی (مخلوط تخم مرغ (کیلوگرم))	۶۰	۶
موجودی نقد	۳۰	۱۲



پژوهشگاه رویان

مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

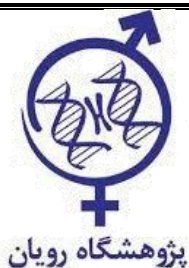
مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندي

۳- ۱۲- زمانبندی اجرای طرح

جدول ۲۵- جدول زمانبندی پروژه

مدت زمان مورد نیاز												انجام شده طی سالهای گذشته		شرح
یکسال														
۱ماه	۱ماه	۱ماه	۱ماه	۱ماه	۱ماه	۱ماه	۱ماه	۱ماه	۱ماه	۱ماه	۱ماه			
														انجام مطالعات اولیه
														کسب مجوزهای لازم
														تامین خدمات مهندسی
														زمین
														انتخاب مجری طرح (پیمانکاران)
														تجهیز کارگاه
														عملیات ساختمانی و محوطه سازی
														سفارش، خرید و حمل ماشین آلات
														نصب و راه اندازی ماشین آلات
														تأسیسات
														استخدام و آموزش کارکنان
														بهره برداری آزمایشی
														تأخیرهای پیش بینی نشده
														تولید آزمایشی
														تولید تجاری



مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

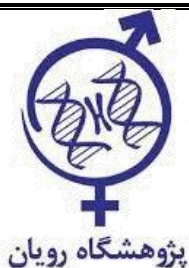
مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

۳-۱۳- هزینه های تولید

جدول ۲۶- هزینه های تولید (میلیون ریال)

ردیف	شرح	سالهای بهره برداری							
		سال اول		سال دوم		سال سوم		سال چهارم	
		٪۲۰	ظرفیت	٪۳۰	ظرفیت	٪۴۰	ظرفیت	٪۵۰	ظرفیت
۱	هزینه های مواد اولیه و مصرفی	۶۳۹,۳۹۲		۹۵۹,۰۸۸		۱,۲۷۸,۷۸۴		۱,۵۹۸,۴۸۰	
۲	هزینه های تأمین انرژی	۸۵۴		۱,۲۸۲		۱,۷۰۹		۲,۱۳۶	
۳	هزینه های سالیانه تعمیرات و نگهداری	۹,۷۱۸		۱۴,۵۷۸		۱۹,۴۳۷		۲۴,۲۹۶	
۴	حقوق و دستمزد پرسنل مستقیم تولید	۸,۱۳۴		۱۲,۲۰۱		۱۶,۲۶۸		۲۰,۳۳۵	
۵	حقوق و دستمزد پرسنل غیر مستقیم تولید	۲۳,۲۶۶		۲۳,۲۶۶		۲۳,۲۶۶		۲۳,۲۶۶	
۶	هزینه های پیش بینی نشده	۳۳,۱۳۸	٪۵	۴۹,۷۰۶		۶۶,۲۷۵		۸۲,۸۴۴	
	جمع هزینه های جاری (تولید)	۷۱۴,۵۰۲		۱,۰۶۰,۱۲۱		۱,۴۰۵,۷۳۹		۱,۷۵۱,۳۵۷	
۷	حقوق و دستمزد پرسنل اداری	۴۱,۳۸۱		۴۱,۳۸۱		۴۵,۴۶۶		۴۵,۴۶۶	
۸	هزینه های سربار اداری طرح	۲۰,۸۷۷		۳۱,۳۱۵		۴۱,۷۵۳		۵۲,۱۹۲	
	هزینه های عملیاتی	۷۷۶,۷۶۰		۱,۱۳۲,۸۱۶		۱,۴۹۲,۹۵۸		۱,۸۴۹,۰۱۵	
۹	هزینه های استهلاک	۷۸,۴۲۷		۷۸,۴۲۷		۷۸,۴۲۷		۷۸,۴۲۷	
۱۰	هزینه های بیمه داراییهای ثابت	۱,۸۷۳		۱,۸۷۳		۱,۸۷۳		۱,۸۷۳	
	کل هزینه های جاری (تولید)	۸۵۷,۰۶۱		۱,۲۱۳,۱۱۷		۱,۵۷۳,۲۵۹		۱,۹۲۹,۳۱۵	
۱۱	هزینه های بازاریابی، تبلیغات و فروش	۶۳,۹۸۴		۹۵,۹۷۶		۱۲۷,۹۶۸		۱۵۹,۹۶۰	
	کل هزینه تمام شده	۹۲۱,۰۴۴		۱,۳۰۹,۰۹۳		۱,۷۰۱,۲۲۷		۲,۰۸۹,۲۷۵	



مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

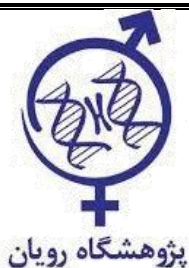
ردیف	شرح	سالهای بهره برداری									
		سال پنجم		سال ششم		سال هفتم		سال هشتم		سال نهم	
		۶۰٪ ظرفیت	۷۰٪ ظرفیت	۸۰٪ ظرفیت	۹۰٪ ظرفیت	۱۰۰٪ ظرفیت	۶۰٪ ظرفیت	۷۰٪ ظرفیت	۸۰٪ ظرفیت	۹۰٪ ظرفیت	۱۰۰٪ ظرفیت
۱	هزینه های مواد اولیه و مصرفی	۱,۹۱۸,۱۷۷	۲,۲۳۷,۸۷۳	۲,۵۵۷,۵۶۹	۲,۸۷۷,۲۶۵	۳,۱۹۶,۹۶۱					
۲	هزینه های تأمین انرژی	۲,۵۶۳	۲,۹۹۱	۳,۴۱۸	۳,۸۴۵	۴,۲۷۲					
۳	هزینه های سالیانه تعمیرات و نگهداری	۲۹,۱۵۵	۳۴,۰۱۴	۳۸,۸۷۳	۴۳,۷۳۳	۴۸,۵۹۲					
۴	حقوق و دستمزد پرسنل مستقیم تولید	۲۴,۴۰۲	۲۸,۴۶۹	۳۲,۵۳۶	۳۶,۶۰۳	۴۰,۶۷۰					
۵	حقوق و دستمزد پرسنل غیر مستقیم تولید	۲۳,۲۶۶	۲۳,۲۶۶	۲۳,۲۶۶	۲۳,۲۶۶	۲۳,۲۶۶					
۶	هزینه های پیش بینی نشده	۹۹,۴۱۳	۱۱۵,۹۸۲	۱۳۲,۵۵۰	۱۴۹,۱۱۹	۱۶۵,۶۸۸					
	جمع هزینه های جاری (تولید)	۲,۰۹۶,۹۷۶	۲,۴۴۲,۵۹۴	۲,۷۸۸,۲۱۲	۳,۱۳۳,۸۳۱	۳,۴۷۹,۴۴۹					
۷	حقوق و دستمزد پرسنل اداری	۴۹,۵۵۰	۴۹,۵۵۰	۵۳,۶۳۵	۵۳,۶۳۵	۵۷,۷۲۰					
۸	هزینه های سربار اداری طرح	۶۲,۶۳۰	۷۳,۰۶۸	۸۳,۵۰۷	۹۳,۹۴۵	۱۰۴,۳۸۳					
	هزینه های عملیاتی	۲,۲۰۹,۱۵۶	۲,۵۶۵,۲۱۳	۲,۹۲۵,۳۵۴	۳,۲۸۱,۴۱۱	۳,۶۴۱,۵۵۲					
۹	هزینه های استهلاک	۷۸,۴۲۷	۷۷,۳۳۱	۷۷,۳۳۱	۷۷,۳۳۱	۷۷,۳۳۱					
۱۰	هزینه های بیمه داراییهای ثابت	۱,۸۷۳	۱,۸۷۳	۱,۸۷۳	۱,۸۷۳	۱,۸۷۳					
	کل هزینه های جاری (تولید)	۲,۲۸۹,۴۵۷	۲,۶۴۴,۴۱۷	۳,۰۰۴,۵۵۹	۳,۳۶۰,۶۱۶	۳,۷۲۰,۷۵۷					
۱۱	هزینه های بازاریابی، تبلیغات و فروش	۱۹۱,۹۵۲	۲۲۳,۹۴۴	۲۵۵,۹۳۵	۲۸۷,۹۲۷	۳۱۹,۹۱۹					
	کل هزینه تمام شده	۲,۴۸۱,۴۰۹	۲,۸۶۸,۳۶۱	۳,۲۶۰,۴۹۴	۳,۶۴۸,۵۴۳	۴,۰۴۰,۶۷۶					

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	--	---

۳-۱۳-۱- مواد اولیه، کمکی و بسته بندی

جدول ۲۷- هزینه مواد اولیه

ردیف	شرح	محل تامین	میزان مواد مورد نیاز در ۱۰۰٪ ظرفیت اسمی	واحد	بهای واحد	مبلغ کل
					ریال	میلیون ریال
۱	تخم مرغ	داخلی	۵۴,۰۰۰,۰۰۰	عدد	۴۴,۱۱۸	۲,۳۸۲,۳۵۳
۲	هزینه مواد جداسازی	داخلی	۵۴,۰۰۰,۰۰۰	عدد	۵,۰۰۰	۲۷۰,۰۰۰
۳	مواد شستشو و ضد عفونی کننده	داخلی	۶	تن	۸۰۰,۰۰۰,۰۰۰	۴,۶۰۸
۴	تهیه و آماده سازی آنتی ژن	داخلی	۵۴,۰۰۰,۰۰۰	عدد	۵,۰۰۰	۲۷۰,۰۰۰
۵	افت تولید تخم مرغ	داخلی	۵۴,۰۰۰,۰۰۰	عدد	۵,۰۰۰	۲۷۰,۰۰۰
جمع کل هزینه های خرید مواد اولیه (میلیون ریال)						۳,۱۹۶,۹۶۱



مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

۳-۱۳-۲- حقوق و دستمزد

جدول ۲۸- هزینه حقوق و دستمزد پرسنل مستقیم (میلیون ریال)

ردیف	شرح پرسنل	تعداد(نفر)	پایه حقوق ماهیانه	حقوق سالیانه	حقوق سالیانه(۱۵ماه)
نیروی انسانی مستقیم تولید در طرح					
۱	کارگر	۱۰	۱۵۰	۱۸,۰۰۰	۲۲,۵۰۰
۲	سرپرست تولید	۱	۳۵۰	۴,۲۰۰	۵,۲۵۰
۳	کنترل کیفی	۲	۲۲۰	۵,۲۸۰	۶,۶۰۰
تعداد پرسنل تولیدی		۱۳	-	۲۷,۴۸۰	۳۴,۳۵۰
حق بیمه کارکنان تولیدی (هر نفر ۲۳ درصد)			۶,۳۲۰		
جمع کل حقوق و مزایای سالیانه پرسنل تولیدی (میلیون ریال)			۴۰,۶۷۰		
نیروی انسانی غیرمستقیم تولید در طرح					
۱	تحقیق و توسعه و آزمایشگاه	۴	۲۲۰	۱۰,۵۶۰	۱۳,۲۰۰
۲	رئیس انبار	۱	۲۵۰	۳,۰۰۰	۳,۷۵۰
۳	انبار دار	۱	۱۸۰	۲,۱۶۰	۲,۷۰۰
تعداد پرسنل غیر مستقیم تولیدی		۶	-	۱۵,۷۲۰	۱۹,۶۵۰
حق بیمه کارکنان غیرمستقیم تولیدی (هر نفر ۲۳ درصد)			۳,۶۱۶		
جمع کل حقوق و مزایای سالیانه پرسنل غیرمستقیم تولیدی (میلیون ریال)			۲۳,۲۶۶		
نیروی انسانی اداری در طرح					
۱	مدیرعامل	۱	۶۰۰	۷,۲۰۰	۹,۰۰۰
۲	بازرگانی اداری	۳	۲۰۰	۷,۲۰۰	۹,۰۰۰
۳	حسابداری	۳	۲۰۰	۷,۲۰۰	۹,۰۰۰
۴	فروش	۵	۲۳۰	۱۳,۸۰۰	۱۷,۲۵۰
۵	نگهبان و پشتیبانی	۲	۱۵۰	۳,۶۰۰	۴,۵۰۰
تعداد پرسنل اداری		۱۴	-	۳۹,۰۰۰	۴۸,۷۵۰
مزایای شغلی بیمه و پاداش ۲۳٪			۸,۹۷۰		
جمع کل حقوق و مزایای سالیانه پرسنل اداری			۵۷,۷۲۰,۰۰		
کل		۳۳	-	۸۲,۲۰۰	۱۰۲,۷۵۰
جمع کل حقوق و مزایای سالیانه پرسنل			۱۲۱,۶۵۶		

