

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**  
**Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю**  
**Кафедра біотехнології і мікробіології**

**«До захисту в ЕК»**  
Директор інституту (декан факультету)  
\_\_\_\_\_ Наталія ГРЕГІРЧАК  
(підпис) (ім'я та прізвище)

«\_\_» \_\_ червня \_\_\_\_\_ 2024 р.

**«До захисту допущено»**  
Завідувач кафедри  
\_\_\_\_\_ Віктор СТАБНІКОВ  
(підпис) (ім'я та прізвище)

«\_\_» \_\_ червня \_\_\_\_\_ 2024 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**  
**НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА**

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»  
(код та назва спеціальності)

освітньо-професійної програми «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна»

на тему: «Культивування *Mycobacterium tuberculosis* для одержання туберкуліну»

Виконала: здобувачка IV курсу, групи I


\_\_\_\_\_ КОСЯК Анна Юріївна  
(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

Керівник \_\_\_\_\_ ПЕНЧУК Юрій Миколайович  
(прізвище, ім'я та по батькові повністю)

Консультанти

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище)

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище)

\_\_\_\_\_   
(підпис)

\_\_\_\_\_ (підпис)


\_\_\_\_\_ (підпис)

\_\_\_\_\_ (підпис)

Рецензент \_\_\_\_\_ Юлія ЦЕЙСЛЕР  
(ім'я та прізвище)

\_\_\_\_\_ (підпис)

Я, як здобувачка Національного університету харчових технологій, розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавала і не одержувала недозволеної допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Здобувач \_\_\_\_\_   
(підпис)

Київ – 2024 р.

# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна»

(назва)

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 01 ” березня 2024 року

## З А В Д А Н Н Я

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

КОСЯК Анни Юріївни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Культивування *Mycobacterium tuberculosis* для одержання туберкуліну»

керівник роботи: ПЕНЧУК Юрій Миколайович, доцент, к.т.н.  
( прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 29 березня 2024 року № 238-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 28 травня 2024 р.

3. Вихідні дані до роботи: біологічний агент: *Mycobacterium tuberculosis*; цільовий продукт: туберкулін; геометричний об'єм ферментера: 20 л; коефіцієнт заповнення: 0,6

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): *Характеристика цільового продукту; обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента; техніко-економічне обґрунтування; біосинтез цільового продукту обґрунтування вибору технологічної схеми; специфікація обладнання; опис технологічної схеми; контроль виробництва, охорона довкілля.*

5. Перелік графічного матеріалу:

Технологічна схема - 1 аркуш формату А2 \_\_\_\_\_

Апаратна схема - 1 аркуш формату А3 \_\_\_\_\_

## 6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання 01.03.2024р.

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1.	Характеристика цільового продукту	01.03.24 – 03.03.24	
2.	Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	04.03.24- 10.03.24	
3.	Техніко-економічне обґрунтування	11.03.24- 15.03.24	
4.	Біосинтез цільового продукту	16.03.24- 25.03.24	
5.	Обґрунтування вибору технологічної схеми	26.03.24- 01.04.24	
6.	Специфікація обладнання	02.04.24- 05.04.24	
7.	Опис технологічної схеми	06.04.24- 15.04.24	
8.	Контроль виробництва	16.04.24- 25.04.24	
9.	Охорона довкілля	26.04.24- 07.05.24	
10.	Оформлення кваліфікаційної роботи	08.05.24- 28.05.24	

Здобувач

  
\_\_\_\_\_  
(підпис)

Анна КОСЯК

\_\_\_\_\_  
(ім'я та прізвище)

Керівник роботи

\_\_\_\_\_  
(підпис)

Юрій ПЕНЧУК

\_\_\_\_\_  
(ім'я та прізвище)

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена розробці проекту культивування бактерії *Mycobacterium tuberculosis*, яка в подальшому використовується для виробництва діагностичного препарату «Туберкулін». Концентрація біомаси в процесі культивування максимально становить 3,88 г/л.

Технологія одержання біомаси передбачає культивування глибинним періодичним способом із використанням колб на качалках, для накопичення біомаси (підготовки інокуляту), та ферментеру для виробничого культивування, із коефіцієнтом заповнення 0,6.

У роботі розрахована річна потреба у цільовому продукті з урахуванням потреб внутрішнього ринку, потужність виробництва (доз/рік), кількості робочих днів виробництва у рік, кількість виробничих партій, об'єм КР, геометричний об'єм ферментаційного обладнання, кількість стадій підготовки посівного матеріалу. Обґрунтовано спосіб культивування, стадії підготовки аераційного повітря, спосіб підготовки та стерилізації поживного середовища. Наведено конкретні габарити розмірів і конструктивних особливостей обладнання. Викладено умови культивування, вибір допоміжних робіт для культивування продуценту, що включає блок допоміжних робіт, стадії підготовки посівного матеріалу та вирощування *Mycobacterium tuberculosis* у колбах на качалках та у виробничому ферментері. Описано основні стадії технологічного процесу із зазначенням параметрів, точок контролю та матеріальних потоків. Розроблені апаратурна та технологічна схеми процесів.

Робота складається зі вступу, дев'яти розділів, списку використаних джерел, а також графічної частини – технологічної схеми (формат А2) та апаратурної схеми виробництва (формат А3). Загальний обсяг роботи – 90 сторінок, 13 рисунків, 9 таблиць.

**Ключові слова:** *Mycobacterium tuberculosis*, туберкулін, туберкулінова проба, туберкулопротеїн.

## ABSTRACT

The qualification work is dedicated to the development of a project for cultivating the bacterium *Mycobacterium tuberculosis*, which is subsequently used for the production of the drug "Tuberculin." The maximum biomass concentration during the cultivation process is 3.88 g/L.

The technology for obtaining biomass involves deep periodic cultivation using flasks on shakers for biomass accumulation (inoculum preparation) and a fermenter for production cultivation, with a filling coefficient of 0.6.

The work calculates the annual demand for the target product considering the needs of the domestic market, production capacity (doses/year), the number of working days per year, the number of production batches, the volume of the culture medium, the geometric volume of the fermentation equipment, and the number of stages for inoculum preparation. The method of cultivation, stages of aeration air preparation, method of preparation and sterilization of the nutrient medium are substantiated. Specific dimensions and structural features of the equipment are provided. Conditions for cultivation, selection of auxiliary works for cultivating the producer, including auxiliary work blocks, stages of inoculum preparation, and growth of *Mycobacterium tuberculosis* in flasks on shakers and in the production fermenter are presented. The main stages of the technological process are described, indicating parameters, control points, and material flows. Apparatus and technological schemes of the processes are developed.

The work consists of an introduction, nine chapters, a list of references, as well as a graphical part - a technological scheme (format A2) and a production apparatus scheme (format A3). The total volume of the work is 90 pages, 13 figures, 9 tables.

**Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis*, tuberculin, tuberculin test, tuberculoprotein.

## ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	4
ВСТУП	8
РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту	10
1.1. Механізм дії туберкуліну та туберкулінова проба	10
1.2. Форми випуску препарату	12
РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	12
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування	14
2.2. Розрахунок складу поживного середовища	18
2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента	21
2.4. Таксономічний статус біологічного агента	24
РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування	25
3.1. Потреба у цільовому продукті	25
3.2. Розрахунок потужності виробництва	27
3.3. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу	29
РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту	30
4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента	30
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт	31
РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми	35
5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера	35
5.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря	39
5.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів	39
5.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища	46
РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання	48
РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми	51

РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва	58
8.1. Карта постадійного контролю	58
8.2. Мікробіологічний контроль	62
8.3. Показники росту і синтезу цільового продукту	63
8.3.1. Концентрація біомаси	64
8.3.2. Концентрація цільового продукту	64
8.3.2.1. Масова доля білку в сухому продукті	64
8.3.2.2. Оцінка біологічної дії	64
8.3.3. Методи ідентифікації цільового продукту	66
8.3.4. Концентрація джерела вуглецю і азоту	67
8.4. Показники якості готового продукту	69
РОЗДІЛ 9. Охорона довкілля	70
9.1. Аналіз технологічної схеми виробництва цільового продукту на місця емісії твердих, рідких та газоподібних відходів	70
9.2 Перспективи впровадження системи екологізації виробництва	70
9.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів	72
9.2.2. Система знешкодження та утилізації твердих відходів	73
9.2.3. Система знешкодження газоповітряних викидів	74
9.2.4. Заходи щодо зменшення об'ємів відходів	74
ЛІТЕРАТУРА	76

## ВСТУП

Попри останній високий біотехнологічний розвиток та прогрес людства, лишаються питання, що потребують вирішення, навіть коли це стосується проблем, що є загальновідомими та існують не одне століття. У світі дане інфекційне захворювання залишається лідером за кількістю смертей, та за даними ВООЗ, увійшло у десятку причин смертності населення. Мова йде про туберкульоз, хворобу, що вражає легені, нирки, хребет, мозок. Велика кількість інфікованих туберкульозом осіб спричинена різноманітністю його антигенів, що є основною перешкодою для глобального контролю над поширеністю туберкульозу [1].

У 2017 році приблизно 10 мільйонів людей захворіли на туберкульоз, ще 1,6 мільйона людей померли від цієї хвороби (зокрема, 0,3 мільйона ВІЛ-інфікованих пацієнтів). Приблизно 95% випадків смерті від туберкульозу припадає на країни з низьким і середнім рівнем доходу (дані ВООЗ, 2018 рік) [1].

Вакцинація є важливим заходом для контролю захворюваності населення на туберкульоз, важливим етапом якої є попередня діагностики осіб на наявність захворювання, якою є проба Манту, або ж туберкулопротеїнова проба [2-4].

В Україні попри високий рівень обізнаності громадян щодо шляхів розповсюдження туберкульозу, зараження та вакцинації, станом включно з 1995 року стан туберкульозної захворюваності також є катастрофічним. За даними МОЗ з початку 2020 року, на рівні з пандемією коронавірусу, в Україні на туберкульоз захворіли 16803 людини, померли за січень-вересень — 2248. Через пандемію і подальше фокусування медичної системи на COVID-19, хворі

					НУХТ БТЕК 04.01.51 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум	Підпис	Дата				
Розробл.		Косяк А.Ю.			ВСТУП	Лім.	Арк.	Архувів
Перевір.		Пенчук Ю.М.					2	90
Консультант								
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						
						8		
						Кафедра БТМ		

або не тестуються вчасно, або взагалі уникають лікарень. Це створює небезпеку для усіх жителів регіону, де існує ризик даного захворювання, особливо якщо не зроблене вчасне щеплення, адже передається переважно повітряно-крапельним шляхом від хворої людини до здорової [5,6].

Тому створення та подальша розробка тест-системи для виявлення *Mycobacterium tuberculosis* є актуальним питанням, що потребує вирішення.

**Новизна.** Для виробництва туберкуліну використовується штам *Mycobacterium tuberculosis* 2, що відрізняється дешевизною складу поживного середовища та меншою тривалістю культивування, та вищою концентрацією очищених білкових похідних (3,88 г/л).

## РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

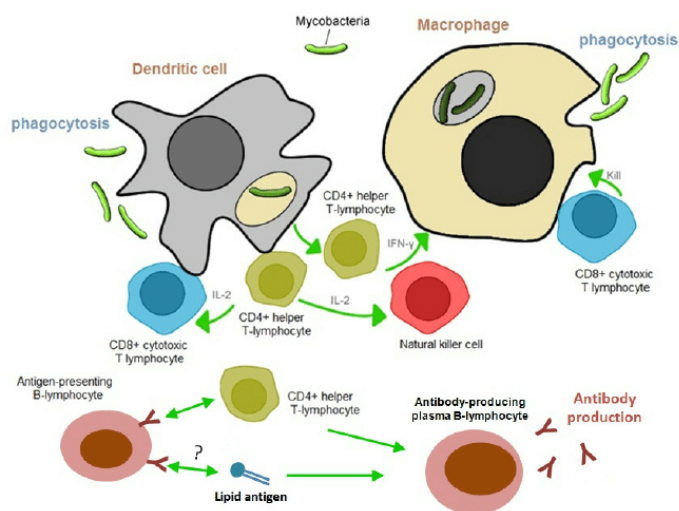
Туберкулін є діагностичним препаратом, що застосовується у фармацевтичній галузі для виявлення алергічних реакцій, отриманий на основі білків, отриманих шляхом культивування *Mycobacterium tuberculosis* [5-7], що застосовується при масовому обстеженні населення на туберкульоз – проба Манту, Є проміжним етапом для подальшого щеплення БЦЖ. Є чи не єдиною можливістю виявлення реакцій гіперчутливості на туберкульоз, через неможливість проведення процедури флюорографії для дітей віком до 14 років [7,8].

За міжнародним класифікатором АТС позначений як V04CF01 – Препарати для діагностики туберкульозу. Туберкулін [9].

### 1.1. Механізм дії туберкуліну та туберкулінова проба

На рис.1.1 зображено розпізнавання та поглинання збудника фагоцитуючими клітинами як бактеріальні компоненти (антигени) переробляються на дрібні фрагменти і презентуються лімфоцитам. Далі Т-лімфоцити тимуса розпізнають антигени, представлені антигенпрезентуючими клітинами, такими як макрофаги, дендритні клітини та В-лімфоцити. Далі Т-клітини активуються і розвиваються в клітини, що продукують цитокіни (CD4+) або цитолітичні (CD8+) медіатори. В-клітини безпосередньо активуються антигенами. Однак повна активація В-клітин може координуватися взаємодією з CD4+ Т-клітинами, у випадку пептидних антигенів, або через тимус-незалежні, погано описані шляхи і для небілкових антигенів, таких як ліпіди [10].

					НУХТ БТЕК 04.01.51 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум	Підпис	Дата				
Розробл.		Косяк А.Ю.			Розділ 1. Характеристика цільового продукту	Лім.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Пенчук Ю.М.					4	90
Консультант						Кафедра БТМ <sup>10</sup>		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						



**Рис. 1.1.** Схема дії клітинного імунітету проти *Mycobacterium tuberculosis* [11]

Зазвичай реакція сповільненої гіперчутливості до туберкуліну починається через 5–6 годин, досягає максимуму через 48–72 години та зникає протягом декількох днів. Клінічна реакція сповільненої гіперчутливості на туберкулін є проявом попередньої інфекції *Mycobacterium tuberculosis*. Інша назва даної процедури, що застосовується при масовому обстеженні населення на туберкульоз – проба Манту, є проміжним етапом для подальшого щеплення БЦЖ. Зазвичай вводиться внутрішньо шкірна ін'єкція у дельтоподібний м'яз (біля плеча). У випадку негативної реакції на пробу відсутності стану специфічної реактивності місцевих та загальних явищ не спостерігається. При інфікованості або наявності післявакцинальної алергії спостерігається місцева реакція (рис. 1.2) у вигляді інфільтрату (папули) та гіперемії [12,13,14,15,16].

Проте реакція не обов'язково означає активний туберкульоз; це також може вказувати на латентну туберкульозну інфекцію, що означає, що людина була інфікована бактерією, але наразі не має активної форми туберкульозу. Необхідне подальше медичне обстеження, щоб відрізнити латентну туберкульозну інфекцію від активної форми туберкульозу [16,17].



**Рис.1.2.** Проведення проби Манту та замір місцевої реакції через 72 год [11]

## 1.2. Форми випуску препарату

Наразі світовою медичною науковою спільнотою використовується, так званий «Туберкулін PPD/ППД» (очищене білкове похідне). Препарат виробляється у різних формах. Це може бути ліофілізований препарат (сухий) або ж суспензія [7,18].

