

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
“КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ”**

Факультет біотехнології і біотехніки
(повна назва інституту/факультету)

Кафедра промислової біотехнології
(повна назва кафедри)

Дипломний проект

на здобуття ступеня бакалавра

зі спеціальності 6.051401 Біотехнологія
(код та назва напрямку підготовки або спеціальності)

на тему: Технологія виробництва інактивованої вакцини проти рожі свиней.
Дільниця біосинтезу

Виконавця: студентка 4 курсу, групи БТ-11
(шифр групи)

Молочко Марина Вікторівна
(прізвище, ім'я, по батькові)

Керівник ст.викл. Дзигун Лариса Петрівна
(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Консультанти Розділ 5 доц., к.т.н. Ружинська Л.І.
(назва розділу) (посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище, ініціали)

Розділ 6 доц., к.т.н. Орленко А.Т.
(назва розділу) (посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище, ініціали)

Рецензент ст.викл. к.т.н. Щурська К.О.
(посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище та ініціали)

Київ – 2015 року

Рожа є однією з найбільш поширених хвороб свиней в світі, що підтверджується даними вітчизняних та закордонних дослідників.

Основним методом попередження як масових спалахів, так і окремих випадків захворювання рожі свиней у господарствах лишається специфічна імунопрофілактика. Для специфічної імунопрофілактики як в Україні, так і за кордоном розроблено і запропоновано широкий спектр живих та інактивованих вакцин проти рожі свиней.

Оскільки живі вакцини несуть у собі потенційну небезпеку відновлення патогенності, і на фоні імуносупресивних станів можуть провокувати виникнення хронічних форм рожі, в усьому світі поступово переходять на вакцини інактивовані, які не містять живого патогену.

Тому метою даного проекту було розробити технологію виробництва інактивованої вакцини проти рожі свиней за рахунок підбору високоімуногенних штамів з урахуванням їх культуральних, антигенних та молекулярно-біологічних особливостей, оптимізації складу поживних середовищ та режимів культивування бактерій рожі для забезпечення максимального накопичення біомаси, придатної для створення інактивованої вакцини.

Завдання для дипломного проекту:

1. Підібрати та охарактеризувати промисловий штам для виробництва інактивованої вакцини проти рожі свиней.
2. Навести характеристику кінцевого продукту виробництва та розглянути механізми впливу цільового продукту на біохімічні процеси.
3. Підібрати оптимальні умови та склад поживного середовища для проведення процесу біосинтезу.
4. Обрати та розрахувати ферментер, який буде задовольняти параметри проведення процесу.
5. Розробити технологічну та апаратурну схеми для виробництва інактивованої вакцини. Скласти матеріальний баланс стадії біосинтезу.

6. Розглянути ризики, які можуть виникнути під час виробництва інактивованої вакцини, та передбачити заходи і засоби, направлені на створення на об'єкті здорових, безпечних умов праці та пожежної безпеки.

Збудником хвороби рожі свиней є бактерія роду *Erysipelothrix* - *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

Це прямий або злегка зігнутий, тонкий, паличкоподібної форми мікроорганізм, розмір якого становить від 0,2 до 0,4 мкм в діаметрі і від 0,8 до 2,5 мкм в довжину. Неспороутворюючий та нерухомий. Грампозитивний.

Ріст відбувається при температурах в діапазоні від 5 до 44 °С, з оптимальною температурою від 30 до 37 °С, і при значеннях рН від 7,2 до 7,6.

У збудника виділяють S і R-форми. Клітини колоній S-форми мають розміри від 0,3 до 0,6 та 0,8 до 2,5, мкм, в той час, як організми R-форми можуть утворювати довгі нитки більше 60 мкм в довжину.

У всіх представників цього виду є групові антигени та специфічні антигени. У серологічному відношенні бактерії бешихи поділяються на кілька груп, всі вони містять один загальний видовий антиген, а крім того, ще два гаптена. Залежно від наявності та переважання того чи іншого гаптена всі штами діляться на два основних типи: А і В.

В даній технології для виробництва інактивованої вакцини було вибрано штам М2-ВК.

Аналоги даного штаму (419, 1933, 251, М-2) на основі яких також виготовляють інактивовану гідроокис алюмінієву формолвакцину проти рожі свиней, мають середні ростові властивості в порівнянні з вибраним штамом, тому існує потреба додаткового концентрування при виготовленні вакцини.

Обраний штам М2-ВК має високу імуногенну активність, володіє стабільними морфологічними та культурально-біохімічними властивостями, високою потенцією росту, яка сприяє отриманню великої кількості біомаси для виготовлення вакцини, що визначає рентабельне її виробництво.

Так як збудник бешихи свиней *Erysipelothrix rhusiopathiae* є культурою, вимогливою до умов живлення і при активації штаму після тривалого

зберігання велике значення має швидкість нарощування біомаси то як правило, для наукових і комерційних цілей застосовують традиційні поживні середовища на основі м'ясної сировини. М'ясопептонний бульйон (МПБ) і м'ясопептонний агар (МПА) з переварення Хоттінгера забезпечують хороший ріст мікроорганізмів без зміни їх культуральних і біологічних властивостей.