جدول ۲۹- تعداد نیروی فروش در هر سال

سال اول	سال دوم	سال سوم	سال چهارم	سال پنجم	سال ششم	سال هفتم	سال هشتم	سال نهم
۱	۱	۲	۲	۳	۳	۴	۴	۵

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۳-۱۳-۳- هزینه آب، برق، سوخت و ارتباطات

انواع انرژی مورد نیاز شامل آب، برق و سوخت می باشند؛ بهای واحد هریک از انواع انرژی بر مبنای آخرین نرخ های اعلامی از سوی وزارتخانه های مربوطه تعیین گردیده است.

جدول ۳۰- برآورد میزان مصرف برق، آب، سوخت، ارتباطات و غیره

ردیف	شرح	مصرف ماهانه		مصرف سالیانه		واحد	بهای واحد		هزینه مصرف سالیانه (میلیون ریال)	
		موجود	مورد نیاز	موجود	مورد نیاز		ریال	واحد	موجود	مورد نیاز
۱	برق	۰	۳۰،۷۲۰	۰	۳۶۸،۶۴۰	کیلو وات ساعت	۶،۹۰۰		۰	۲،۵۴۴
۲	آب	۰	۱،۲۵۰	۰	۱۵،۰۰۰	(متر مکعب)	۱۶،۰۰۰		۰	۲۴۰
۳	گاز	۰	۱۲،۵۰۰	۰	۱۵۰،۰۰۰	(متر مکعب)	۷،۷۰۰		۰	۱،۱۵۵
۴	گازوئیل	۰	۱۶۷	۰	۲،۰۰۰	(لیتر)	۱۰،۰۰۰		۰	۲۰
۵	ارتباطات	۰	۸۷،۱۲۰	۰	۱،۰۴۵،۴۴۰	دقیقه	۳۰۰		۰	۳۱۴
جمع										۴،۲۷۲
جمع کل هزینه های تامین انرژی										۴،۲۷۲

نحوه محاسبه آب

- ۳۷۵ مترمکعب سبز * ۲ بار در هفته * ۵۲ هفته در سال * حدود ۸ لیتر در هر مترمربع؛
- حدود ۵۰ لیتر به ازای هر یک از پرسنل در روزهای کاری؛
- ۲۰ مترمکعب در هر روز کاری برای فرآیند تولید (فرآیند جداسازی و تولید ماده موثر)؛
- ۲۰ لیتر در هر روز کاری برای شستشوی سالن تولید (جهت شستشوی سالن و لوله های CIP)؛
- در نظر گرفتن ۵۰ درصد مجموع موارد فوق به عنوان موارد در نظر گرفته نشده برای میزان آب مورد نیاز.

نحوه محاسبه گازوئیل

- برای روشن نمودن موتورژنراتور در موارد احتمالی.

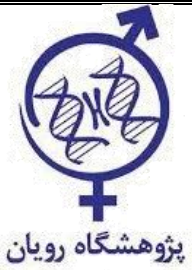
 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	--	---

۳-۱۳-۴- تعمیر و نگهداری

هزینه های سالانه تعمیر و نگهداری معمولاً به صورت درصدی از ارزش دارایی های عمده مربوطه در نظر گرفته می شود. این درصد در رشته های مختلف صنایع متفاوت است.

جدول ۳۱- تعمیر و نگهداری

ردیف	شرح داراییها	درصد	ارزش دارایی ها (میلیون ریال)		مبلغ کل (میلیون ریال)	
			انجام شده	مورد نیاز	انجام شده	مورد نیاز
۱	ماشین آلات اصلی	۴	۰	۴۷۶،۰۹۱	۰	۱۹،۰۴۴
۲	تأسیسات عمومی	۱۰	۰	۲۱۳،۸۹۲	۰	۲۱،۳۸۹
۴	ساختمان و محوطه سازی	۲،۵	۰	۲۲۰،۲۲۴	۰	۵،۵۰۶
۵	اثاثیه و لوازم اداری	۱۰	۰	۱۱،۴۳۹	۰	۱،۱۴۴
۶	آزمایشگاه و کارگاهی	۱۰	۰	۱۵،۰۹۴	۰	۱،۵۰۹
جمع هزینه ها					۰	۴۸،۵۹۲
جمع کل هزینه های سالیانه تعمیر و نگهداری					۴۸،۵۹۲	

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

۳-۱۳-۵- هزینه استهلاک

برآورد هزینه استهلاک داراییهای ثابت طرح بر اساس روش خطی میباشد؛ که مبلغ استهلاک استخراج شده از کامفار، با لحاظ نمودن ۱۰٪ استهلاک برای ماشین آلات اصلی، ۱۰٪ تأسیسات، ۲۰٪ وسائط نقلیه، ۷٪ ساختمان و محوطه سازی، ۲۰٪ اثاثیه و لوازم اداری، ۱۰٪ آزمایشگاه و کارگاهی و ۲۰٪ هزینه های قبل از بهره برداری می باشد.