Одна туберкулінова одиниця (1 ТО) визначається як 0,02 мкг PPD-S. Стандартна доза становить прибл. 4 ТО = 0,08 мкг, а також 5 ТО = 0,1 мкг [18].

Поширеною виробником (рис.1.3) є компанія «Біофарма» (Індонезія) . Одна доза (0,1 мл) містить 0,08 мкг туберкуліну PPD RT 23 (2 ТО/ 1 флакон) [12].



**Рис. 1.3.** Туберкулін від компанії «Біофарма», Індонезія [12]

Українським виробником є ТОВ «Люм'єр Фарма» (рис.1.4), що випускає пакування in bulk фірми-виробника Ей Джей Вакцинес Ей/Ес, Данія [13]. До нього входить туберкулін PPD RT 23 (2 ТО); за лікарською формою є розчином для ін'єкцій.

Туберкулін ППД RT 23 SSI - це прозорий, від безбарвного до світло-жовтого кольору розчин, що не містить сторонніх часток.



**Рис. 1.4.** Туберкулін від компанії «Люм'єр Фарма», Україна [13]

## РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

### 2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування

У сучасних умовах актуальним є дослідження методів культивування штамів *M. tuberculosis* для отримання очищених білкових похідних (туберкулопротеїну), які є основою препарату «Туберкулін», що є важливим етапом проведення туберкулінодіагностики для виявлення пацієнтів, хворих на туберкульоз [20,21,22]

У праці [22] наведено результати розробки біотехнологічного процесу виробництва очищеної білкової похідної (туберкуліну) з використанням бразильських штамів *M. tuberculosis*. Культивування проводили у середовищі Reid [23] з вмістом гліцерину 48 мл на 1 л (що відповідає 60,4 г/л), при рН 7,1, за температури 37 °С. Найвищі показники синтезу очищених білкових похідних отримали при вирощуванні штамів *M. tuberculosis* 2 та *M. tuberculosis* 15 – 3,88 та 3,07 мг/мл (г/л) відповідно після 60 діб культивування.

Узагальнена інформація щодо вирощування штамів *M. tuberculosis* для отримання «Туберкуліну» представлена у табл. 2.1., згідно якої, найнижчу кількість білкових похідних синтезували штами *M. tuberculosis* С, DT та PN – їх концентрація становила 1,87 г/л. Майже удвічі більшу кількість білкових похідних для виробництва «Туберкуліну» було продуковано штамом *M. tuberculosis* 2 – 3,88 г/л.

					НУХТ БТЕК 04.01.51 КР ПЗ							
Змн.	Лист	№ докум	Підпис	Дата	Розділ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента			Лім.	Арк.	Аркушів		
Розробл.		Косяк А.Ю.								11	90	
Перевір.		Пенчук Ю.М.						Кафедра БТМ 14				
Консультант												
Н. Контр.												
Затверд.		Стабніков В.П.										

Умови вирощування штамів *M. tuberculosis* для отримання «Туберкуліну»

Біологічний агент	Поживне середовище, г/л	Концентрація очищених білкових похідних, г/л	Тривалість процесу, год	Умови культивування	Література
<i>M. tuberculosis</i> С, DT та PN	L-аспарагін – 140 КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub> – 15 MgSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O – 15 Na <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> • 2H <sub>2</sub> O – 7,4 ZnSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O – 0,8 FeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> • 5H <sub>2</sub> O – 3 MnCl <sub>4</sub> • 4H <sub>2</sub> O – 0,08 CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O – 0,0138 Глюкоза – 100 Гліцерин – 1000	1,87	672 (56 діб)	pH 7,1, температура 37 °C	[20, 21]
<i>M. tuberculosis</i> 2	Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> ) <sub>2</sub> - 0,075 NaCl – 2 КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub> – 2 MgSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O – 1 ZnSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O – 0,01 CaCl <sub>2</sub> – 0,02 CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O – 0,002 Аспарагін – 5 Глюкоза – 10 Гліцерин – 60,4	3,88	504 (21 доба)	pH 7,1, температура 37 °C	[22,23]
<i>M. tuberculosis</i> 15	Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> ) <sub>2</sub> - 0,075 NaCl – 2 КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub> – 2 MgSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O – 1 ZnSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O – 0,01 CaCl <sub>2</sub> – 0,02 CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O – 0,002	3,07	504 (21 доба)	pH 7,1, температура 37 °C	[22,23]

Аспарагін – 5				
Глюкоза – 10				
Гліцерин – 60,4				

Однак лише за біосинтетичною здатністю не можемо обрати ефективного продуцента для отримання «Туберкуліну», тому на наступній стадії порівняємо вартість поживних середовищ для культивування біологічних агентів (табл. 2.2).

За розрахунками таблиці 2.2, найдорожчим виявилось поживне середовище для культивування штамів *M. tuberculosis* C, DT та PN, у той час як середовище для вирощування *M. tuberculosis* 2 та *M. tuberculosis* 15 має більш, ніж у 20 разів меншу вартість – 6,29 грн.

Таблиця 2.2

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації (1,2,3)*
<i>M. tuberculosis</i> C, DT та PN	L-аспарагін – 140	800	112	1
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> – 15	59	0,88	2
	MgSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O – 15	23,1	0,34	3
	Na <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> • 2H <sub>2</sub> O – 7,4	30	0,22	4
	ZnSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O – 0,8	38,2	0,03	5
	FeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> • 5H <sub>2</sub> O – 3	214,6	0,64	6
	MnCl <sub>4</sub> • 4H <sub>2</sub> O – 0,08	193	0,01	7
	CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O – 0,0138	650	0,008	8
	Глюкоза – 100	56	5,6	9
	Гліцерин – 1000	26	26	10
<b>Вартість 1 л середовища становить – 145,7 грн</b>				
<i>M. tuberculosis</i> 2	Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> ) <sub>2</sub> - 0,075	4,48	0,0003	11
	NaCl – 2	19	0,03	12
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> – 2	59	0,11	2
	MgSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O – 1	23,1	0,02	3
	ZnSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O – 0,01	38,2	0,0003	5
	CaCl <sub>2</sub> – 0,02	38,4	0,0007	13
	CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O – 0,002	650	0,001	14
	Аспарагін – 5	800	4	1
	Глюкоза – 10	56	0,56	9
Гліцерин – 60,4	26	1,57	10	

<b>Вартість 1 л середовища становить – 6,29 грн</b>				
M. tuberculosis 15	Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> ) <sub>2</sub> - 0,075	4,48	0,0003	11
	NaCl – 2	19	0,03	12
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> – 2	59	0,11	2
	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O – 1	23,1	0,02	3
	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O – 0,01	38,2	0,0003	5
	CaCl <sub>2</sub> – 0,02	38,4	0,0007	13
	CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O – 0,002	650	0,001	14
	Аспарагін – 5	800	4	1
	Глюкоза – 10	56	0,56	9
	Гліцерин – 60,4	26	1,57	10
<b>Вартість 1 л середовища становить – 6,29 грн</b>				

**Вартість поживних середовищ для виробництва «Туберкуліну»**

Примітка: \* – ціни наведено з урахуванням ПДВ станом на квітень 2024 року

1 – <https://soda.kiev.ua/ua/asparagyn.html>

2 – <https://megachem.com.ua/ua/kalij-fosfornokislyj-tehnicheskij.html>

3 – <https://www.systopt.com.ua/ru/item-magnij-sirchanokyslyj-7-vodnyj-sulfat-magniyu>

4 – <https://kreon-d.com.ua/ua/p1028955020-tsitratt-natriya.html>

5 – <https://himfarminvest.com.ua/tsinka-sulfat>

6 – <https://www.indiamart.com/proddetail/ferric-citrate-12645053891.html>

7 – <https://prom.ua/p277934134-marganets-hloristyj-vodnyj.html?&primelead=Mi4zNzU>

8 – <https://medoprom.com.ua/product/kobalt-khloristyj-1kg>

9 – <https://runainter.com.ua/p819880496-dekstroza-monogidrat-kristallicheskaya.html>

10 – <https://soda.kiev.ua/p57019203-glitserin-distillirovannyj.html>

11 – <https://www.indiamart.com/proddetail/ferric-ammounium-citrate-19524142273.html?pos=1&pla=n>

12 – <https://www.olx.ua/d/uk/obyavlenie/artem-sl-IDR51sC.html>

13 – <https://www.systopt.com.ua/ru/item-kaltsij-hloristyj-hloryd-kaltsiyu>

14 – <https://medoprom.com.ua/product/kobalt-khloristyj-1kg>

На заключному етапі порівняємо штами-продуценти за показником умовної вартості 1 г очищених білкових похідних та їх кількості, синтезованої за годину – таблиця 2.3.

**Умовна вартість 1 г очищених білкових похідних для виробництва  
«Туберкуліну»**

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн	Концентрація очищених білкових похідних, г/л	Умовна вартість 1 г очищених білкових похідних, грн	Тривалість культивування, год	Кількість очищених білкових похідних, синтезованих за год, г/л
<i>M. tuberculosis</i> C, DT та PN	145,7	1,87	77,9	672	0,002
<i>M. tuberculosis</i> 2	6,29	3,88	1,6	720	0,005
<i>M. tuberculosis</i> 15	6,29	3,07	2,04	720	0,004

Згідно розрахунків таблиці 2.3, умовна вартість 1 г очищених білкових похідних штаму *M. tuberculosis* 2 виявилась найнижчою – 1,6 грн. Разом з тим, даний штам синтезує найбільшу кількість білкових похідних за годину, у порівнянні з вищезгаданими біологічними агентами (0,005 г/л).

Таким чином, для виробництва «Туберкуліну» обираємо *M. tuberculosis* 2 в якості найкращого продуцента завдяки його здатності до росту на дешевому поживному середовищі та синтезу найвищої концентрації білкових похідних, які є основою даного препарату.

## **2.2. Розрахунок складу поживного середовища**

Тривалість культивування становить 504 год, концентрація очищених білкових похідних – 3,88 г/л, приймаємо кількість біомаси – 7 г/л.

### ***Розрахунок вмісту в середовищі джерела вуглецевого живлення***

*Потреби для синтезу білкових похідних.* Як джерело вуглецю для одержання білкових похідних використовується глюкоза та гліцерин.

1) За глюкозою.

Розрахуємо, скільки вуглецю (за елементом С) міститься в 3,88 г білкових похідних. Молекулярна маса туберкулопротеїну становить 10 кДа= 10000 г/моль. Отже, у 10000 г туберкулопротеїну міститься близько 100 г Карбону, а в 3,88 г  $(100 \times 3,88) / 10000 = 0,038$  г Карбону.

Далі розрахуємо, у скількох грамах глюкози міститься 0,038 г Карбону, враховуючи, що вміст Карбону у глюкозі становить 40%. Отже, у 100 г глюкози міститься 40 г Карбону, а 0,038 г Карбону міститься у  $(0,038 \times 100) / 40 = 0,095$  г глюкози.

Враховуючи, що при вирощуванні мікроорганізмів на вуглеводах близько 40% субстрату окиснюється до  $\text{CO}_2$  для одержання енергії, необхідної для конструктивного метаболізму, вміст глюкози у середовищі становитиме  $(0,095 \times 0,4) + 0,095 = 0,13$  г/л = 0,01 %.

## 2) За гліцерином.

Розрахуємо, у скількох грамах гліцерину міститься 0,038 г Карбону, враховуючи, що вміст Карбону у гліцерині становить 39,4%. Отже, у 100 г гліцерину міститься 39,4 г Карбону, а 0,038 г Карбону міститься у  $(0,038 \times 100) / 39,4 = 0,096$  г гліцерину.

### *Потреби для синтезу біомаси.*

#### 1) За глюкозою.

У біомасі міститься 50 % Карбону, отже вміст Карбону у 7 г біомаси становить  $7 \times 0,5 = 3,5$  г. Ця кількість Карбону міститься у  $(3,5 \times 100) / 40 = 8,75$  г глюкози.

Враховуючи 40% втрат субстрату на «холосте окислення», для одержання 7 г/л біомаси у середовище необхідно внести  $(8,75 \times 0,4) + 8,75 = 12,25$  г/л глюкози (1,22 %).

#### 2) За гліцерином.

Вміст Карбону у 7 г біомаси становить  $7 \times 0,5 = 3,5$  г. Ця кількість Карбону міститься у  $(3,5 \times 100) / 39,4 = 8,88$  г гліцерину.

Враховуючи 40% втрат субстрату на «холосте окислення», для одержання 7 г/л біомаси у середовище необхідно внести  $(8,88 \times 0,4) + 8,88 = 12,4$  г/л гліцерину (1,24 %).

Отже, загальний вміст глюкози у середовищі, необхідний для синтезу біомаси та туберкулопротеїну, становить  $0,13 + 12,25 = 12,38$  г/л  $\approx 1,2$  %, а гліцерину –  $0,096 + 12,4 = 12,49$  г/л  $\approx 1,2$  %.

### ***Розрахунок вмісту в середовищі джерела азотного живлення***

Для біосинтезу білкових похідних – складових «Туберкуліну» у середовище культивування слід вносити аспарагін для одержання заданої кількості цільових протеїнів. Аспарагін є джерелом органічного азоту для *M. tuberculosis* 2. Концентрація аспарагіну в середовищі становить 5 г/л.

Оскільки у 10000 г білкових похідних міститься близько 1280 г Нітрогену (N), тоді у 3,88 г білкових похідних вміст Нітрогену становить  $(3,88 \times 1280) / 10000 = 0,49$  г.

Розрахуємо, в якій кількості аспарагіну міститься ця кількість Нітрогену. У 132,12 г аспарагіну міститься 28 г Нітрогену (N), тоді 0,49 г Нітрогену буде міститись у  $(132,12 \times 0,49) / 28 = 2,3$  г аспарагіну.

Кількість Нітрогену, необхідна для синтезу біомаси та білкових похідних становить  $8,1 + 5,6 = 13,7$  г/л. З врахуванням Нітрогену, що міститься у складі аргініну, у середовище слід додати  $13,7 - 2,3 = 11,4$  г/л азоту у формі мінеральних солей.

### ***Розрахунок вмісту Фосфору у середовищі***

У біомасі міститься близько 3 % Фосфору (за елементом P). Тоді для синтезу 7 г/л біомаси вміст Фосфору у середовищі повинен становити  $7 \times 0,03 = 0,21$  г/л. Джерелом Фосфору при виробничому культивуванні продуцента

білкових похідних для отримання «Туберкуліну» є  $\text{KN}_2\text{PO}_4$ . Вміст Фосфору у  $\text{KN}_2\text{PO}_4$  становить  $31 / 136 = 23 \%$ . Прийmemo вміст Фосфору (P) у  $\text{KN}_2\text{PO}_4$  за 1,3.

Тоді вміст P у вигляді  $\text{KN}_2\text{PO}_4$  становить  $0,4 \times 1,3 \approx 0,5$  г/л. Таким чином, концентрація цієї солі у середовищі має становити  $(136 \times 0,5) / 31 = 2,2$  г/л.