В якості середовища для накопичення мікробної маси штаму у ферментері було обрано модифіковане середовище Фейста, максимальне накопичення бактерій штаму M2-BK ($9,8\text{--}11,4 \times 10^9$ КУО в 1 см^3) в якому проходить на 18 годину.

Компонентний склад даної вакцини наступний:

Активні речовини до інактивації:

- збудник рожі свиней штам M2-BK $\geq 1 \cdot 10^{10}$ КУО в 1 см^3 .

Допоміжні речовини:

- ад'ювант - гель гідроокису алюмінію – 12г/л;
- інактивант – формальдегід $\leq 0,6$ г/л;
- консервант – мертиолят натрію;
- фізіологічний розчин – для створення необхідної концентрації штаму.

Оскільки завданням даного проекту була розробка ділянки біосинтезу було підібрано і спроектовано ферментер для накопичення мікробної маси штаму.

До ферментеру висувається ряд вимог для створення оптимальних умов росту бактеріальної культури:

- підтримання певного значення рН;
- забезпечення аерації та інтенсивне диспергування повітря;
- відвід тепла, що виділяється в процесі ферментації;
- забезпечення стерильності.

Обраний ферментер об'ємом 25 л задовольняє поставлені умови.

Ферментер оснащений рубашкою з холодним теплоносієм, в якості якого обрано воду. Сорочка має штуцери для вводу і виводу теплоносія.

Апарат оснащений установкою для термометра, заміром тиску, датчиком рН-метра.

Враховуючи тепловий розрахунок ферментеру середовище не вимагає ні обігріву, ні охолодження. За режиму роботи ферментеру при температурі 37°C теплоносій в сорочку не подається.

Проте в виробничому процесі є необхідність використання ферментеру з сорочкою для охолодження поживного середовища після стерилізації, а також на етапі отримання анакультур для зберігання інактивованого штаму протягом визначення повтоти інактивації.

Проведений розрахунок підтверджує надійність обраної конструкції та забезпечення відповідного контролю параметрів.

Також було підібрано апаратурну та технологічну схеми лінії виробництва інактивованої вакини, що враховують особливості технології даного виробництва та включають параметри контролю, виконання яких забезпечує належну якість продукції та безпеку персоналу.

Враховуючи те, що продуцент є збудником захворювання рожі свиней, а також доведено його патогенність і для людини, необхідно дотримуватися особливих природоохоронних заходів, а також умов роботи персоналу з умовно-патогенними мікроорганізмами.

Відповідно до нормативно-технічної документації, даний продуцент відносять до 3 класу небезпеки. Такі мікроорганізми при порушенні ведення технологічного процесу, санітарно-гігієнічних умов праці можуть надавати несприятливий вплив на організм працюючих і приводити до алергії.

Обов'язковим і необхідним є проведення мікробіологічного моніторингу виробничого середовища, основна мета якого - гарантія стабільності асептичних умов виробництва, виявлення відхилень і вироблення коригувальних дій у разі виявлення нестерильної (невідповідною) продукції та загрози для здоров'я персоналу.

Проект виконується з урахуванням вимог охорони праці, пожежобезпеки та екологічної безпеки.

На основі аналізу шкідливих та небезпечних виробничих факторів нами передбачено заходи і засоби щодо створення на даному підприємстві безпечних умов праці та пожежної безпеки.

Висновок

В дипломній роботі розглянуто технологію виробництва інактивованої вакцини проти рожі свиней.

1. Для виробничого культивування обрано штам *Erysipelothrix rhusiopathiae* M2-ВК, який має найвищі імуногенні властивості в порівнянні з іншими штамми.
2. Для активації штаму після зберігання запропоновані традиційні поживні середовища на основі м'ясної сировини – м'ясопептонний бульйон та м'ясопептонний агар з переварення Хоттінгера, а в якості середовища для накопичення мікробної маси штаму у ферментері було обрано модифіковане середовище Фейста, в якому максимальне накопичення біомаси штаму M2-ВК відбувається вже на 18 годину культивування.
3. Розроблені апаратурна та технологічна схеми лінії виробництва інактивованої вакцини враховують особливості технології даного виробництва та включають параметри контролю, виконання яких забезпечує належну якість продукції та безпеку персоналу.
4. Для виробничого культивування було підбрано та розраховано ферментер об'ємом $0,025\text{м}^3$, який забезпечує оптимальні умови росту бактеріальної культури. Технологічний, конструктивний та гідравлічний розрахунки апарату підтверджують надійність обраної конструкції.
5. Проект виконано з урахуванням вимог охорони праці, пожежної та екологічної безпеки, проаналізовано шкідливі та небезпечні фактори виробництва та запропоновано методи їх попередження та уникнення в умовах виробництва.