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	--	---

۳-۱۳-۶- هزینه بیمه

جدول ۳۲- هزینه های بیمه کارخانه (میلیون ریال)

ردیف	شرح هزینه	درصد بیمه از سرمایه گذاری	مبلغ سرمایه گذاری	مبلغ کل
			میلیون ریال	میلیون ریال
۱	بیمه داراییهای ثابت خالص از زمین	۰,۲	۹۳۶,۷۴۱	۱,۸۷۳
	مجموع کل هزینه های بیمه داراییهای ثابت			۱,۸۷۳

۳-۱۳-۷- هزینه های پیش بینی نشده

جدول ۳۳- هزینه های پیش بینی نشده (میلیون ریال)

ردیف	شرح	درصد	مبلغ کل هزینه های تولید	مبلغ هزینه
			میلیون ریال	میلیون ریال
۱	هزینه های پیش بینی نشده تولید	۵	۳,۳۱۳,۷۶۱	۱۶۵,۶۸۸
	مجموع کل هزینه های پیش بینی نشده جاری طرح			۱۶۵,۶۸۸

 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	---	---

۳-۱۳-۸- هزینه های سربار

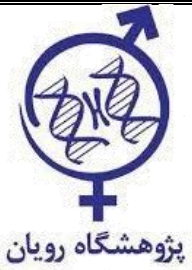
جدول ۳۴- هزینه های سربار کارخانه (میلیون ریال)

ردیف	شرح هزینه	درصد هزینه از سرمایه گذاری	مبلغ هزینه میلیون ریال	مبلغ کل میلیون ریال
۱	ملزومات اداری دفتر مرکزی (۱,۵ درصد هزینه های جاری)	۱,۵	۳,۴۷۹,۴۴۹	۵۲,۱۹۲
۲	هزینه های توزیع و فروش (۱,۵ درصد هزینه های جاری)	۱,۵	۳,۴۷۹,۴۴۹	۵۲,۱۹۲
مجموع کل سایر هزینه های سربار اداری			۱۰۴,۳۸۳	

۳-۱۳-۹- هزینه های بازاریابی

جدول ۳۵- هزینه های بازاریابی

ردیف	شرح هزینه	درصد هزینه از درآمد	درآمد سالیانه میلیون ریال	مبلغ کل میلیون ریال
۱	بازاریابی، تبلیغات و فروش	۵٪	۶,۳۹۸,۳۸۷	۳۱۹,۹۱۹
مجموع هزینه های بازاریابی و تبلیغات				۳۱۹,۹۱۹

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندي

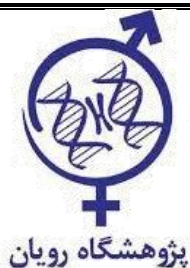
۳-۱۴- هزینه های ثابت و متغیر

هزینه های ثابت

هزینه های ثابت، مخارجی هستند که با تغییر سطح تولید تغییر نمی کنند. هر چند با به صفر رسیدن میزان تولید (تعطیلی کارخانه) بعضی اقلام هزینه ثابت حذف می شوند ولی در تجزیه و تحلیل های مالی با توجه به کوتاه مدت بودن وقفه فوق، می توان فرض کرد که چنین هزینه هایی وجود دارند. از بارزترین مثال های چنین هزینه هایی، هزینه استهلاک و هزینه تسهیلات دریافتی می باشند. برخی اقلام هزینه ای نیز کاملاً ثابت نیستند ولی تا حدودی ماهیت ثابت دارند. به عنوان مثال هزینه حقوق کارکنان دفتر مرکزی و اداری واحد بستگی به میزان تولید ندارد. همچنین با تغییرات جزئی در مقدار تولید، هزینه حقوق پرسنل تولیدی نیز ثابت است.

هزینه های متغیر

هزینه های متغیر اقلامی از هزینه هستند که با تغییر سطح تولید تغییر می کنند، به عنوان مثال هر چه مقدار تولید بیشتر شود، مواد اولیه بیشتری مورد نیاز است. در این بخش نیز برخی اقلام نسبت به ظرفیت تولید تغییر می کنند، ولی بستگی آنها ۱۰۰ درصد نمی باشد. به عنوان مثال با افزایش یا کاهش تولید در حد کم، هزینه حقوق کارکنان تغییر نمی کند ولی در صورتی که افزایش تولید منجر به اضافه کاری شود، هزینه حقوق افزایش می یابد و یا اگر تولید از حدی کمتر شود، به کاهش پرسنل منجر می شود و حقوق نیز کاهش می یابد.



مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

جدول ۳۶- هزینه های ثابت و متغیر

ردیف	شرح	هزینه های ثابت و متغیر				
		درصد		کل هزینه ثابت		کل هزینه ها
		ثابت/کل	کل	متغیر/کل	کل	کل هزینه ها
۱	هزینه های مواد اولیه و مصرفی	۰٪	۰	۱۰۰٪	۳,۱۹۶,۹۶۱	۳,۱۹۶,۹۶۱
۲	هزینه های تأمین انرژی	۲۰٪	۸۵۴	۸۰٪	۳,۴۱۸	۴,۲۷۲
۳	هزینه های سالیانه تعمیرات و نگهداری	۲۰٪	۹,۷۱۸	۸۰٪	۳۸,۸۷۳	۴۸,۵۹۲
۴	حقوق و دستمزد پرسنل مستقیم تولید	۷۰٪	۲۸,۴۶۹	۳۰٪	۱۲,۲۰۱	۴۰,۶۷۰
۵	حقوق و دستمزد پرسنل غیر مستقیم تولید	۷۰٪	۱۶,۲۸۶	۳۰٪	۶,۹۸۰	۲۳,۲۶۶
۶	هزینه های پیش بینی نشده	۵۰٪	۸۲,۸۴۴	۵۰٪	۸۲,۸۴۴	۱۶۵,۶۸۸
جمع هزینه های جاری (تولید)		****	۱۳۸,۱۷۲	****	۳,۴۱۸,۲۷۷	۳,۴۷۹,۴۴۹
۷	حقوق و دستمزد پرسنل اداری	۱۰۰٪	۵۷,۷۲۰	۰٪	۰	۵۷,۷۲۰
۸	هزینه های سربار اداری طرح	۶۰٪	۶۲,۶۳۰	۴۰٪	۴۱,۷۵۳	۱۰۴,۳۸۳
هزینه های عملیاتی		****	۲۵۸,۵۲۲	****	۳,۳۸۳,۰۳۰	۳,۶۴۱,۵۵۲
۹	هزینه های استهلاک	۱۰۰٪	۷۷,۳۳۱	۰٪	۰	۷۷,۳۳۱
۱۰	هزینه های بیمه داراییهای ثابت	۱۰۰٪	۱,۸۷۳	۰٪	۰	۱,۸۷۳
کل هزینه های جاری		****	۳۳۷,۷۲۷	****	۳,۳۸۳,۰۳۰	۳,۷۲۰,۷۵۷
۱۱	هزینه های بازاریابی، تبلیغات و فروش	۲۰٪	۶۳,۹۸۴	۸۰٪	۲۵۵,۹۳۵	۳۱۹,۹۱۹
کل هزینه تمام شده		****	۴۰۱,۷۱۱	****	۳,۶۳۸,۹۶۶	۴,۰۴۰,۶۷۶