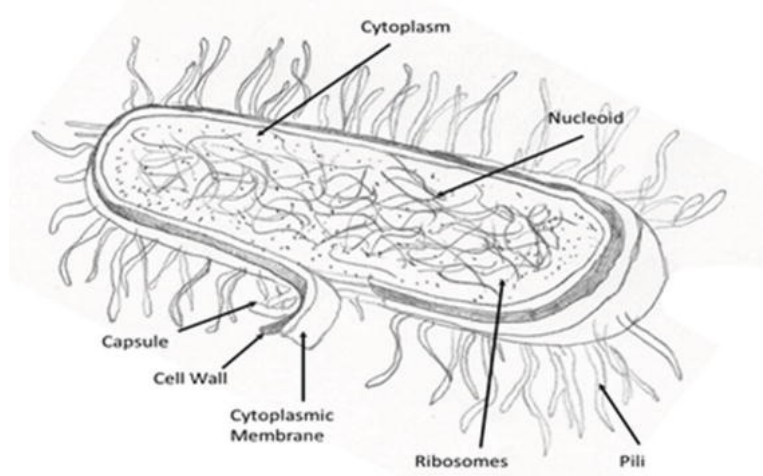
### ***Інші компоненти середовища***

Джерелом таких важливих біогенних елементів як Магній, Кальцій і Ферум у середовищі для вирощування *M. tuberculosis* 2 є магнію сульфат гептагідрат та кальцію хлорид, в складі цих сполук вищевказані елементи містяться у достатніх кількостях.

## **2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента**

### ***Морфолого-культуральні ознаки***

Бактерія *Mycobacterium tuberculosis* має вигляд злегка вигнутих або прямих паличок ( $0,2-0,6 \times 1,0-10$  мкм), кислотостійкі на певній стадії росту. Іноді може відбуватися розгалуження і може з'явитися ниткоподібний або міцелієподібний наріст (рис. 2.1), який при невеликому порушенні дробиться на палички або кокоїдні елементи. Клітини нерухомі, аспорогенні; конідії або капсули не утворюються; немає сильно помітних надземних гіф [24,25].



**Рис. 2.1.** Будова *Mycobacterium tuberculosis* (капсула, цитоплазма, нуклеоїд, рибосоми, пілі, ЦПМ, клітинна стінка) [26]

У стандартному довіднику бактеріальної філогенії Войза [27] на основі порівняння послідовностей рибосомальної РНК 16S *Mycobacterium tuberculosis* належить до грампозитивних бактерій з високим рівнем ГЦ [28]. Проте існує певна особливість: інші бактерії зазвичай ідентифікують за допомогою мікроскопа, фарбуючи їх за Грамом, однак міколева кислота в клітинній стінці *Mycobacterium tuberculosis* не поглинає пігмент, що робить даний тип фарбування важким. Тому замість цього використовуються кислотостійкі барвники, такі як фарбування Ціля-Нільсена, або флуоресцентні барвники, такі як аурамін. Клітини мають вигнуту паличкоподібну форму, і їх часто можна побачити згорнутими разом через наявність у клітинній стінці жирних кислот, які злипаються. Такий вигляд називають «шнуром» (англ. «cords»), подібним до ниток шнура, які складають ланцюжок *Mycobacterium tuberculosis*, характеризується в тканинах казеозними гранульомами, що містять гігантські клітини Лангханса, які мають «підковоподібний» малюнок ядер. Колір колоній кремовий [29].

Гідролізати всього організму багаті мезо-діамінопімеліною кислотою, арабінозою та галактозою [30].

#### *Фізіолого-біохімічні ознаки*

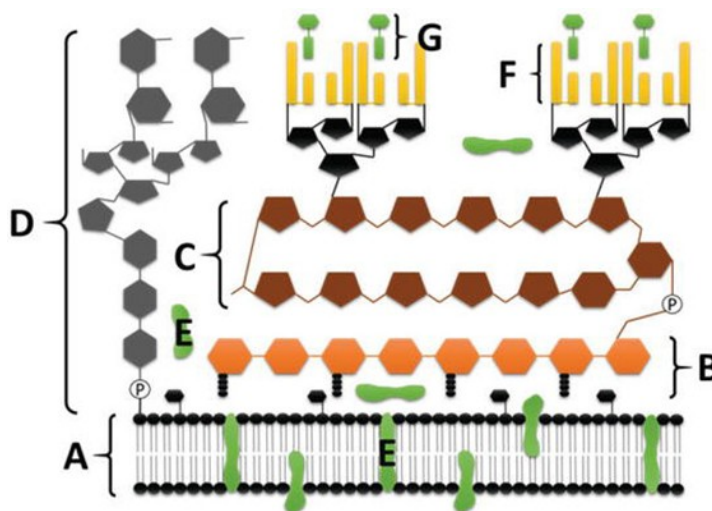
Для росту *Mycobacterium tuberculosis* потрібен кисень. Як й інші мікобактерії, вона повільно росте, ділиться кожні 18–24 години. Вона здатна до росту і розмноження у діапазоні температури від 25 до 42 °С, оптимальна температура становить 37 °С [42,43].

Бактерія підтримує внутрішньобактеріальний рН~7,2 навіть після впливу діапазону кислих рівнів рН (від 6,2 до 4,5) *in vitro*. Стикаючись з кислотним стресом під час інфекційного циклу в організмі людини може виживати за рівня рН до 4,5 частково за рахунок тривалого гідролізу пептидоглікану [31-34].

За типом живлення – хемоорганогетеротроф, і може використовувати широкий спектр джерел вуглецю та азоту [35,36].

Дана бактерія може протистояти слабким дезінфікуючим речовинам і може виживати в сухому стані тижнями. Клітинна стінка (рис. 2.2) багата

ліпідами, такими як міколева кислота, що відповідає за стійкість до висихання та є ключовим фактором вірулентності, також містить у своєму складі плазматичну мембрану (A), пептидоглікан (B), арабіногалактан (C), манозу, покритої ліпоарабіноманнаном (D), плазматичну мембрану та пов'язаний білок клітинної оболонки (E), міколову кислоту (F) і поверхневу молекулу гліколіпиду, асоційовану з вищезазначеною міколевою кислотою (G) [37-39].



**Рис. 2.2.** Просторова організація клітинної оболонки *Mycobacterium tuberculosis* [39]

Також у своєму складі має воски, міколати, є гідрофобною, і відрізняється більшою товщиною порівняно з іншими бактеріями оболонку, та містить ферменти, що розкладають і модифікують ліки. Бактерії туберкульозу за своєю природою виробляють фермент під назвою бета-лактамаза, який розщеплює бета-лактамний клас антибіотиків (шляхом гідролізу) і робить препарат неефективним проти туберкульозу [40,41].

Пригнічення росту мікобактерій відбувається із застосуванням антибіотиків, основним механізмом дії яких є пригнічення синтезу білка. Канаміцин і амікацин є аміноглікозидами, а капреоміцин і віоміцин є циклічними пептидними антибіотиками [42,43].

#### **2.4. Таксономічний статус біологічного агента**

Було проаналізовано дві бази даних для таксономії бактерії, InterPro [44] та BacDive [45], завдяки чому було сформовано таксономічну приналежність

*Mycobacterium tuberculosis*, а також за філогенетичною класифікацією, наведена у другому виданні Керівництва Бергі з систематики бактерій [30].

Домен – *Bacteria*

Відділ – *Actinobacteria*

Клас – *Actinomecatales*

Родина – *Mycobacteriaceae*

Рід – *Mycobacterium*

Вид – *Mycobacterium tuberculosis*

## РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

### 3.1. Потреба у цільовому продукті

Туберкулін використовується для туберкулінодіагностики (проби Манту), яка за інструкцією МОЗ в Україні (від 1996 р.) зазвичай проводиться раз на рік для дітей віком до 14 років, окрім випадків узгоджених з лікарем. Препарат ППД-Л, що міститься в ампулах у вигляді розчину має об'єм 0,1 мл у якому міститься 2 ТО незалежно від віку [4-6].

Наразі проба Манту лишається найкращим препаратом для ранньої діагностики туберкульозу дітям та підліткам до 14 років через заборону проводити процедуру флюорографії, що робить дану діагностику чи не єдиною можливістю визначити реакцію гіперчутливості до збудника туберкульозу. Тому у даній роботі обраною групою населення для якої буде вироблятися препарат обрано дітей віком до 14 років [7,8].

Посилаючись на дослідження уряду було проаналізовано, що у 2020 році на території України проживало 5 млн 756 тис. дітей віком до 14 років [46]. Через повномасштабне вторгнення рф на територію України відбулася демографічна зміна, тому було проаналізовано відкриті дані соціологічних груп, де підраховано, що наразі в Україні проживає 36,7 млн людей, з яких 15,2% - це діти до 14 років. Отже, виходячи з підрахунків в Україні станом на 2024 рік проживає 5,57 млн всередині країни [46-48].

У 2018 році було проведено дослідження, що в Україні проживає 6 530 490 дітей віком від 0 до 14 років, з яких пробу Манту у 2014 – 2018 роках зроблено тільки 1 510 630 дітям. У свою чергу, за підрахунками, 100 %-ова потреба в пробі Манту на 2018 рік для дітей віком від 4 до 14 років становить 5 019 860 дітей.

Змн.	Лист	№ докум	Підпис	Дата	ЛУХТ БТЕК 04.01.51 КР ПЗ			
Розробл.		Косяк А.Ю.			Розділ 3. Техніко-економічне обґрунтування	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Пенчук Ю.М.					5	90
Консультант								25
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В.П.						

Разом з цим, у 2018 році уповноваженими органами влади здійснено закупівлю тільки 3 497 426 туберкулінових проб, що формує нестачу у закупівлях препарату для подальшої діагностики [49].

У рамках роботи запропоновано спиратися на дані минулих років, і визначити методом пропорцій приблизну кількість препарату для проведення туберкулінодіагностики, а за наявності залишків перенаправити їх в обласні громади, де спостерігається нестача препарату для подальшої діагностики (наприклад, охопити групи населення, хворим на туберкульоз та тим, хто перебувають у стаціонарі) або здійснювати експорт продукції.

Згідно з інструкцій виробника та існуючих вимог масова частка білка у туберкуліні має бути  $0,08 \pm 0,02$  мг/см<sup>3</sup>, тобто 1 ампула 0,6 мл готового препарату містить 0,08 мл препарату з 2 ТО (туберкуліновими одиницями), що є необхідною дозою, що вводиться підшкірно, тому для розрахунків вважатимемо, що кількість дітей дорівнюватиме виробленню необхідної кількості доз на рік [12,13].

За 2022 рік кількість захворюваності на туберкульоз зросла на 2,5%. За даними Річного звіту Центру громадського здоров'я МОЗ України війна незначною мірою впливає на поширення туберкульозу, тому можна припустити, що необхідна кількість залишається приблизно такою самою [50].

На ринку України відомо про виробників, компанію Біолік (Харків, Україна) та SIS (Данія). Було обрано 1% покриття потреб ринку у якості пробної партії та можливих подальших поліпшень технології, при цьому не створюючи монополію на ринку за рахунок власних виробничих потужностей.

За проведеними підрахунками можна припустити, що станом на 2023 рік знадобиться 4 059 370 вакцин (табл. 3.1).

### Порівняння планового закриття потреб у 2018 та 2023 року

Рік	2018 рік	2023 рік
Загальна кількість дітей в Україні	6 530 490	5 570 000
Потреба в туберкуліні (к-сть доз=дітей)	5 019 860 (тобто на 1 510 630 дітей менше)	5 570 000 - 1 510 630 = 4 059 370
Реально придбано	3 497 426	4 059 370 (планується виробити)

### 3.2. Розрахунок потужності виробництва

Перераховуючи кількість доз, 4 059 370, на кількість людей, яким потрібен препарат (покриття ринку), це буде

$$4059370 - 100\%$$

$$x \text{ доз} - 1\%$$

$$X = 40594 \text{ дози}$$

$$1 \text{ доза} - 0,08 \text{ мг}$$

$$40594 \text{ доз} - X \text{ мг}$$

$$X = 3248 \text{ мг} = 3,248 \text{ г}$$

Прийемо, що кількість туберкулопротеїну в біомасі становитиме 1% в біомасі. Кількість біомаси – 3,88 г/л, отже, в ми можемо вирахувати

$$3,88 \text{ г} - 100\%$$

$$X \text{ г} - 1\%$$

$X = 3,88 * 1/100\% = 0,039 \text{ г}$  (яка кількість туберкулопротеїну, що може бути отримана з 1 л культуральної рідини).

$$1 \text{ л} - 0,039 \text{ г}$$

$$x \text{ л} - 3,248 \text{ г}$$

$$X = 83,3 \text{ л}$$

Кількість робочих днів 330. Отже, кількість виробничих циклів становить  $330/30 = 11$  (циклів).

З урахуванням втрат цільового продукту при необхідно отримати такий об'єм, кількість культуральної рідини ( $V_{\text{КР}}$ ):

$$V_{\text{КР}} = 83,3 * 1,4 (\text{або } 83,3 * 0,4 + 83,3) = 116,62 \text{ л}$$

Для забезпечення річної потреби у туберкуліні потрібно отримати (з урахуванням втрат під час виділення) 116,2 л культуральної рідини. Розрахуємо, скільки культуральної рідини потрібно отримати за цикл ферментації, щоб розрахувати кількість стадій приготування посівного матеріалу.

Приймаємо кількість трудоднів ( $T_{\text{рд}}$ ) – 330, тоді об'єм культуральної рідини за добу становить:

$$V_{\text{д}} = 116,62/330 = 0,35 \text{ л/доба}$$

Кількість продукту за цикл буде становити:

$$V_{\text{цк}} = (K1 * V_{\text{д}} * T_{\text{цф}})/24 = (1,1 * 0,35 * 510,5)/24 = 8,18 \text{ л/цикл},$$

де  $T_{\text{цф}}$  – цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (21 доба = 504 год) та час підготовки ферментера до роботи (6,5 год).  $K1$  – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ( $K1 = 1,1 - 1,5$ ).

Підготовка ферментера включає: закріплення та монтаж (1,5 год), підключення комунікацій (0,5 год), перевірка на герметичність (1 год), завантаження середовища (2 год), засів (0,5 год), вивантаження культуральної рідини (1 год).

Визначивши об'єм КР за один цикл і знаючи коефіцієнт заповнення  $K_3$ , визначаємо геометричний об'єм ферментера:

$V_r = V_{цк} / K_3 = 8,18 / 0,6 = 13,63$  л, знаходимо стандартне значення, що найближче до заданого,  $V_{гф} = 20$  л.

$$K_3 = 13,63 / 20 = 0,68$$

### **3.3. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу**

Виробниче культивування *M. tuberculosis* 2 для біосинтезу туберкулопротеїну будемо поводити у ферментері об'ємом 20 л з коефіцієнтом заповнення 0,6. Робочий об'єм ферментера становить:

$$V_{роб} = 20 * 0,6 = 12 \text{ л.}$$

Кількість посівного матеріалу становить 10 % від об'єму поживного середовища. Для одержання 12 л культуральної рідини потрібно:

$$V_{роб.1} = 12 * 0,1 = 1,2 \text{ л посівного матеріалу.}$$

Таку кількість інокуляту можна отримати при вирощуванні в качалочних колбах об'ємом 750 мл з коефіцієнтом заповнення 0,2 (по 150 мл).

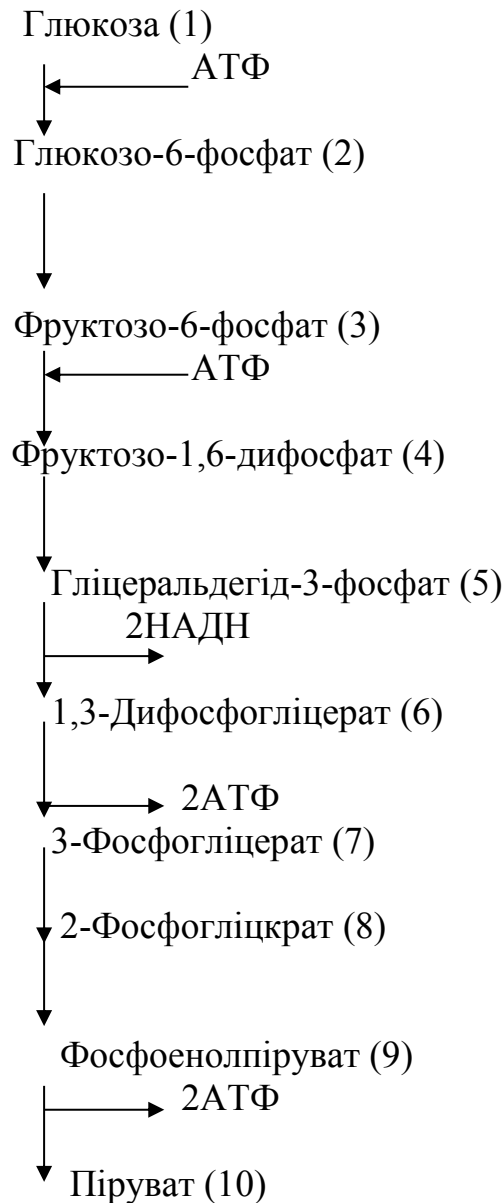
$$V_{роб.2} = 1200 / 150 = 8 \text{ колб.}$$

Згідно розрахунків, вирощування інокуляту для проведення біосинтезу туберкулопротеїну для препарату «Туберкулін» у ферментері об'ємом 20 л з коефіцієнтом заповнення 0,6 будемо проводити в одну стадію.

## РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

### 4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента

При рості *Mycobacterium tuberculosis* на поживному середовищі, глюкоза є ключовими джерелами вуглецю, катаболізм якої можливий за шляху гліколізу (рис. 4.1). Через послідовні реакції глюкоза перетворюється на піруват, який поступає у цикл трикарбонових кислот [22,23,52].



**Рис. 4.1.** Шлях катаболізму глюкози у *Mycobacterium tuberculosis*

					<b>НУХТ БТЕК 04.01.51 КР ПЗ</b>		
Змн.	Лист	№ докум	Підпис	Дата	<b>Розділ 4. Біосинтез цільового продукту</b>  Кафедра БТМ		
Розробл.		Косяк А.Ю.					
Перевір.		Пенчук Ю.М.					
Консультант							
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					
					Лім.	Арк.	Аркушів
					5	90	30

**Ферменти:** 1 – глюконокіназа (КФ.2.7.1.2); 2 – глюкозо-6-фосфатізомераза (КФ.5.3.1.9); 3 – фосфофруктокіназа (КФ.2.7.1.11); 4 – фруктозодифосфатальдоза (КФ.4.1.2.13); 5 – гліцеральдегід фосфатдегідрогеназа (КФ.1.2.1.12); 6 – фосфогліцераткіназа (КФ.2.7.2.3); 7 – фосфогліцератфосфомутаза (КФ.5.4.2.12); 8 – енолаза (КФ.4.2.1.11); 9 – піруваткіназа (КФ.2.7.1.40).

#### **4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт**

Цільовим продуктом є біомаса клітин *Mycobacterium tuberculosis*. На рис. 4.2 цільові компоненти, що входять до біомаси *Mycobacterium tuberculosis* позначені червоним кольором. Згідно з Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) було виконано біотрансформацію ростового субстрату для отримання біомаси бактерій [52].

Далі поступово піруват утворює ацетил-КоА за допомогою піруватдегідрогенази (КФ 1.2.4.1), що переходить до стадії окиснювального катаболізму, циклу трикарбонових кислот (ЦТК). Це є центральним шляхом метаболізму, який забезпечує клітину енергією.

Цитратсинтаза (КФ: 2.3.3.1) каталізує конденсацію оксалоацетату з ацетил-КоА, утворюючи цитрат. Це перший крок циклу Кребса. Аконітатгідратаза (аконітаза) (КФ: 4.2.1.3) перетворює цитрат в ізоцитрат через проміжну стадію цис-аконітату шляхом дегідратації та гідратації. Ізоцитратдегідрогеназа (КФ: 1.1.1.41) окиснює ізоцитрат до  $\alpha$ -кетоглутарату, виробляючи НАДН і вивільняючи молекулу  $\text{CO}_2$ . Компонент 2-оксоглутаратдегідрогенази E1 (КФ: 1.2.4.2) каталізує окислювальне декарбоксілювання  $\alpha$ -кетоглутарату до сукциніл-КоА, утворюючи НАДН і вивільняючи  $\text{CO}_2$ . Фермент дигідроліпоамід сукцинілтрансфераза (КФ: 2.3.1.61) включений в процес утворення сукциніл-КоА. Субодинаця бета-сукциніл-КоА-синтаза (КФ: 6.2.1.4) каталізує субстратного рівня фосфорилування, перетворюючи сукциніл-КоА в сукцинат і синтезуючи АТФ

або ГТФ. Сукцинатдегідрогеназа (КФ: 1.3.5.1) окиснює сукцинат до фумарату, при цьому утворюється ФАДН<sub>2</sub>, який потім використовується в дихальному ланцюзі для виробництва АТФ. Фумаратгідратаза (фумараза) (КФ: 4.2.1.2) гідратує фумарат, утворюючи малат. Малатдегідрогеназа (КФ: 1.1.1.37) окиснює малат до оксалоацетату, завершуючи цикл і виробляючи НАДН.

Цикл трикарбонних кислот (ЦТК), або цикл Кребса, не тільки є центральним шляхом катаболізму вуглеводів, жирів і білків, але також відіграє важливу роль в анаболічних процесах, включаючи синтез амінокислот. Цей цикл забезпечує проміжні метаболіти, які слугують попередниками для біосинтезу багатьох амінокислот [54].

Хоча піруват не є безпосередньо частиною ЦТК, він може бути перетворений на оксалоацетат за допомогою піруваткарбоксилази або на ацетил-КоА, який потрапляє в цикл. Він бере участь в утворенні аланіну, серину, гліцину, треоніну, ізолейцину, лейцину, валіну [53,54].

Глутамат, глутамін, пролін та аргінін були утворенні за допомогою 2-оксоглутарату. Для лізину, аспартату, аспарагіну, метіоніну оксалоацетат є попередником. Фенілаланін, тирозин та триптофан утворюється в результаті синтезу еритрозо-4-фосфату та фосфоенолпірувату [54].

До складу грампозитивної бактерії окрім амінокислот входять також нуклеїнові кислоти, пептидоглікан, фосфо- та гліколіпіди [27-29,54].

Пептидоглікан, важливий структурний компонент бактеріальних клітинних стінок, складається з двох основних субодиниць: УДФ-N-ацетилмурамової кислоти і УДФ-N-ацетилглюкозаміну. Синтез цих субодиниць починається з глюкозамін-6-фосфату, який утворюється з фруктозо-6-фосфату через серію ферментативних реакцій. Глюкозамін-6-фосфат потім перетворюється на УДФ-N-ацетилглюкозамін, який є попередником для подальшого утворення УДФ-N-ацетилмурамової кислоти. Ці субодиниці полімеризуються і з'єднуються поперечними зв'язками, формуючи міцну

тривимірну сітку, яка забезпечує механічну стійкість і захист бактеріальної клітини [51].

Клітини містять дві групи нуклеотидів: піримідинові та пуринові. Попередниками для піримідинових нуклеотидів слугують карбамоїлфосфат і аспартат. Ці сполуки об'єднуються, утворюючи карбамоїласпартат, який циклізується і перетворюється на 4,5-дигідроорат. Дигідроорат потім дегідується, утворюючи оротат – перший проміжний продукт, що містить піримідинове кільце. У цей процес також залучається рибозо-5-фосфат, вихідна сполука пентозофосфатного циклу, який перетворюється на 5-фосфорибозил-1-пірофосфат. Реакція з оротатом призводить до утворення оротидинмонофосфату. Декарбоксілювання призводить до утворення уридинмонофосфату [54].

Шлях синтезу пуринових нуклеотидів починається з 5-фосфорибозил-1-пірофосфату, який через серію реакцій перетворюється на імідазольний нуклеотид. Донори атомів для формування пуринового кільця включають бікарбонат, аспартат і формілтетрагідрофолієву кислоту. Ці сполуки забезпечують атоми, необхідні для побудови кільця [54].

Кільце з трьох атомів замикається з утворенням інозинмонофосфату (ІМФ), ключового проміжного продукту. Після цього ІМФ перетворюється на аденозинмонофосфат (АМФ) або гуанозинмонофосфат (ГМФ) через додаткові реакції. Кінцевими продуктами цього метаболічного шляху є аденозинтрифосфат (АТФ) і гуанозинтрифосфат (ГТФ), які виконують важливі функції в енергетичному обміні клітини [54].

Одним з попередників ліпідів є жирні кислоти, які синтезуються з ацетил-КоА, компоненту циклу трикарбонових кислот (ЦТК). Іншим попередником є 3-фосфогліцерин, що утворюється з гліцерину за допомогою ферменту гліцеролкінази (КФ 2.7.1.30), що в подальшому утворює гліколіпіди [54].



## Розділ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

### 5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

Глибинне культивування біологічних агентів є найпоширенішим та ефективним методом, що використовується в біотехнології для отримання мікробної маси та біологічно активних речовин. Цей процес легко механізувати та автоматизувати. Він проводиться в спеціальних ємностях, званих ферментерами. Основною вимогою є можливість проведення культивування в асептичних умовах при інтенсивній аерації середовища [3].

Вибір типового ферментеру, конструювання нового ферментаційного обладнання, модернізація відомих конструкцій можливе тільки в тому випадку, коли врахована специфіка технологічного процесу і фенотипічні ознаки біологічних агентів [55].

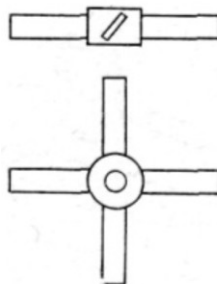
Оскільки *M. tuberculosis* 2 є аеробом, для подачі стерильного аераційного повітря у ферментері має бути передбачено барботер. Також для забезпечення оптимальної температури росту має бути встановлений датчик виміру рівня температури та термоізоляційна сорочка. Кисень зазвичай підводиться в нижню частину ферментера за допомогою різноманітних обладнань для рівномірного розподілення його по всьому перерізу ферментера [22,55,56].

Для контролю значення рН, що необхідно для культивування даного мікроорганізму, у ферментері має бути встановлений датчик виміру рН.

З метою перемішування поживного середовища для кращого насичення його киснем ферментер має бути обладнано перемішуючим пристроєм. Дана культура мікроорганізмів не має особливостей, нахшталт крихкуватого росту тощо, тому обираємо лопатеву мішалку (рис. 5.1), яка представляє собою

					НУХТ БТЕК 04.01.51 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум	Підпис	Дата				
Розробл.		Косяк А.Ю.			Розділ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми	Лім.	Арк.	Архувів
Перевір.		Пенчук Ю.М.					13	90
Консультант								
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						
						35 Кафедра БТМ		

тонкостінний циліндр з трьома лопатями на зовнішній поверхні, виконаних з поліетилену. Газ, діючи на лопаті елемента насадки, змушує його обертатися навколо своєї осі, що сприяє збільшенню та відновленню поверхні контакту фаз та інтенсифікації процесу масообміну. Псевдозріджений шар насадки забезпечує інтенсивне перемішування та виключає утворення застійних зон [57,58].



**Рис. 5.1.** Лопатевий тип мішалки [55]

Для отримання препарату «Туберкулін» об'єм ферментеру становитиме 20 л. Вищезазначеним параметрам відповідає ферментер BIOSTAT® RM 20 (рис. 5.2) [59].

BIOSTAT® RM являє собою нове покоління одноразових біореакторів для культивування клітин, в яких використовуються рухи, що качають, що забезпечують малу силу поперечного зсуву для дбайливого здійснення процесу. Основу Biostat RM 20 становить ретельно підібраний за розмірами біореактор одноразового використання з хвильовим змішуванням для автономного застосування [59].



**Рис. 5.2.** Одноразовий ферментер Flexsafe STR з лінійки BIOSTAT® RM [59]

*Властивості та переваги [59]*

- Немає необхідності в SIP (стерилізація на місці)
  - Немає необхідності в CIP (очищення на місці)
  - Поліпшене керування технологічним процесом
  - Повний набір готових до використання контейнерів
  - Validation guide та звіт щодо екстрагованих речовин
- Індивідуальний контроль двох мішків на одній платформі економить простір. Розширена функціональність систем попередження та повідомлення для безпечного культивування. Автоматичне підтримання складу газової суміші зменшує ручну експлуатацію. Міцна та гнучка плівка мішків гарантує максимальну безпеку процесу та спрощення операцій. Оптимізоване та повністю контрольоване складання формули плівки забезпечує оптимальне та відтворюване зростання клітин.

Конструкції базових, оптичних або перфузійних мішків, які можуть бути виготовлені на замовлення, підходять для різних завдань. Вбудовані одноразові датчики рН і рO<sub>2</sub> усувають ризик забруднення. Блок управління BIOSTAT® RM є простим у використанні сенсорним дисплеєм з

інтегрованою системою контролю та управління датчиками, насосами та системою аерації. У комплектацію входить програмне забезпечення BioPAT® MFCS/DA для збирання та зберігання даних. Версії з однією культуральною судиною (Single) або двома культуральними судинами (Twin). Робочі об'єми від 100 мл до 50л (BIOSTAT® RM 20/50) та від 10л до 100 л (BIOSTAT® RM 200).

Biostat®RM Control Tower – легка у використанні система керування з графічним інтерфейсом та сенсорною панеллю. Основні характеристики включають

- аерацію газом та керування зі зворотним зв'язком при використанні одноразових датчиків рН і  $pO_2$
- одноразові мішки різних об'ємів з вмонтованою мішалкою
- калібрування датчиків, включаючи рекалібрування датчика рН
- система аерації, що складається з 4-х інтегрованих ротаметрів та 2-х контролерів масової витрати газу
- вибір між двома стратегіями аерації: Exclusive flow та Постійне співвідношення  $CO_2/Air$  (Constant  $CO_2/Air$  ratio)
- два способи керування рН
- безпечне припинення роботи при перегріві або перевищенні надлишкового тиску вище допустимого
- захист паролем для всіх критичних параметрів процесу
- зв'язок із ПК через Ethernet для збору даних
- зручна візуалізація процесів – трендовий дисплей з відображенням 6 параметрів процесу

Сам чохол необхідно обережно розпакувати, дотримуючись інструкцій виробника. Потрібно уникати пошкоджень під час розпакування. Всі з'єднання, порти та клапани на місці і мають бути в належному стані. Чохол вставляється у ферментерний корпус або тримач. Закріплюється з інструкціями виробника, щоб уникати зміщення під час роботи. Всі отвори та

порти повинні бути правильно вирівняні та легко доступні. Необхідно підключити всі необхідні трубки, клапани та сенсори до відповідних портів чохла. Потрібно переконатися, що всі з'єднання герметичні та надійні.

## **5.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря**

Як було зазначено вище, *M. tuberculosis* є аеробом, тому потребує стабільної подачі стерильного повітря до культури. Для очищення повітря зазвичай використовується метод фільтрування через перегородки з різних матеріалів. При виборі фільтрувального матеріалу необхідно звертати увагу на високу ефективність за мінімального опору, достатню пилоємність і механічну міцність; стійкість до впливу гострої пари як основного агента, що стерилізує; зручність та надійність в експлуатації; стійкість до перепадів тиску та вологи [56].

З поставленими задачами найширше застосовують вітчизняною промисловістю використовуються мінеральні волокна грубого базальтового волокна. Базальти відносять до основних порід магматичного походження, що мають високу корозійну, хімічну стійкість до впливу середовищ з додаванням розчинів солей, кислот, лугів, при цьому не починаючи гнити, порівняно з іншими фільтрами [56,58,60].