پژوهشگاه رویان

**مطالعات امکان سنجی احداث واحد
تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای
محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)**

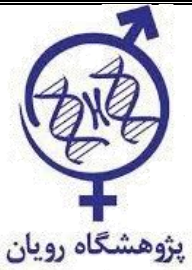
مالک طرح:

پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:

جناب آقای دکتر قاندى

مطالعات مالی

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	--	---

فصل چهارم: ارزیابی مالی

فصل چهارم: مطالعات مالی

۱-۴- خلاصه پیش بینی های مالی گزارش در مورد طرح های با تسهیلات ریالی

بهره برداری تجاری از طرح از سال ۱۴۰۴ آغاز می شود. سال مبنای طرح، یک سال پس از دستیابی به حداکثر ظرفیت تولید عملی، می باشد.

بر اساس محاسبات انجام شده، نرخ بازده داخلی طرح با در نظر گرفتن ۱۰ سال عمر مفید از شروع بهره برداری معادل ۶۰٫۰۸٪ می باشد.

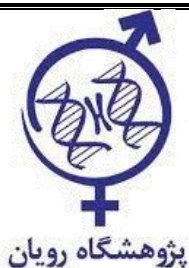
 پژوهشگاه رویان	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	--	---

۲-۴- هزینه‌های طرح و نحوه تأمین منابع آن

جدول ۳۷- هزینه های طرح و منابع تأمین

درصد	جمع	مورد نیاز	انجام شده	هزینه‌های طرح :
۵۱٪	۱,۱۲۰,۴۹۱	۱,۱۲۰,۴۹۱	۰	دارایی‌های ثابت
۰٪	۵,۴۸۱	۵,۴۸۱	۰	هزینه‌های قبل از بهره‌برداری
۵۱٪	۱,۱۲۵,۹۷۲	۱,۱۲۵,۹۷۲	۰	جمع هزینه‌های ثابت
۴۹٪	۱,۰۸۹,۸۳۰	۱,۰۸۹,۸۳۰	۰	سرمایه در گردش
۱۰۰٪	۲,۲۱۵,۸۰۲	۲,۲۱۵,۸۰۲	۰	جمع هزینه‌های طرح
۱۰۰٪	۲,۲۱۵,۸۰۲	۲,۲۱۵,۸۰۲	۰	جمع
	۰			<u>منابع تأمین :</u>
۰٪	۰	۰	۰	سرمایه پرداخت شده **
۱۰۰٪	۲,۲۱۵,۸۰۲	۲,۲۱۵,۸۰۲	۰	جاری سهامداران
۱۰۰٪	۲,۲۱۵,۸۰۲	۲,۲۱۵,۸۰۲	۰	جمع

هزینه های سرمایه گذاری کل ۲,۲۱۵,۸۰۲ میلیون ریال، شامل سرمایه در گردش مبلغ ۱,۰۸۹,۸۳۰ میلیون ریال دارایی‌های ثابت ۱,۱۲۰,۴۹۱ میلیون ریال و هزینه های قبل از بهره برداری کامل به مبلغ ۵,۴۸۱ میلیون ریال بوده است.



مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

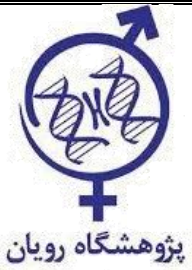
مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

۳-۴- سرمایه در گردش

جدول ۳۸- هزینه های سرمایه در گردش در طرح (میلیون ریال)

ردیف	شرح	سال اول بهره برداری		سال دوم بهره برداری		سال سوم بهره برداری		سال چهارم بهره برداری	
		٪۲۰	ظرفیت	٪۳۰	ظرفیت	٪۴۰	ظرفیت	٪۵۰	ظرفیت
۱	کل موجودی کالا	۸۲,۶۴۷		۱۲۱,۱۹۹		۱۶۰,۰۹۱		۱۹۸,۶۴۳	
۱	حسابهای دریافتی	۱۴۰,۴۳۶		۲۰۵,۱۱۱		۲۷۰,۴۶۷		۳۳۵,۱۴۱	
۲	موجودی نقد	۱۱,۵۳۲		۱۴,۵۲۷		۱۷,۸۶۲		۲۰,۸۵۶	
	کل سرمایه در گردش مورد نیاز	۲۳۴,۶۱۵		۳۴۰,۸۳۶		۴۴۸,۴۱۹		۵۵۴,۶۴۰	

ردیف	شرح	سال پنجم بهره برداری		سال ششم بهره برداری		سال هفتم بهره برداری		سال هشتم بهره برداری		سال نهم بهره برداری	
		٪۶۰	ظرفیت	٪۷۰	ظرفیت	٪۸۰	ظرفیت	٪۹۰	ظرفیت	٪۱۰۰	ظرفیت
۱	کل موجودی کالا	۲۳۷,۵۳۵		۲۷۶,۰۸۷		۳۱۴,۹۷۹		۳۹۲,۴۲۳		۳۹۲,۴۲۳	
۱	حسابهای دریافتی	۴۰۰,۴۹۷		۴۶۵,۱۷۲		۵۳۰,۵۲۷		۶۶۰,۵۵۸		۶۶۰,۵۵۸	
۲	موجودی نقد	۲۴,۱۹۱		۲۷,۱۸۵		۳۰,۵۲۰		۳۶,۸۴۹		۳۶,۸۴۹	
	کل سرمایه در گردش مورد نیاز	۶۶۲,۲۲۳		۷۶۸,۴۴۵		۸۷۶,۰۲۷		۱,۰۸۹,۵۳۰		۱,۰۸۹,۵۳۰	

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی
		مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى

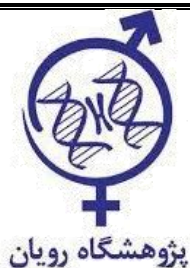
۴-۴- نتیجه و پیشنهاد

- بهره برداری تجاری از طرح، از سال ۱۴۰۴ آغاز و تا پایان عمر پروژه افزایش می یابد.