З переваг використання даних фільтрів виділяють високу паростійкість (більшу за скляне волокно). При багаторазовій дії гострої пари під тиском 0,2 МПа волокно не знижує своєї міцності впродовж 1 року роботи фільтра. Витримують нагрів до 1100°C, не піддається горінню. Оптимальний діаметр волокна для фільтрів грубої очистки повітря становить 12-14 мкм. До недоліків відносять наявність колких голок із базальтових підплавів та інших механічних включень [56,60].

## **5.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів**

При виборі мийних та дезінфікувальних засобів слід звертати увагу на декілька ключових аспектів. Це включає низький поверхневий натяг, а також

важливі характеристики, такі як гарна змочувальна, піноутворювальна та емульгуюча здатності, а також стабілізуюча дія, солюбілізація та здатність викликати пептизацію й набрякання білків. Крім того, важливо, щоб засіб мав ефективну миючу дію та здатність добре змиватися з поверхні устаткування водою. Сучасні вимоги до дезінфікуючих засобів включають широкий спектр антимікробної дії, бактерицидний ефект, розчинність у воді, відсутність пошкоджуючої дії на оброблені поверхні, а також низьку токсичність та алергенність. Окрема характеристика, що впливала на вибір дезінфекційного засобу – це здатність знищувати вегетативні форми мікроорганізмів, мікобактерій туберкульозу, неліпідних вірусів та спор деяких бактерій [61].

На ринку України присутні наступні засоби:

*Мийні та дезінфікуючі засоби для обробки поверхонь приміщень та обладнання [56,62]*

1. Дезінфекційний засіб „Хлорантоїн” (діюча речовина 1,3-дихлор-5,5-диметилгідантоїн – дихлорантин; масова частка діючої речовини 21,5-23,5 %). хлорактивний, багатокomпонентний, поліфункціональний дезінфікуючий засіб з миючим ефектом (ТУ У 22902465.004-95). Використовується для обробки поверхонь приміщень.

Хлорантоїн має властивості бактерицидної, туберкульозної, та віруліцидної дії, включаючи боротьбу з такими інфекціями, як поліомієліт, різні типи грипу, парагрип, коронарні респіраторно-синцитіальні, ротавірусні, аденовірусні, SARS, гепатити, ВІЛ, вірусні гастроентерити та інші. Він також проявляє спороцидну та фунгіцидну активність проти кандидозів, дерматомікозів та цвілевих грибів.

Хлорантоїн використовується для боротьби з осередками особливо небезпечних та зоонозних інфекцій, таких як чума, холера, сибірська виразка і т.п. Він ефективно видаляє механічні білкові та жирові забруднення, кров, а

також залишки лікарських засобів з поверхонь, каналів та порожнин медичних виробів.

За дезінфікуючою активністю Хлорантоїн перевищує звичайні дезінфікуючі засоби в 5-10 разів та заміняє необхідність використання лужних мийних засобів. Використання Хлорантоїну дозволяє об'єднати етапи миття, дезінфекції та передстерилізації, скорочуючи тривалість санітарної обробки.

Хлорантоїн стабільний протягом 3 років зберігання. Робочі розчини засобу мають мийні, дезінфікуючі та передстерилізаційні властивості, не пошкоджують металеві, скляні, гумові, полімерні, дерев'яні, керамічні, фаянсові поверхні та поверхні медичних приладів і обладнання з лакофарбовим, гальванічним чи полімерним покриттям. Вони ефективно емульгують жири, видаляють білково-жирову плівку, легко змиваються та не залишають нальоту. Додатково, вони гомогенізують мокротиння та інші виділення.

2. Засіб дезінфікуючий «Дезанол еко», основними діючими речовинами якого є пероцтова кислота у межах 5,0-15,0 % та пероксид водню у межах 9,0-22,0%.

Дезанол проявляє бактерицидні, туберкулоцидні, вірулецидні, спороцидні та фунгіцидні властивості. Цей засіб має широкий спектр дії на мікроби, бактерії, віруси, патогенні та цвілеві гриби, а також спори, включаючи спори сибірської виразки та анаеробів. Дезанол ефективно видаляє білкові та жирові забруднення з зовнішніх поверхонь, внутрішніх каналів та порожнин медичних виробів.

3. Дезінфекційний засіб «Деканаль», діючими речовинами якого є glutaraldehyde у межах 18,0-22,0 % та алкілдиметилбензиламоніум хлорид у межах 8,0-12,0 %. -Для дезінфекції поверхні використовується 0,1% при 120 хв.

Засіб "Деканаль" проявляє бактерицидні властивості, включаючи ефективність проти збудників туберкульозу, віруліцидні властивості, що охоплюють збудники гепатитів, ВІЛ, кишкових вірусних інфекцій, а також фунгіцидні властивості, спрямовані проти кандидозів, дерматомікозів і пліснявих грибів, і спороцидні властивості.

4. Засіб дезінфікуючий «Руго Теш Пентасол 338» - діючі речовини, мас., %: надощтова кислота- 0,8- 2,0; пероксид водню- 9,0-15,0

5. Засіб дезінфікуючий «Хемодез НУК» (д.р.: пероксид водню – 20,0-25,0%; оцтова кислота – 18,0-30,0%; стабілізована надощтова кислота – 9,0-15,0%)

Засіб володіє високою бактерицидною, фунгіцидною та спороцидною дією. Він ефективний проти всіх груп мікроорганізмів і вірусів навіть при низьких температурах і короткому впливі. Особливо сильно проявляється бактерицидна активність проти спороутворюючих бактерій, кишкової палички та дріжджів в концентрації від 0,01% до 1,0%. Мікроорганізми не проявляють стійкості до цього дезінфікуючого засобу. Він повністю розчиняється у воді. Засіб екологічно безпечний і не забруднює навколишнє середовище. Завдяки біорозкладанню розпадається на воду, діоксид вуглецю і кисень. У використаних розчинах його компоненти швидко розкладаються на кисень, воду і оцтову кислоту, сліди якої легко змиваються чистою водою. Він не замерзає, і його властивості залишаються стабільними при низьких температурах. Щільність складає  $1,15 \pm 0,05$  г / см<sup>3</sup> при температурі 20°C. Значення рН складає  $2,7 \pm 0,5$ .

6. Засіб дезінфікуючий «Дезактін», основними діючими речовинами якого є 1,3-дихлор-5,5- диметилгідантоїн у межах 21,0-23,0 % та 5,5-диметилгідантоїн у межах 12,4-16,4 %.

"Дезактін" - порошок для проведення заходів з дезінфекції та знезараження засобів медичного призначення, який прекрасно розчиняється

у воді, має помірний запах хлору і володіє прекрасним миючим ефектом. Використовують 0,1 - 0,2% (для очищення і миття при вірусних і бактеріальних інфекціях) і 1% розчин (при інфекціях грибкових форм і туберкульозі), завдяки якому методом зрошення або протирання обробляють різні види поверхонь.

7. Засіб дезінфікуючий «Міродез універ» (діюча речовина, мас.,%: 10,8 –13,2 бензалконій хлорид і дидецилдиметиламоній хлорид; 5,1-6,3 гліюксаль).

Міродез універ - це універсальний засіб для стерилізації та дезінфекції з миючим ефектом. Він використовується для стерилізації, в тому числі з поєднанням з передстерилізаційним очищенням, ІМН як ручним, так і механізованим способом. Застосовується для обробки відбитків, зубопротезних заготовок, відсмоктувальних систем, дезінфекції поверхонь, медичних відходів, знезараження крові та біологічних виділень. Він має сертифікат про реєстрацію дезінфекційного засобу МОЗ України №000502 від 16.02.2009 року.

Склад засобу включає комплекс ЧАС, гліюксаль та синергісти біоцидів. Серед переваг Міродезу універ: безпека застосування для людини та тварин, екологічна безпека, повна сумісність з оброблюваними поверхнями, миючі властивості, відсутність фіксуючої дії, можливість багаторазового використання протягом 14 днів та наявність індикаторних смужок.

8. Кальцинована сода (концентрація у водному розчині рекомендується від 2 до 4% у вигляді гарячого (70 °С) розчину).

9. Каустична (концентрація у водному розчині рекомендується від 2 до 4% у вигляді гарячого (70 °С) розчину).

*Мийні та дезінфікуючі засоби для обробки рук персоналу*

10. Засіб дезінфекційний «Манорм-Екстра» ( діючі речовини: 65,0% - спирт ізопропіловий; 0,11% суміш четвертинних амонійних сполук)

11. "Мило рідке з дезінфікуючою дією "PROtect" (Протект) ТМ "PRO service" (діючі речовини – срібло та мідь у вигляді цитратів – 0,00005- 0,0005 %)

12. Дезінфікуючий засіб - шкірний антисептик «РОСА+» (діючі речовини - суміш метастабільних гідропероксидних і хлоркисневих з'єднань: хлорноватиста кислота, пероксид водню, озон, інші пероксидні і супероксидні з'єднання (НСlO; ClO<sub>2</sub>; ClO<sup>-</sup>; O<sub>3</sub>; H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ; H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>; O<sub>2</sub>); масова концентрація АДР – 0,02.

На підставі заповненої таблиці характеристик миючих та дезінфікуючих засобів вибирають найбільш ефективні. Критерієм вибору є мінімальна вартість обробки 1м<sup>2</sup> поверхні та ефективність для біологічного агента,  $E_{\phi} = \sum F \times D_{\text{дз}} \times V_{\text{дз}}, \text{ Грн/м}^2 \rightarrow \min$ , де  $\sum F$  – сумарна площа, що обробляється дез.розчинами; м<sup>2</sup>;  $D_{\text{дз}}$  – витрати дез.розчину на 1 м<sup>2</sup> поверхні, л/м<sup>2</sup>;  $V_{\text{дз}}$  – вартість 1 л дез.розчину, Грн/л.

Для визначення поверхонь, які мають митись та дезінфікуватись, скористаємось специфікацією обладнання, де вказані його габаритні розміри. У ферментаційному відділенні встановлений виробничий ферментер. Загальна площа приміщення, де встановлено дане обладнання становить 5 м × 3 м. Враховуючи, що поверхня стін даного приміщення теж підлягає миттю та дезінфекції на висоту 1,8 м, загальна площа обробки складе:  $\sum F = (5 \text{ м} \times 3 \text{ м}) + (5 \text{ м} + 5 \text{ м} + 3 \text{ м} + 3 \text{ м}) \times 1,8 \text{ м} = 18 \text{ м}^2 + 28,8 \text{ м}^2 = 43,8 \text{ м}^2$ .

Загальна площа приміщення, де встановлено ферментаційне обладнання, визначається на підставі плану приміщення з врахуванням кількості апаратів та майданчиків обслуговування по відмітках +0.000 та вище.

## Характеристика мийних і дезінфікуючих засобів

Назва мийного/дезінфекційного засобу (діюча речовина) та концентрація робочого розчину	Об'єкт миття та/або дезінфекції	Концентрація робочого розчину, %	Вартість 1 л/кг мийного або дез. засобу, Грн/л(кг)	Вартість 1 л роб. р-ну мийного або дез. засобу, грн/л	Витрати роб. р-ну, л/м <sup>2</sup>	Ефективність використання дез. розчину, Е <sub>дз</sub> , грн/м <sup>2</sup>	Джерело інформації*
Дезінфекційний засіб „Хлорантоін”	Стіни, підлога, вікна, двері, інвентар, тара	1	543	5,43	0,12	28,54	1.
Засіб дезінфікуючий «Дезанол еко»	Поверхні, прилади, устаткування	10	399	39,9	0,9	1572,8	2.
Дезінфекційний засіб «Деканаль»	Поверхні	1	600	6	0,13	31,16	3.
Засіб дезінфікуючий «Руго Тесч Пентасол 338»	Тара, інвентар, устаткування, комунікації	2	1512	30,24	0,69	913,9	4.
Засіб дезінфікуючий «Хемодез НУК»	Тара, інвентар, устаткування, комунікації	1	84	8,4	0,19	69,9	5.
Засіб дезінфікуючий «Дезактін»	Стіни, підлога, вікна, двері, інвентар, тара	1	520	5,2	0,12	27,3	6.
Засіб дезінфікуючий «Міродез універ»	Поверхні	11	368	40,48	0,81	1436,14	7.
Кальцинована сода	Обладнання, інвентар, комунікації	2	48	0,96	0,02	0,84	8.

Каустична сода	Обладнання, інвентар, комунікації	2	231	4,62	0,1	20,23	9.
Засіб дезінфекційний «Манорм-Екстра»	Руки персоналу	65	442	287,3	6,55	82423,49	10.
"Мило рідке з дезінфікуючою дією "PROtect" (Протект)	Руки персоналу	5	57	0,285	0,006	74898	11.
Дезінфікуючий засіб - шкірний антисептик «РОСА+»	Руки персоналу	2	200	0,4	0,01	0,17	12.

**Примітка\*.** Ціни наведені станом на квітень 2024 року:

1. Дезінфекційний засіб „Хлорантоін” - <https://1sa.com.ua/hlorantoin-1-kg.html>
2. Засіб дезінфікуючий «Дезанол еко» - <https://prom.ua/ua/p1816808393-dezanol.html>
3. Дезінфекційний засіб «Деканаль» - <https://antiseptika.prom.ua/ua/p807818-dezsredstvo-dekanal-dlya.html>
4. Засіб дезінфікуючий «Puro Tech Пентасол» - <https://prom.ua/ua/p1098371146-moyuschee-dezinfitsiruyuschee-sredstvo.html>
5. Засіб дезінфікуючий «Хемодез НУК» - [https://agrovektor.com/ua/physical\\_product/317938-hemodez-nuk-naduksusnaya-kislota-20-kg.html](https://agrovektor.com/ua/physical_product/317938-hemodez-nuk-naduksusnaya-kislota-20-kg.html)
6. Засіб дезінфікуючий «Дезактін» - <https://pestco.com.ua/ua/products/poroshok-dezaktin-dlya-dezinfeksii-1-kg.html>
7. Засіб дезінфікуючий «Міродез універ» - <https://dezsredsva.ub.ua/ru/goods/view/21300455/all/mirodez-univer-1-l/>
8. Кальцинована сода - <https://reaplust.com.ua/soda-kalcinovana-tehnchna-vd-25-kg>
9. Каустична сода - <https://vashapasika.com.ua/dezinfekciya/soda-kaustichna-1kg>
10. Засіб дезінфекційний «Манорм-Екстра» - <https://propecs.ua/product/zasib-dezinfekcijnyj-manorm-ekstra-500-ml/>
11. "Мило рідке з дезінфікуючою дією "PROtect" (Протект) - <https://sfera.ua/ridke-milo-pro-service-protect-z-dezinfikujuchuju-dieju-5l>
12. Дезінфікуючий шкірний антисептик «РОСА+» - <https://anolitantisept.com.ua/product/antyseptyk-dezinfikuyuchyj-zasib-rosa-5l/>

Враховуючи результати розрахунку у табл. 5.1, обираємо у якості найбільш ефективного дезінфікуючого засобу «Дезактін», кальциновану технічну соду у якості мийного засобу, антисептик «РОСА+» для дезінфекції шкіри

персоналу. Слід зауважити, що з часом слід змінювати типи дезінфікуючих засобів, оскільки йде адаптація сторонньої мікробіоти до вибраного дезінфікуючого засобу.

#### **5.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища**

Для отримання препарату «Туберкулін» поживне середовище має такий склад, г/л [23]:

Глюкоза – 10

Гліцерин – 60,4

$\text{Fe}(\text{NH}_4)_3 (\text{C}_6 \text{H}_5 \text{O}_7)_2$  - 0,075

NaCl – 2

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 2

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 1

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,01

$\text{CaCl}_2$  – 0,02

$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  – 0,002

Аспарагін – 5

Умови культивування передбачають оптимальні умови росту за рН 7,1 та температури 37 °С.

Глюкозу, аспарагін та гліцерин готуємо та стерилізуємо при температурі 112°С та тиску 0,05 МПа упродовж 30 хв. Фосфатні солі стерилізують в автоклаві окремо від солей магнію та кальцію з метою запобігання утворення нерозчинних осадів солей [3,54,56].

Виробниче культивування продуцента туберкулопротеїну здійснюватиметься у ферментері об'ємом 20 л, коефіцієнт заповнення – 0,6. Підготовка посівного матеріалу буде проходити в одну стадію, в качалочних колбах, для процесу струшування рідини і таким чином сприянню

розчиненню кисню в середовищі, створюючи оптимальні умови для життєдіяльності мікобактерії.

Стерилізацію поживного середовища для отримання інокуляту в колбах на качалках будемо проводити в автоклаві, оскільки об'єм середовища разом з інокулятом на даній стадії становить 1,2 л.

## РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання

Специфікація ділянки допоміжних робіт та виробничого біосинтезу (з наведенням конкретних габаритних розмірів і конструктивних особливостей обладнання).

Табл. 6.1

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика*
1	2	3	4
ПЗ-1	Пристрій для забору повітря	1	Даховий вентилятор Vents/ВЕНТС ВКВ 2Е 220. 2700 об/хв, кількість полюсів 2Р (3000 об/хв), максимальна температура 55°С Компанія: Climatinvest, Україна [1]
ФГО-2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Фільтр G2 FL 150, 10 мм. Фільтруючий матеріал – синтетичні волокна поліестера, вологостійкість до 100%, термостійкість до 80°С, самогаснучий матеріал. Ефективність очищення: 60-65% Виробник: Компанія «НТН», Німеччина [2]
К-3	Компресор	1	Компресор повітряний Dnipro-M АС-20. Об'єм ресивера 20 л. Продуктивність: 140 л/хв 24/хв Максимальний тиск (0,4 МПа) Виробник: Компанія «Dnipro-M», Україна [3]

					НУХТ БТЕК 04.01.51 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум	Підпис	Дата			
Розробл.	Косяк А.Ю.				Лит.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Пенчук Ю.М.					3	90
Консультант					49		
Н. Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.	Стабніков В.П.						

Розділ 6. Специфікація  
обладнання

Продовження таблиці 6.1.

ТО-4 ТН-6	Теплообмінник охолоджувач, нагрівач	2	Теплообмінник дворядний Roen Est 40-20/2R Продуктивність: 16,9 кВт Матеріал: мідь-алюміній Макс. доп. темп. води: 130°C Виробник: Компанія «Roen Est», Італія [4]
Р-5	Ресивер	1	Повітряний ресивер 20 л / Ø256 AIR TUBE 20L Робочий тиск 12,5 бар Діапазон температур T <sub>min.</sub> = 50 ° C, T <sub>max</sub> = + 65 ° C Виробник: Компанія «Afo Makina», Туреччина [5]
Ф-7	Головний фільтр очистки	1	Базальтовий рукавний фільтр, 2.5-3 мм Діапазон робочих температур ≤450°C Максимальна температура: 550°C Виробник: Компанія «AFF», Україна [6]
Ф-8 Ф-9	Фільтр індивідуальний	2	Боросилікатний фільтр для очистки повітря Ultradepth IPSRF Діапазон температур: від - 20 до 200 ° C Ступінь очищення повітря: 99,999 % Виробник: Компанія «Donaldson», США [7]
ФР-10	Ферментер	1	Одноразовий ферментер Flexsafe STR Об'єм 20 л Виробник: Компанія «Biostat», Фінляндія [8]
НВ-11	Насос відцентровий	1	Фармацевтичний відцентровий насос Tarflo T50 Продуктивність: 60 л/хв; (3/4") Виробник: Компанія «Tarflo Pumps», ВБ [9]

Закінчення таблиці б.1.

-	Ваги технічні для зважування компонентів середовищ	2	Ваги лабораторні, нержавіюча сталь, Дискретність 0,001 г Виробник: Компанія «AXIS», Польща [10]
---	--	---	--

\*Примітка. Посилання на обладнання:

1. – <https://ventsvent.com.ua/ru/vents-vkv-2e-220-dakhovyi-ventyliator/>
2. – <https://liag.prom.ua/ua/p985243888-filtr-gruboj-ochistki.html>
3. – <https://dnipro-m.ua/ru/tovar/kompressor-vozdushnyj-ac-20/>
4. – <https://alltan.com.ua/ua/p13617109-teploobmennik-dvuhryadnyj-roen.html>
5. – <https://hydrolider.com.ua/ua/p608521879-vozdushnyj-resiver-256.html>
6. – <https://www.aff.com.ua/bazaltovyi-rukavnyi-filtr>
7. – <https://www.donaldson.com/en-be/compressed-air-process/products/compressed-air-gas/filter-elements/industrial-elements/mx/>
8. – <http://www.sartorius-sd.com.ua/index.php/%D0%BE%D0%B4%D0%BD%D0%BE%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%BE%D0%B2%D1%8B%D0%B5-%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D1%80%D0%B5%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%80%D1%8B/biostat%C2%AE-rm.html>
9. – <https://tapflo.ua/ru/products/diaphragm/pe-ptfe-series-pumps/t50-and-tx50-1-2>
10. – <https://www.avtoves.ua/ukr/catalog/laboratornyye-vesy/product.html?id=1492>

## РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

### *ДР 1. Підготовка стерильного аераційного повітря*

#### *ДР 1.1. Забір атмосферного повітря*

Забір атмосферного повітря для забезпечення аераційних процесів виробництва здійснюють на висоті 2 м від зрізок даху (ПЗ-1).

#### *ДР 1.2. Очищення повітря від пилу та механічних домішок*

Повітря пропускають через набивний фільтр (ФГО-2), де відбувається відділення крупних часток бруду та затримка пилу до ступеня очищення 75%.

#### *ДР 1.3. Стиснення повітря*

Стиснення повітря проводиться у компресорі (К-3) до тиску 0,4 МПа, температура повітря зростає до 200°C.

#### *ДР 1.4. Охолодження повітря та видалення вологи*

Після компресування вміст вологи у повітрі збільшується, з метою виведення вологи повітря охолоджують до 18-19°C у теплообміннику (ТО-4). Далі повітря подають до ресивера (Р-5), де відбувається відділення зайвої вологи до вмісту  $W=40\%$ .

#### *ДР 1.5. Нагрівання повітря*

З метою зниження ризику конденсації вологи на волокнах головного та індивідуальних фільтрів, повітря підігрівають у теплообміннику-нагрівачі (ТН-6) до температури 40°C.

					НУХТ БТЕК 04.01.51 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум	Підпис	Дата			
Розробл.	Косяк А.Ю.				Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Пенчук Ю.М.					7	90
Консультант					52		
Н. Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.	Стабніков В.П.						
Розділ 7. Опис технологічної схеми							

### ***ДР 1.6. Очищення повітря в головному фільтрі***

Встановлюється фільтр (Ф-7). При використанні у якості фільтруючого матеріалу використовують базальтовий фільтр, ступінь очищення якого становить  $E=95\%$ .

### ***ДР 1.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі***

Встановлюється фільтр (Ф-8). При використанні у якості фільтруючого матеріалу боросилікату, ступінь очищення становить  $E=99,999\%$ .

### ***ДР 2. Приготування і стерилізація поживних середовищ***

#### ***ДР 2.1. Приготування і стерилізація поживного середовища для колб***

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках наведений у *табл. 7.1*.

*Таблиця 7.1*

#### **Склад композицій для стерилізації компонентів для вирощування в посівного матеріалу в колбах на качалках**

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонента в 1,2 л середовища, г	Композиція	Об'єм композиції, л
Гліцерин	60,4	72,48	А	0,4
Глюкоза	10	12		
Аспарагін	5	6		
Вода		309,52		
$\text{Fe}(\text{NH}_4)_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$	0,075	0,09	Б	0,4
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1	1,2		
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,01	0,012		
$\text{CaCl}_2$	0,02	0,024		

CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O	0,002	0,0024		
NaCl	2	2,4		
Вода		396,27		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2	2,4	<b>В</b>	0,4
Вода		397,6		
<b>Разом:</b>		<b>1,2</b>		<b>1,2</b>

*ДР 2.1.1. Приготування і стерилізація композиції А*

На технічних терезах зважують 72,48 г гліцерину. Також зважують 12 г глюкози і 6 г аспарагіну. Наважки поміщають у колбу об'ємом 3000 мл, додають 309,52 мл питної води, до загального об'єму 400 мл. Перемішують, закривають ватно– марлевим корком і стерилізують в автоклаві при t = 112 °С (30 хв), 0,05 МПа.

*ДР 2.1.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

На технічних терезах зважують 1,2 г MgSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O та 2,4 г NaCl; на торсійних терезах зважують 0,09 г Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>)<sub>2</sub>, 0,012 г ZnSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O, 0,024 г CaCl<sub>2</sub>, 0,0024 г CoCl<sub>2</sub>• 6H<sub>2</sub>O. Наважки поміщають у колбу об'ємом 1000 мл, додають 396,27 мл води водопровідної, перемішують, закривають ватно–марлевим корком і стерилізують в автоклаві при t = 131 °С (40 хв), 0,15 МПа.

*ДР 2.1.3. Приготування і стерилізація композиції В*

На технічних терезах зважують 2,4 г KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Наважку поміщають у колбу об'ємом 1000 мл, додають 397,6 мл води водопровідної, перемішують, закривають ватно–марлевим корком і стерилізують в автоклаві при t = 131 °С (40 хв), 0,15 МПа.

*ДР 2.1.4. Змішування композицій*

В асептичних умовах у колбу об'ємом 3000 мл з простерилізованою композицією А (від ДР 2.1.1) зливають композиції Б, В (від ДР 2.1.2, 2.1.3.), перемішують.

***ДР 2.2. Приготування і стерилізація поживного середовища для ферментера об'ємом 20 л***

Для культивування у ферментері об'ємом 20 л, необхідно приготувати 12 л поживного середовища.

Вміст компонентів для приготування 12 л середовища наведено у *табл. 7.2.*

*Таблиця 7.2.*

**Розрахунок вмісту компонентів для приготування 12 л середовища**

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонента в 12 л середовища, г	Композиція	Об'єм композиції, л
Гліцерин	60,4	724,8	<b>А</b>	9,6
Глюкоза	10	120		
Аспарагін	5	60		
Вода питна		8695,2		
$\text{Fe}(\text{NH}_4)_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$	0,075	0,9	<b>Б</b>	0,6
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1	12		
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,01	0,12		
$\text{CaCl}_2$	0,02	0,24		
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,002	0,024		
$\text{NaCl}$	2	24		
Вода водопровідна		562,71		
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	2	24	<b>В</b>	0,6
Вода водопровідна		576		
<b>Разом:</b>		<b>10,8</b>		<b>10,8</b>

*ДР 2.2.1. Приготування і стерилізація композиції А*

На технічних терезах зважують 724,8 г гліцерину. Зважують 120 г глюкози і 60 г аспарагіну. Наважки поміщають у колбу об'ємом 5000 мл, додають 1595 мл питної води, перемішують. Далі наважки поміщають у збірник об'ємом 20 л, додають 7,1 л води. Потім збірник закривається, стерилізують при  $t = 112 \text{ }^\circ\text{C}$  (30 хв), 0,05 МПа.

*ДР 2.2.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

На технічних терезах зважують 12 г  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 24 г  $\text{NaCl}$ , 0,9 г  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$ , 0,12 г  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,24 г  $\text{CaCl}_2$ , 0,024 г  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Наважки поміщають у колбу об'ємом 2000 мл, додають 562,71 мл води водопровідної, перемішують, Закривають ватно–марлевым корком і стерилізують в автоклаві при  $t = 131^\circ\text{C}$  (40 хв), 0,15 МПа.

#### *ДР 2.2.3. Приготування і стерилізація композиції В*

На технічних терезах зважують 24 г  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Наважку поміщають у колбу об'ємом 2000 мл, додають 576 мл води водопровідної, перемішують, закривають ватно–марлевым корком і стерилізують в автоклаві при  $t = 131^\circ\text{C}$  (40 хв), 0,15 МПа.

### ***ТП 3. Підготовка посівного матеріалу***

#### *ТП 3.1. Підтримання колекційної культури*

Отриману колекційну культуру *Mycobacterium tuberculosis* 2 зберігають у пробірці на скошеному щільному агаризованому середовищі (щільне яєчне середовище з гліцерином) у темряві, при температурі  $2-4^\circ\text{C}$ . Пересіви на свіже поживне середовище проводять 1-2 рази на місяць. Всі роботи з колекційною культурою проводять строго в асептичних умовах.

#### *ТП 3.2. Одержання робочої культури*

Колекційну культуру методом виснажувального штриха пересівають на чашку Петрі з щільним яєчним середовищем з гліцерином для одержання ізолюваних колоній. Культивують в термостаті при  $t = 37^\circ\text{C}$  (48 год).

#### *ТП 3.3. Вирощування інокуляту на агаризованих поживних середовищах*

Отримані ізолювані колонії з чашки Петрі (від ТП 3.2) пересівають петлею в пробірки зі скошеним щільним яєчним середовищем (одна ізолювана колонія використовується для засіву однієї пробірки). В пробірки пересівають ізолювані колонії, що знаходяться на відстані не менше 1 см. Культивують в термостаті при  $t = 37^\circ\text{C}$  (24 год).

### *ТП 3.4. Вирощування інокуляту в колбах на качалках*

Колбу з композиціями А, Б, В (від ДР 2.1.4) перемішують та розливають по 150 мл у 8 качалочні колби об'ємом 750 мл.

У пробірку з робочою культурою *Mycobacterium tuberculosis* 2 (від ТП 3.3) вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини (змивають культуру), піпеткою відбирають одержану бактеріальну суспензію і вносять у качалочні колби з поживним середовищем. Для засіву однієї колби використовують бактеріальну суспензію, одержану з однієї пробірки. Культивують на качалках (320 об/хв) при  $t = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$  (24 год).

### **ТП 4. Біосинтез**

#### *ТП 4.1. Виробниче культивування*

У ферментер через засівну колбу, вносять композицію А (від ДР 2.2.1.), композицію Б (від ДР 2.2.2.) та композицію В (від ДР 2.2.3.).

Вмикають перемішуючий пристрій. Через засівну колбу вносять 1200 мл посівного матеріалу від ТП 3.4. Культивують до концентрації туберкулопротеїну 3,88 г/л при  $t = 37^{\circ}\text{C}$  з частотою обертів перемішуючого пристрою 100 об/хв (при періодичному включенні мішалки) і постійною аерацією (значення  $p\text{O}_2 = 20\text{--}30\%$  від насиченого повітря) впродовж 540 годин (21 доба).

### **ЗВ 5. Знешкодження відходів**

#### *ЗВ 5.1. Знешкодження повітряних відходів*

Відпрацьоване повітря, яке надходить від посівних апаратів та ферментера (від ТП 3, ТП 4) відправляють у системи очищення повітряних відходів.

Для очищення повітряногазових відходів пропонується використати метод рідкофазного окиснення на гіпохлориті натрію.

#### *ЗВ 5.2. Знешкодження відходів у процесі культивування*

Відходи, що утворюються у процесі культивування даного мікроорганізму відправляються на утилізацію у спеціалізовані служби, оскільки мікроорганізм є дуже патогенним та ферментер є одноразовим.

Для знешкодження біологічних та медичних відходів найбільш використовуваним способом є спалювання.

## РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва

### 8.1. Карта постадійного контролю

У табл.8.1 наведено карту постадійного контролю.

Табл. 8.1

#### Карта контрольних точок виробництва туберкуліну

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю та показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та відбору проб	Нормативні значення показника
1	2	3	4	5
<i>ДР 1. Забір атмосферного повітря</i>				
Кт 1.1 Забір атмосферного повітря	Висота забору повітря	Висота труби забору	Протягом всього циклу виробництва	H = 2 м
Кт 1.2 Попереднє грубе очищення	Очищене повітря, ступінь очищення повітря на виході з фільтра, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеню очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки у фільтрі грубого очищення	E = 75%, тиск згідно паспорту
Кт 1.3 Стиснене повітря	Стиснене повітря, температура, тиск	Манометр технічний, термометр	Повітря після компресорування	P=0,4 МПа, t=200 °C
Кт 1.4 Охолодження повітря і видалення вологи	Охолоджене повітря, температура	Термометр технічний, психрометричний метод	Після охолодження повітря і видалення вологи	t=18-19°C, W=40%

<b>НУХТ БТЕК 04.01.51 КР ПЗ</b>				
Змн.	Лист	№ докум	Підпис	Дата
Розробл.		Косяк А.Ю.		
Перевір.		Пенчук Ю.М.		
Консультант				
Н. Контр.				
Затверд.		Стабніков В.П.		
<b>Розділ 8. Контроль виробництва</b>				
			Лім.	Арк.
			12	90
			59	
			Кафедра БТМ	

Продовження таблиці 8.1.

Кт 1.5 Підігрів повітря	Підігріте повітря, температура	Термометр технічний	Після нагріву повітря	t=40°C
Кт 1.6 Очищення повітря на головному у фільтрі	Очищене повітря, перепади тисків, ступінь очищення повітря на виході з фільтра	Манометр, перевірка ступеню очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки у фільтрі головного очищення	E=95%, тиск згідно паспорту
Кт 1.7 Очищення повітря на індивідуальних фільтрах	Очищене повітря, ступінь очищення повітря	Перевірка ступеню очищення повітря згідно паспорту фільтра	Під час очищення повітря на індивідуальних фільтрах	E=99,999% , тиск згідно паспорту
<b>ДР 2.1 Приготування і стерилізація поживного середовища для колб</b>				
Кт 2.1.1 <i>Приготування і стерилізація композиції А</i>	Тиск, температура, час, стерильність, відсутність мікробіоти	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	P = 0,05 МПа, t = 112 °С, 30 хв, відсутність мікробіоти
Км, Кт 2.1.2 <i>Приготування і стерилізація композиції Б</i>	Тиск, температура, час, стерильність, відсутність мікробіоти	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	P = 0,15 МПа, t = 112 °С, 30 хв, відсутність мікробіоти

Продовження таблиці 8.1.

Км, Кт 2.1.3 <i>Приготування і стерилізація композиції В</i>	Тиск, температура, час, стерильність, відсутність мікробіоти	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	P = 0,15 МПа, t = 112 °С, 30 хв, відсутність мікробіоти
Км 2.1.4 <i>Змішування композиції</i>	Стерильність, відсутність мікробіоти	Мікробіологічний контроль	-	Відсутність мікробіоти
<b><i>ДР2.2 Приготування і стерилізація поживного середовища для ферментера об'ємом 20л</i></b>				
Кт 2.2.1 <i>Приготування і стерилізація композиції А</i>	Тиск, температура, час, стерильність, відсутність мікробіоти	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль, автоклав	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	P = 0,05 МПа, t = 112 °С, 30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 2.2.2 <i>Приготування і стерилізація композиції Б</i>	Тиск, температура, час, стерильність, відсутність мікробіоти	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль, автоклав	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	P = 0,15 МПа, t = 112 °С, 30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 2.2.3 <i>Приготування і стерилізація</i>	Тиск, температура, час, стерильність, відсутність мікробіоти	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль, автоклав	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний	P = 0,15 МПа, t = 131 °С, 40 хв,

<i>ція композиції В</i>			й контроль після стерилізації	відсутність мікробіоти
<b>ТПЗ Підготовка посівного матеріалу</b>				
Км, Кт 3.1 <i>Підтримання колекційної культури</i>	Температура, час, стерильність, відсутність мікробіоти	Термометр, автоклав, мікроскоп	Мікробіологічний контроль проводять кожні 8 годин	T=4°C, пересів 1-2 рази на місяць, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 3.2 <i>Одержання робочої культури</i>	Температура, час, стерильність, відсутність мікробіоти	Термометр, годинник, мікроскоп	Мікробіологічний контроль проводять кожні 8 годин	T=37°C, 48 год, відсутність сторонньої мікробіоти
Км, Кт 3.3 <i>Вирощування інокуляту на агаризованих поживних середовищах</i>	Температура, час, стерильність, відсутність мікробіоти	Термометр, годинник, мікроскоп	Мікробіологічний контроль проводять кожні 12 год	T=37°C, 24 год, відсутність сторонньої мікробіоти
Км, Кт 3.4 <i>Вирощування інокуляту в колбах на качалках</i>	Температура, час, стерильність, відсутність мікробіоти, тахометр	Термостат, годинник, тахометр	Мікробіологічний контроль проводять кожні 12 год	T=37°C, 24 год, 320об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти

<b>ТП4 Біосинтез</b>				
Км, Кт 4.1 <i>Виробничий біосинтез</i>	Температура, час, стерильність, відсутність мікробіоти, тахометр	Годинник, термометр, технічний тахометр, датчик рН, мікроскоп, аератор	Температура, швидкість обертання мішалки (періодичне), рівень рН, мікроскопіювання – кожні 8 годин, постійна аерація (pO <sub>2</sub> = 30-30%)	T=37°C, 720год, 3,88г/л, рН=7,0 100об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти

## 8.2. Мікробіологічний контроль

Для перевірки стерильності композицій перед засівом культури та якості отриманого матеріалу здійснюється обов'язковий мікробіологічний контроль. Найшвидшим способом є фарбування за Цілем-Нільсеном та проведення прямого мікроскопіювання. Даний тип фарбування пов'язаний з кислотостійкістю бактерії та особливістю речовин, що входять до складу клітинної стінки (ліпіди, воски і оксикислоти). Препарат готують на знежиреному предметному скельці, мазок фарбують карболовим фуксином Ціля під час нагрівання впродовж 3-5 хвилин, далі розчин знебарвлюють розчином сірчаної кислоти. Після дофарбовують 3-5 хвилин метиленовим синім. Кислотостійкі організми матимуть рубіново-червоний колір, некислотостійкі – блакитно-синій. Мікроскопіюють з імерсійною системою на збільшенні 90. У полі зору мікроскопа має бути присутня лише культура продуцента і відсутня стороння мікробіота, що відрізняється морфологічними ознаками та нестійкістю до барвника, на відміну від культури клітин *Mycobacterium tuberculosis* [63,64].

**Мікробіологічні показники.** Перевірка на наявність сторонньої мікробіоти проводиться 1 раз на 2 тижні, або частіше за наявності візуальних

змін. Для цього препарат висівається на поживні середовища МПА, МПБ та МППБ (м'ясо-пептонний печінковий бульйон) під вазеліновим маслом (середовище Кітт-Тароцці) та середовище, на якому вирощувалися мікобактерії за рецептурою.

Розраховують м'ясопептонний бульйон і м'ясопептонний печінковий бульйон по 100 см<sup>3</sup> у флакони. м'ясопептонний агар і середовище мікобактерій по 5-6 см<sup>3</sup> в пробірки, стерилізують в автоклаві протягом 30 хв при 0.1 МПа. Проводять висів по 1 - 1,5 см<sup>3</sup> розчину туберкуліну в три флакони (пробірки) з кожним середовищем. Посіви повинні залишатися стерильними при витримуванні їх у термостаті протягом 10 діб при температурі 37-38°C, на інших - при 20- 22°C. Наявність сторонньої мікробіоти свідчить про незадовільну чистоту обладнання та середовища для росту цільового продукту [65-67].

### **8.3. Показники росту і синтезу цільового продукту**

#### **8.3.1. Концентрація біомаси**

Через складність поживного середовища і специфіку продукту синтезу, туберкулопротеїну, узгоджено вимірювати біомасу на етапі посівного матеріалу, а саме непрямим методом за оптичною густиною (каламутністю) бактеріальної суспензії із застосуванням побудови калібрувального графіку. Оптичну густина 1 мл аліквот культур мікобактерій вимірювали кожні три дні протягом 21 дня за допомогою фотоелектроколориметра, є широко використовуваним методом визначення кількості клітин мікроорганізмів, що ростуть у культурі. Оптична щільність вимірює ступінь розсіювання світла, викликаного бактеріями в культурі; чим більше бактерій, тим більше розсіюється світло. Бактерії в більшості ростуть за значення довжини хвилі 600 нм. Для отримання кращих результатів використовується розведення зразків, оскільки результат може бути неточним через занадто велику кількість клітин у зразку.

Наступним етапом обробки отриманих даних є побудова калібрувальної кривої, на якій відкладається значення фотоелектроколориметра на осі ординат, а кількість клітин в 1,0 мл суспензії, або значення біомаси в г/л на осі абсцис. Оптична щільність вимірює ступінь розсіювання світла, викликаного бактеріями в культурі; чим більше бактерій, тим більше розсіюється світло [65,66,68,69].

### **8.3.2. Концентрація цільового продукту**

#### **8.3.2.1. Масова доля білку в сухому продукті**

Для цього в 1 см<sup>3</sup> розчину сухого туберкуліну, отриманого після розчинення вмісту п'яти флаконів туберкуліну у 20 см<sup>3</sup> дистильованої води, вводять у передперегріті та охолоджені до 20- 22°C та зважені фарфорові тиглі. Тиглі з туберкуліном висушують до постійної маси в сушильній шафі при температурі 105-110°C. Після охолодження в ексікаторі тиглі зважують. Масу сухої речовини туберкуліну в 1 см<sup>3</sup> розчину визначають за різницею маси тигля з висушеним туберкуліном та передпередньо висушеного порожнього тигля. Масову частку сухої речовини в туберкуліні обчислюють за результатами трьох паралельних вимірювань:

$$X_1 = X \times 100 / m,$$

де X – масова концентрація у пробі, мг/см<sup>3</sup>

m – маса сухої речовини в 1 см<sup>3</sup> розчину, мг

Масова доля білку в сухому розчині має складати в межах 60±20 [65].

#### **8.3.2.2. Оцінка біологічної дії**

Обов'язковим є перевірка біологічної активності та реактогенності туберкуліну очищеного (ППД) на морських свинках, сенсibiliзованих мікобактеріями штаму *M. tuberculosis*. Концентрація туберкуліну у цьому розчині впливає на ступінь імунної реакції [65,70].

Здоровим морським свинкам-альбіносам або з білими боками масою не більше 400 г внутрішньо шкірно вводять 0,2 мг препарат об'ємом 0,1 см<sup>3</sup> стерильного фізіологічного розчину. Морські свинки можуть бути використані через 30 діб після сенсibiliзації.

Тварини можуть бути використані багаторазово з інтервалом не менше ніж 30 діб між дослідженнями.

Готується суміш із п'яти флаконів з туберкуліном випробуваної серії. Сухий туберкулін попередньо розчиняють у розчиннику, що додається до нього. 1 см<sup>3</sup> розчину туберкуліну переносять пробірку з 9 см<sup>3</sup> стерильного фізіологічного розчину та перемішують. З пробірки 1 см<sup>3</sup> переносять у другу пробірку з 4 см<sup>3</sup> фізіологічного розчину та таким чином одержують 1-е розведення туберкуліну. З другої пробірки 1 см<sup>3</sup> розчину переносять у пробірку з 9 см<sup>3</sup> фізіологічного розчину та одержують 2-ге розведення туберкуліну.

Таким же способом готують розведення 3 і 4 контрольної серії туберкуліну, що містять 1 см<sup>3</sup> 1000 та 100 МО. Для приготування розведень контрольної серії туберкуліну використовують три флакони із сухим туберкуліном, вміст яких розчиняють у розчиннику мікобактеріальних алергенів, з таким розрахунком, щоб 1 см<sup>3</sup> містилося 50000 МО.

Інтенсивність реакції враховують через 24 години після введення препаратів вимірюванням діаметра папули, що утворюється в місці ін'єкції туберкуліну.

При обробці результатів випробування враховують лише свинок, що реагують на всі розведення туберкуліну. З огляду на визначення активності препарату кількість морських свинок, що реагують на всі розведення туберкуліну, має бути не менше десяти. Активність туберкуліну (А) у Міжнародних одиницях (МО) обчислюють за формулою:

$$A = (d_1/d_2) \times 50000,$$

де  $d_1$  - сума середніх діаметрів папул на випробувану серію, мм;  $d_2$  - сума середніх діаметрів папул на контрольну серію туберкуліну, мм; 50000 - вміст МО в  $1 \text{ см}^3$  основного розчину контрольної серії туберкуліну.

**Активність стандартного розчину.** Номінальне значення значення активності стандартного розчину туберкуліну очищеного (ППД) складає  $50000 \pm 15000 \text{ МО/ см}^3$ .

### 8.3.3. Методи ідентифікації цільового продукту

За допомогою хроматографу з обладнанням УФ-детектором (рис. 8.1) за довжини 280 нм («2238 Uvicord S II», LKB, Швеція); виявляють та надають кількісну оцінку ширини та амплітуди білкового піку. Реєстрацію проводять двоканальним детектором («2210 Recorder», LKB, Швеція). Збір фракцій здійснюють із застосуванням колектора фракцій («2070 Ultrorac II», LKB, Швеція), з розміром пор 0,2 мкм та ультрафільтраційні модулі з мембранами, що відділяють речовини з молекулярною масою від 3 до 300 кДа. Колонки заповнені ультрагелем AcA 34 довжиною  $1.6 \times 40$  см. Цей спосіб дозволяє отримати більший вихід туберкуліну, що має кращу технологію та високу специфічність [65,66,69,70].



**Рис. 8.1.** Хроматограф ВЕРХ LKB uPrecision HPLC Dual Pump

### 8.3.4. Концентрація джерела вуглецю і азоту

Джерелом вуглецю в процесі біосинтезу туберкуліну виступає гліцерин та глюкоза. Концентрацію першого визначають методом ВЕРХ, а глюкози виміряють глюкозооксидазним методом.

#### *Визначення концентрації гліцеролу*

За допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ, Varian ProStar) було отримано концентрацію гліцерину. Дослідження проводилося у колонці Polypore (H 250 мм × 7 мм). Температура в установці стабільно становила 65 °С, а об'єм введення становив 10 мкл. До складу рухливої фази входив ізократичний 0,04 М розчин сірчаної кислоти; швидкість потоку – 0,9 мл/хв. Для визначення концентрації гліцерину було використано детектор показника заломлення [71].