هزینه های سرمایه گذاری کل ۲،۲۱۵،۸۰۲ میلیون ریال، شامل سرمایه در گردش مبلغ ۱،۰۸۹،۸۳۰ میلیون ریال دارایی های ثابت ۱،۱۲۰،۴۹۱ میلیون ریال و هزینه های قبل از بهره برداری کامل به مبلغ ۵،۴۸۱ میلیون ریال بوده است.

در صورت تحقق مفروضات و پیش بینی های انجام شده در اجرای طرح مورد بررسی از سودآوری مناسب برخوردار خواهد بود و نسبت های مالی در وضعیت مناسب قرار داشته و نرخ بازده داخلی طرح، با در نظر گرفتن ۱۰ سال عمر مفید ۶۰/۰۸ درصد برآورد گردیده است.

با توجه به موارد مندرج در بخش فنی و مالی و با در نظر گرفتن استانداردهای فنی و نیز تحلیل نسبت های مالی شامل: سودآوری، فعالیت، جاری و سایر نسبت ها، اجرای پروژه از توجیه کامل فنی و مالی برخوردار می باشد.



مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

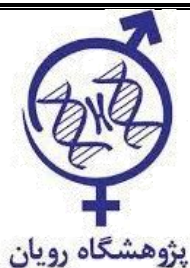
مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

۴-۵- جداول مالی

جدول ۳۹- ترازنامه (میلیون ریال)

تراز نامه پیش بینی شده میلیون ریال							
۱۴۱۰	۱۴۰۹	۱۴۰۸	۱۴۰۷	۱۴۰۶	۱۴۰۵	۱۴۰۴	۱۴۰۳
۸,۹۸۹,۱۰۴,۳۷	۷,۲۰۹,۱۲۸,۰۸	۵,۶۵۳,۴۴۸,۱۳	۴,۲۲۴,۰۰۴,۲۳	۳,۲۱۸,۸۵۶,۶۷	۲,۳۳۸,۹۵۸,۵۷	۱,۶۸۳,۳۵۶,۸۲	۱,۱۲۵,۹۷۱,۷۷
کل داراییها							
۸,۴۰۹,۹۳۱,۴۹	۶,۵۵۲,۶۲۴,۰۸	۴,۹۱۹,۶۱۳,۰۰	۳,۵۱۱,۷۴۱,۷۷	۲,۳۲۸,۱۶۶,۸۸	۱,۳۶۹,۸۴۱,۴۵	۶۳۵,۸۱۲,۳۷	۰,۰۰
۵۷۹,۱۷۲,۸۷	۶۵۶,۵۰۴,۰۰	۷۳۳,۸۳۵,۱۳	۸۱۲,۲۶۲,۴۶	۸۹۰,۶۸۹,۷۹	۹۶۹,۱۱۷,۱۲	۱,۰۴۷,۵۴۴,۴۵	۱,۱۲۵,۹۷۱,۷۷
۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰
۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰
کل بدهی ها							
۸,۹۸۹,۱۰۴,۳۷	۷,۲۰۹,۱۲۸,۰۸	۵,۶۵۳,۴۴۸,۱۳	۴,۲۲۴,۰۰۴,۲۳	۳,۲۱۸,۸۵۶,۶۷	۲,۳۳۸,۹۵۸,۵۷	۱,۶۸۳,۳۵۶,۸۲	۱,۱۲۵,۹۷۱,۷۷
۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰
۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰
۲,۰۰۱,۹۹۸,۳۲	۱,۸۹۴,۴۱۵,۶۶	۱,۷۸۸,۱۹۴,۶۱	۱,۶۸۰,۶۱۱,۹۵	۱,۵۷۴,۳۹۰,۸۹	۱,۴۶۶,۸۰۸,۲۴	۱,۳۶۰,۵۸۷,۱۸	۱,۱۲۵,۹۷۱,۷۷
۵,۳۱۴,۷۱۲,۴۲	۳,۸۶۵,۲۵۳,۵۳	۲,۶۴۳,۲۹۲,۲۸	۱,۶۴۴,۴۶۵,۷۸	۸۷۲,۱۵۰,۳۳	۳۲۲,۷۶۹,۶۴	۰,۰۰	۰,۰۰
۱,۶۷۲,۳۹۳,۶۳	۱,۴۴۹,۴۵۸,۸۹	۱,۲۲۱,۸۶۱,۲۵	۹۹۸,۹۲۶,۵۰	۷۷۲,۳۱۵,۴۴	۵۴۹,۳۸۰,۷۰	۳۲۲,۷۶۹,۶۴	۰,۰۰
۸,۹۸۹,۱۰۴,۳۷	۷,۲۰۹,۱۲۸,۰۸	۵,۶۵۳,۴۴۸,۱۳	۴,۲۲۴,۰۰۴,۲۳	۳,۲۱۸,۸۵۶,۶۷	۲,۳۳۸,۹۵۸,۵۷	۱,۶۸۳,۳۵۶,۸۲	۱,۱۲۵,۹۷۱,۷۷
ثروت خالص نسبتها							
۲۲,۲۷	۲۶,۳۸	۳۱,۶۳	۳۸,۸۷	۴۸,۹۱	۶۲,۷۱	۸۰,۸۳	۱۰۰,۰۰
۱۰۰,۰۰	۱۰۰,۰۰	۱۰۰,۰۰	۱۰۰,۰۰	۱۰۰,۰۰	۱۰۰,۰۰	۱۰۰,۰۰	۱۰۰,۰۰
۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰
۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰

تراز نامه پیش بینی شده میلیون ریال			
۱۴۱۳	۱۴۱۲	۱۴۱۱	
۱۵,۳۴۵,۷۹۱,۶۵	۱۳,۲۲۳,۸۵۲,۲۱	۱۰,۹۹۴,۳۳۰,۱۲	کل داراییها
۱۴,۹۹۸,۶۱۲,۱۶	۱۲,۷۹۹,۳۴۱,۵۹	۱۰,۴۹۲,۴۸۸,۳۷	کل داراییهای جاری
۳۴۷,۱۷۹,۴۹	۴۲۴,۵۱۰,۶۲	۵۰۱,۸۴۱,۷۵	کل داراییهای ثابت، خالص از استهلاک
۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	زبان انباشته قابل انتقال به سالیهای آتی
۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	زبان در سال جاری
۱۵,۳۴۵,۷۹۱,۶۵	۱۳,۲۲۳,۸۵۲,۲۱	۱۰,۹۹۴,۳۳۰,۱۲	کل بدهی ها
۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	کل بدهی های جاری
۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	کل بدهی های بلند مدت
۲,۲۱۵,۸۰۲,۰۳	۲,۲۱۵,۸۰۲,۰۳	۲,۱۰۸,۲۱۹,۳۷	کل حقوق صاحبان سهام
۱۱,۰۰۸,۵۰۰,۱۸	۸,۸۸۶,۱۱۰,۷۴	۶,۹۸۷,۱۰۶,۰۵	ذخایر، سود انباشته اول دوره
۲,۱۲۱,۹۳۹,۴۴	۲,۱۲۱,۹۳۹,۴۴	۱,۸۹۹,۰۰۴,۶۹	سود باقیمانده
۱۵,۳۴۵,۷۹۱,۶۵	۱۳,۲۲۳,۸۵۲,۲۱	۱۰,۹۹۴,۳۳۰,۱۲	ثروت خالص نسبتها
۱۴,۴۴	۱۶,۷۶	۱۹,۱۸	نسبت حقوق صاحبان سهام به کل بدهی ها (%)
۱۰۰,۰۰	۱۰۰,۰۰	۱۰۰,۰۰	نسبت ثروت خالص به کل بدهی ها (%)
۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	نسبت بدهی بلند مدت به ثروت خالص
۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	نسبت داراییهای جاری به بدهی های جاری



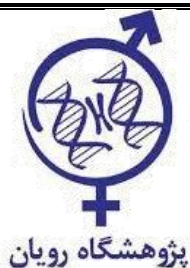
مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

جدول ۴۰ - صورت سود و زیان (میلیون ریال)

صورت حساب سود و زیان میلیون ریال								
بهره برداری ۱۴۰۴	بهره برداری ۱۴۰۵	بهره برداری ۱۴۰۶	بهره برداری ۱۴۰۷	بهره برداری ۱۴۰۸	بهره برداری ۱۴۰۹	بهره برداری ۱۴۱۰	بهره برداری ۱۴۱۱	
درآمد فروش	۱,۲۷۹,۶۷۷,۳۹	۱,۹۱۹,۵۱۶,۰۸	۲,۵۵۹,۳۵۴,۷۸	۳,۱۹۹,۱۹۳,۴۷	۳,۸۳۹,۰۳۲,۱۶	۴,۴۷۸,۸۷۰,۸۶	۵,۱۱۸,۷۰۹,۵۵	۵,۷۵۸,۵۴۸,۲۵
منهای هزینه های متغیر	۹۳,۹۸۴,۷۳	۱۳۷,۴۸۷,۲۵	۱۸۰,۹۸۹,۷۸	۲۲۴,۴۹۲,۳۰	۲۶۷,۹۹۴,۸۲	۳۱۱,۴۹۷,۳۵	۳۵۴,۹۹۹,۸۷	۳۹۸,۵۰۲,۴۰
حاشیه سود	۱,۱۸۵,۶۹۲,۶۶	۱,۷۸۲,۰۲۸,۸۳	۲,۳۷۸,۳۶۵,۰۰	۲,۹۷۴,۷۰۱,۱۷	۳,۵۷۱,۰۳۷,۳۴	۴,۱۶۷,۳۷۳,۵۱	۴,۷۶۳,۷۰۹,۶۸	۵,۳۶۰,۰۴۵,۸۵
% از درآمد فروش	۹۲,۶۶	۹۲,۸۴	۹۲,۹۳	۹۲,۹۸	۹۳,۰۲	۹۳,۰۵	۹۳,۰۶	۹۳,۰۸
منهای هزینه های ثابت	۸۲۷,۰۵۹,۷۳	۱,۱۷۱,۶۰۵,۵۸	۱,۵۲۰,۲۳۶,۷۳	۱,۸۶۴,۷۸۲,۸۳	۲,۲۱۳,۴۱۳,۷۳	۲,۵۵۶,۸۶۳,۶۳	۲,۹۰۵,۴۹۴,۵۳	۳,۲۵۰,۰۴۰,۶۳
حاشیه عملیاتی	۳۵۸,۶۳۲,۹۳	۶۱۰,۴۲۳,۰۰	۸۵۸,۱۲۸,۲۷	۱,۱۰۹,۹۱۸,۳۴	۱,۳۵۷,۶۲۳,۶۱	۱,۶۱۰,۵۰۹,۸۸	۱,۸۵۸,۲۱۵,۱۵	۲,۱۱۰,۰۰۵,۲۲
% از درآمد فروش	۲۸,۰۳	۳۱,۸۰	۳۳,۵۳	۳۴,۶۹	۳۵,۳۶	۳۵,۹۶	۳۶,۳۰	۳۶,۶۴
بهره سپرده های کوتاه مدت	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰
هزینه های تامین مالی	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰
سود ناخالص عملیاتی	۳۵۸,۶۳۲,۹۳	۶۱۰,۴۲۳,۰۰	۸۵۸,۱۲۸,۲۷	۱,۱۰۹,۹۱۸,۳۴	۱,۳۵۷,۶۲۳,۶۱	۱,۶۱۰,۵۰۹,۸۸	۱,۸۵۸,۲۱۵,۱۵	۲,۱۱۰,۰۰۵,۲۲
% از درآمد فروش	۲۸,۰۳	۳۱,۸۰	۳۳,۵۳	۳۴,۶۹	۳۵,۳۶	۳۵,۹۶	۳۶,۳۰	۳۶,۶۴
درآمد غیر مترقبه	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰
زیان غیر مترقبه	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰
ذخایر استهلاک	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰
سود ناخالص	۳۵۸,۶۳۲,۹۳	۶۱۰,۴۲۳,۰۰	۸۵۸,۱۲۸,۲۷	۱,۱۰۹,۹۱۸,۳۴	۱,۳۵۷,۶۲۳,۶۱	۱,۶۱۰,۵۰۹,۸۸	۱,۸۵۸,۲۱۵,۱۵	۲,۱۱۰,۰۰۵,۲۲
ذخایر سرمایه گذاری	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰
سود مسئول مالیات	۳۵۸,۶۳۲,۹۳	۶۱۰,۴۲۳,۰۰	۸۵۸,۱۲۸,۲۷	۱,۱۰۹,۹۱۸,۳۴	۱,۳۵۷,۶۲۳,۶۱	۱,۶۱۰,۵۰۹,۸۸	۱,۸۵۸,۲۱۵,۱۵	۲,۱۱۰,۰۰۵,۲۲
مالیات بر درآمد (شرکت)	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰	۰,۰۰
سود خالص	۳۵۸,۶۳۲,۹۳	۶۱۰,۴۲۳,۰۰	۸۵۸,۱۲۸,۲۷	۱,۱۰۹,۹۱۸,۳۴	۱,۳۵۷,۶۲۳,۶۱	۱,۶۱۰,۵۰۹,۸۸	۱,۸۵۸,۲۱۵,۱۵	۲,۱۱۰,۰۰۵,۲۲
% از درآمد فروش	۲۸,۰۳	۳۱,۸۰	۳۳,۵۳	۳۴,۶۹	۳۵,۳۶	۳۵,۹۶	۳۶,۳۰	۳۶,۶۴
سود سهام	۳۵۸,۶۳۲,۹۳	۶۱۰,۴۲۳,۰۰	۸۵۸,۱۲۸,۲۷	۱,۱۰۹,۹۱۸,۳۴	۱,۳۵۷,۶۲۳,۶۱	۱,۶۱۰,۵۰۹,۸۸	۱,۸۵۸,۲۱۵,۱۵	۲,۱۱۰,۰۰۵,۲۲
سود باقیمانده	۳۲۲,۷۶۹,۶۴	۵۴۹,۳۸۰,۷۰	۷۷۲,۳۱۵,۴۴	۹۹۸,۹۲۶,۵۰	۱,۲۲۱,۸۶۱,۲۵	۱,۴۴۹,۳۵۸,۸۹	۱,۶۷۲,۳۹۳,۶۳	۱,۸۹۹,۰۰۴,۶۹
نسبتها								
نسبت سود خالص به حقوق صاحبان سهام (%)	۲۶,۳۶	۴۱,۶۲	۵۴,۵۱	۶۶,۰۴	۷۵,۹۲	۸۵,۰۱	۹۲,۸۲	۱۰۰,۰۸
نسبت سود خالص به ثروت خالص (%)	۲۱,۳۰	۲۶,۱۰	۲۶,۶۶	۲۵,۶۷	۲۴,۰۱	۲۲,۳۴	۲۰,۶۷	۱۹,۱۹
نسبت سود - بهره به سرمایه گذاری (%)	۲۶,۳۶	۴۱,۶۲	۵۴,۵۱	۶۶,۰۴	۷۵,۹۲	۸۵,۰۱	۹۲,۸۲	۱۰۰,۰۸

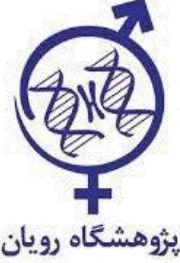


مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر درمانگر گاما (کلستروم پلاس)

مالک طرح:
پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی

مدیر پروژه:
جناب آقای دکتر قاندى

صورتحساب سود و زیان میلیون ریال		
بهره برداری ۱۴۱۲	بهره برداری ۱۴۱۳	
۶,۳۹۸,۳۸۶,۹۴	۶,۳۹۸,۳۸۶,۹۴	درآمد فروش
۴۴۲,۰۰۴,۹۲	۴۴۲,۰۰۴,۹۲	منهای هزینه های متغیر
۵,۹۵۶,۳۸۲,۰۲	۵,۹۵۶,۳۸۲,۰۲	حاشیه سود
۹۳,۰۹	۹۳,۰۹	% از درآمد فروش
۳,۵۹۸,۶۷۱,۵۴	۳,۵۹۸,۶۷۱,۵۴	منهای هزینه های ثابت
۲,۳۵۷,۷۱۰,۴۹	۲,۳۵۷,۷۱۰,۴۹	حاشیه عملیاتی
۳۶,۸۵	۳۶,۸۵	% از درآمد فروش
۰,۰۰	۰,۰۰	بهره سپرده های کوتاه مدت
۰,۰۰	۰,۰۰	هزینه های تامین مالی
۲,۳۵۷,۷۱۰,۴۹	۲,۳۵۷,۷۱۰,۴۹	سود ناخالص عملیاتی
۳۶,۸۵	۳۶,۸۵	% از درآمد فروش
۰,۰۰	۰,۰۰	درآمد غیر مترقبه
۰,۰۰	۰,۰۰	زیان غیر مترقبه
۰,۰۰	۰,۰۰	ذخایر استهلاک
۲,۳۵۷,۷۱۰,۴۹	۲,۳۵۷,۷۱۰,۴۹	سود ناخالص
۰,۰۰	۰,۰۰	ذخایر سرمایه گذاری
۲,۳۵۷,۷۱۰,۴۹	۲,۳۵۷,۷۱۰,۴۹	سود مشمول مالیات
۰,۰۰	۰,۰۰	مالیات بر درآمد (شرکت)
۲,۳۵۷,۷۱۰,۴۹	۲,۳۵۷,۷۱۰,۴۹	سود خالص
۳۶,۸۵	۳۶,۸۵	% از درآمد فروش
۲۳۵,۷۷۱,۰۵	۲۳۵,۷۷۱,۰۵	سود سهام
۲,۱۲۱,۹۳۹,۴۴	۲,۱۲۱,۹۳۹,۴۴	سود باقیمانده
۱۰۶,۴۰	۱۰۶,۴۰	نسبتها
۱۵,۳۶	۱۷,۸۳	نسبت سود خالص به حقوق صاحبان سهام (%)
۱۰۶,۴۰	۱۰۶,۴۰	نسبت سود خالص به ثروت خالص (%)
		نسبت سود+ بهره به سرمایه گذاری (%)

	مطالعات امکان سنجی احداث واحد تولید ماده موثره حاوی آنتی بادی برای محصول خمیر در مانگر گاما (کلستروم پلاس)	مالک طرح: پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی مدیر پروژه: جناب آقای دکتر قاندى
--	--	---

محاسبات کامفار