#### *Визначення концентрації глюкози*

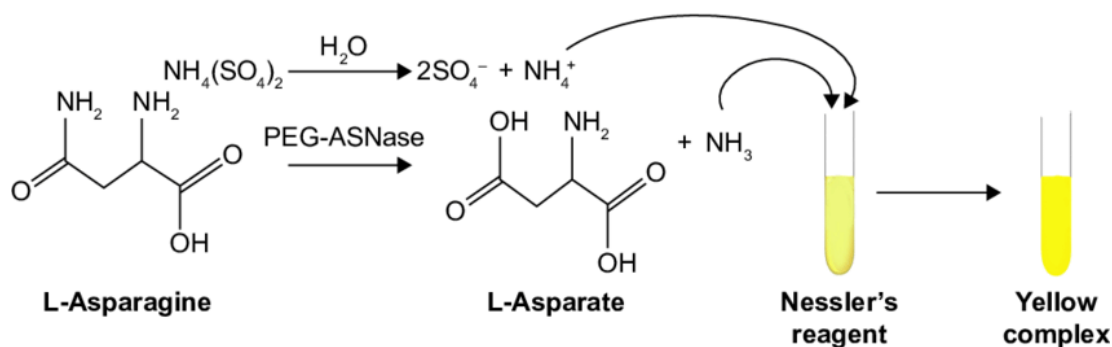
Визначення концентрації глюкози проводять глюкозооксидазним методом. Глюкозооксидаза взаємодіє з глюкозою, перетворюючи її на глюконову кислоту та пероксид водню. Далі пероксид водню реагує з хромогеном (суміш гваяколи та і-амінодиетиланіліну, призводить до зміни кольору). Інтенсивність цього кольору пропорційна кількості глюкози в пробі [68].

До робочого реактиву вносять 80 мл ацетатного буфера та розчиняють 2 мг глюкозооксидази, до нього додають 1 мг пероксидази, 1 мл 1%-ного розчину ортотолідину. Суміш перемішують, доводячи загальний об'єм буферним розчином до 100 мл. Після приготування співвідношення супернатанту до супернатанту складає як 1:3 мл, обережно сполучаючи суміш, її перемішують. За кімнатної температури починає з'являтися насичене забарвлення впродовж 13-15 хв, що починає поступово згасати. Проводиться метод фотометрії при довжині хвилі 625 нм проти контрольного розчину, додаючи замість культуральної рідини фізіологічний розчин.

Розрахунки проводяться за допомогою калібрувального графіку, на одній осі відкладається концентрація глюкози (ммоль/л), а на іншій – величина екстинкції.

#### Визначення концентрації нітрогену

У процесі біосинтезу *Mycobacterium tuberculosis* асимілює аспарагін як джерело органічного Нітрогену. Вміст аспарагіну найлегше визначити провівши реакцію гідролізу з отриманням аспартату (рис.8.2), провівши подальшу реакцію за допомогою реактиву Неслера. Даний метод заснований на відщепленні аміногрупи та переведенні у вільний аміак, який реагує з реактивом Неслера, що формують комплекси блакитного кольору [72].



**Рис.8.2.** Гідроліз аспарагіну до аспартату з подальшою взаємодією з реактивом Неслера [72]

Для цього необхідно змішати 100 мкл супернатанту з 50 мл дистильованої води. До суміші було додано 1 мл реагенту Неслера (Prolabo, Париж, Франція), інкубували сполуку за температури 25 °С впродовж 10 хвилин та аналізували за допомогою спектрофотометра Shimadzu UV-160A (рис.8.3) при 430 нм [72,73].

**Рис. 8.3.** Спектрофотометр Shimadzu UV160U УФ-видимого спектру [73]



#### **8.4. Показники якості готового продукту**

**Зовнішній вигляд.** Суха ліофілізована маса світло-коричневого кольору. Препарат має бути стерильним та в ампулах має бути створений вакуум. Наявність виявляють за стандарту ДСТУ 4664:2006. У кінцевій формі не допускається наявність живих мікобактерій [65,70].

**Розчинність і однорідність.** Має повністю розчинитися впродовж 3 хв з утворенням прозорого розчину світло-коричневого кольору без осаду.

**Питома активність препарату.** Має відповідати вмісту білка 0,5-0,6 мг/см<sup>3</sup> (не більше 1,0).

**Фізико-хімічні показники.** Має бути рН в межах від 6,5 до 7,5 та перевірятися 1 раз у 2 тижні. Має використовуватися рН-метр, що забезпечує вимірювання з точністю до 0,05 од. рН, з роздільною здатністю 0,01 од. рН, та оснащений ручним чи автоматичним визначником температури.

**Зберігання та термін придатності.** Зберігається у холодильнику за температури 4-6°C. Вологість складає 50-60%. Термін придатності ліофілізованої форми препарату складає 2 роки.

## РОЗДІЛ 9. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

### 9.1. Аналіз технологічної схеми виробництва цільового продукту на місцях емісії твердих, рідких та газоподібних відходів

#### *Підготовка та стерилізація поживного середовища*

Для введення підприємчих потужностей до роботи необхідним етапом є забезпечення чистоти процесів, що потребує ретельного миття та дезінфекції, що призводить до утворення рідких відходів .

Пакувальні матеріали, в яких до підприємства надходять компоненти поживного середовища роблять даний етап джерелом твердих відходів.

#### *Підготовка посівного матеріалу*

Для здійснення засіву посівного матеріалу використовують різноманітне обладнання, починаючи від колб, завершуючи ферментером. Бактерія *Mycobacterium tuberculosis* є облигатним аеробом, тому потребує постійної подачі кисню у процесі культивування, що впливає на утворення відпрацьованого повітря, тобто газоподібних відходів.

#### *Біосинтез*

На даному етапі накопичується біомаса мікобактерій, що призводить до утворення культуральної рідини. Через те, що одноразовий ферментер по закінченню процесу культивування слугує збірником культуральної рідини, тому рідкі відходи не враховуються.

### 9.2 Перспективи впровадження системи екологізації виробництва

*Mycobacterium tuberculosis* є патогенним біологічним агентом, що викликає захворювання туберкульоз.

					НУХТ БТЕК 04.01.51 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум	Підпис	Дата				
Розробл.		Косяк А.Ю.			Розділ 9. Охорона довкілля	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Пенчук Ю.М.					6	90
Консультант						71		
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В.П.						

Тому при роботі з ним весь персонал повинен пройти відповідну підготовку щодо лабораторних процедур безпеки, включаючи спеціальні протоколи поводження з мікобактеріями. Це навчання має охоплювати такі аспекти, як належні методи поводження, використання засобів індивідуального захисту (ЗІЗ), оцінка ризиків та утилізація відходів. Щодо дій у разі небезпеки мають бути проведені процедури звітування про інциденти, отримання доступу до медичної допомоги та дезактивацію постраждалих територій [74-78].

Лабораторії повинні мати відповідні інженерні засоби контролю, щоб мінімізувати ризик впливу *Mycobacterium tuberculosis*. Це може включати використання шаф біологічної безпеки або інших пристроїв стримування для запобігання викиду інфекційних аерозолів за допомогою таких методів, як обережне піпетування та уникнення бризок під час роботи. Обов'язковим є уникання їжі, пиття, куріння або застосування косметики в лабораторії [77].

В Україні поводження з забрудненими матеріалами, включаючи культури, середовища та інші відходи регламентують Державні санітарно-протиепідемічні правила й норми, затверджені наказом Міністерства охорони здоров'я від 8 червня 2015 року № 325. Згідно з класифікацією, мікроорганізми відносять до категорії відходів В1, що заборонені законодавством до самостійної діяльності у поводженні з ними [74,75,79].

У свою чергу лабораторії, що працюють з патогенними штамми, повинні відповідати відповідним нормативним вимогам. Передбачений також і внутрішній контроль якості бактеріологічних досліджень - ефективний і систематичний моніторинг та забезпечення відповідності усіх лабораторних процесів затвердженим стандартним операційним процедурам (СОП) і встановленим стандартам [75].

Утилізації та обережному поводженню підлягає будь-який матеріал, що перебував у контакті (потенційним також) зі збудником, включаючи усі типи відходів підприємства [74].

Неналежний збір і транспортування інфекційних відходів становить ризик зараження для всіх людей, які займаються цією діяльністю. Тому для запобігання виникнення заражень в процесі роботи контейнери для інфекційних відходів повинні бути герметичними, стійкими до зламів, виготовленими з пластику або скла та, бажано, мати контейнери з гвинтовими кришками. Після того закриття, його слід протерти дезінфікуючим засобом, а потім висушити [77,78].

Відходи, що утворюються у процесі культивування даного мікроорганізму відправляються на утилізацію у спеціалізовані служби, оскільки мікроорганізм є дуже патогенним та ферментер є одноразовим. Для знешкодження біологічних та медичних відходів найбільш використовуваним способом є спалювання, проте має виконуватися спеціалізованими службами для запобігання та протидії поширенню патогенного збудника.

### **9.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів**

Для впровадження системи екологізації виробництва туберкуліну з метою знешкодження та утилізації рідких відходів можна використовувати сучасні зелені технології. Зокрема застосовувати методи біоремедіації, де живі мікроорганізми нейтралізують токсичні речовини.

Інтеграція сучасних систем очистки води, таких як мембранні біореактори, може забезпечити високу ступінь очищення рідких відходів. Такі системи можуть ефективно видаляти бактерії, органічні забруднювачі та інші шкідливі речовини.

Замкнені виробничі цикли передбачають максимальне повторне використання води та інших ресурсів у виробничому процесі. Це може знизити кількість рідких відходів та зменшити витрати на очищення [87].

### **9.2.2. Система знешкодження та утилізації твердих відходів**

Для утилізації твердих відходів – пакувальних матеріалів, їх необхідно попередньо відсортувати та передати до пунктів переробки вторинної сировини.

Продуцент є збудником захворювань людини та тварин, туберкульозу, тому тверді некондиційні відходи виробництва збираються та направляються на полігон твердих побутових відходів та потребують утилізації відповідно до нормативних документів згідно із законодавством [74,79,80].

### **9.2.3. Система знешкодження газоповітряних викидів**

Відпрацьоване повітря, яке надходить від посівних апаратів та ферментера відправляють у системи очищення повітряних відходів. Для очищення повітряногазових відходів пропонується використати метод рідкофазного окиснення на гіпохлориті натрію [62].

Регеративні теплові окислювачі використовуються для знищення органічних сполук у викидах. Вони забезпечують високу ефективність згоряння і можуть повторно використовувати тепло, що зменшує енергоспоживання. Ця система підходить для видалення летких органічних сполук з виробництв [81].

Скрубери призначені для очищення газоповітряних викидів від пилу і газових домішок, охолодження, осушення і зволоження газів, а також для попереднього очищення і нейтралізації газів перед їх потраплянням у пилоуловлювальні апарати. Вони ефективні через невелику вартість, високу ефективність, можливість роботи при високих температурах і вологості, а також у випадках небезпеки самозаймання або вибуху газів і пилу. Скрубери

дозволяють одночасно здійснювати пиловловлювання, абсорбцію газоподібних домішок і охолодження газів, зазвичай з використанням води як зрошувальної рідини [81,82].

Лабораторні скрубери (0-500 м<sup>3</sup>/год) мобільні та призначені для уловлювання парів кислот, аерозолів лугів і шкідливих газів у витяжних шафах лабораторій. Вони оснащені системою зрошення з форсунками, але мають низьку швидкість обмінних процесів і значні габарити. У верхній частині конструкції розташований каплеуловитель [83].

Відцентрові скрубери, які використовують відцентрову силу, призначені для очищення великих обсягів газу. Газ рухається по гвинтовій лінії, пил намокає і стікає вниз разом з водою, утворюючи пульпу. Відцентрові скрубери мають гідравлічний опір 400-850 Па і забезпечують очищення для частинок більше 30 мкм на 90%, для частинок 5 мкм - 80%, і для частинок менше 5 мкм - 40% [82,83].

#### **9.2.4. Заходи щодо зменшення об'ємів відходів**

Використання одноразових ферментерів для виробництва туберкуліну має значних переваг у зменшенні об'ємів відходів та підвищенні ефективності процесу виробництва.

Одноразові ферментери не потребують очищення та дезінфекції після кожного циклу використання, що значно знижує витрати води, миючих засобів та енергії. Це, у свою чергу, зменшує об'єми хімічних і водних відходів, необхідних для цих процесів [84].

Використання одноразових систем усуває ризик перехресного забруднення між різними партіями продукції, що забезпечує більш стабільну якість продукції та зменшує об'єми відходів, пов'язаних із відбраковуванням забруднених партій [85].

Одноразові ферментери виготовляються з матеріалів, які можуть бути утилізовані або перероблені після використання, що зменшує кількість небезпечних відходів. Використання біорозкладних матеріалів додатково знижує екологічний вплив [84,86].

Використання одноразових систем спрощує та прискорює процес виробництва, зменшуючи потребу в складному обладнанні для очищення та стерилізації. Це зменшує витрати на утримання та обслуговування обладнання і зменшує об'єми відходів від цих процесів [85,86]

Одноразові системи зазвичай потребують менше енергетичних ресурсів для запуску та експлуатації, що сприяє зниженню загального енергоспоживання виробництва та обсягів вуглецевих викидів [84,85].

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. Mosavari N., Karimi A., Tadayon K., Shahhosseini G., Zavaran Hosseini A., Babaie M. Evaluation of Heating and Irradiation Methods for Production of Purified Protein Derivative (PPD) of *Mycobacterium Tuberculosis*. Archives of Razi Institute. 2021, 75(4): 439–449 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

[https://archrazi.areeo.ac.ir/article\\_121556.html](https://archrazi.areeo.ac.ir/article_121556.html)

2. WHO, Guidance for National Tuberculosis Programmes on the Management of Tuberculosis in Children. 2nd edition, 2014, Geneva [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK214439/>

3. Пенчук Ю.М. Загальна біотехнологія [Електронний ресурс]: Конспект лекцій для студентів освітнього ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» денної та заочної форм навчання / Ю.М. Пенчук. – К.: НУХТ, 2018. – 115 с.

4. Prasad T.S.K., Verma R., Kumar S. et al. Proteomic analysis of purified protein derivative of *Mycobacterium tuberculosis*. Clin Proteom. 2013, 10 (8). <https://doi.org/10.1186/1559-0275-10-8>.

5. Закон «Про затвердження Загальнодержавної програми протидії захворюванню туберкульозу» (від 2007 р.) [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://zakon.rada.gov.ua/go/648-16>

6. Публічна статистика МОЗ за 2020 рік (порівняння рівня захворюваності ковідом та туберкульозом) [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://suspihne.media/84314-zdala-test-na-koronavirus-a-otrimala-tuberkuloz-ak-viavlaut-hvorih-v-umovah-pandemii-covid-19/>

7. MSD енциклопедія для фахівців [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.msdmanuals.com/uk/professional/infectious-diseases/mycobacteria/tuberculosis-tb>

8. Закон «Про затвердження Стандарту інфекційного контролю для закладів охорони здоров'я, що надають допомогу хворим на туберкульоз» (від 2019 р.) [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://zakon.rada.gov.ua/go/z0408-19>

9. NIPH – V04CF Tuberculosis diagnostics [Електронний ресурс] – Режим доступу:

[https://www.whocc.no/atc\\_ddd\\_index/?code=V04CF&showdescription=no](https://www.whocc.no/atc_ddd_index/?code=V04CF&showdescription=no)

10. M. Ornelas Concepçi Immune diagnosis of Tuberculosis through novel technologies, understanding tuberculosis - Global Experiences and Innovative Approaches of the diagnosis, 2012 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.intechopen.com/chapters/28548>

11. J Bacteriol. 1992 Feb; 174(4): 1352–1359. [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://journals.asm.org/doi/10.1128/jb.174.4.1352-1359.1992>

12. Офіційний сайт виробника Tuberkulin PPD RT23 «Біофарма» [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.biofarma.co.id/en/our-product/detail/tuberculin-ppd-rt-23-ssi-for-mantoux-test>

13. Туберкулін – ТОВ «Люм'єр Фарма» [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://tabletki.ua/uk/%D0%A2%D1%83%D0%B1%D0%B5%D1%80%D0%BA%D1%83%D0%BB%D0%B8%D0%BD-%D0%BF%D0%BF%D0%B4-rt-23-ssi/21200/#productCardFeatures>

14. WHO, Guidance for National Tuberculosis programmes on the management of tuberculosis in children, 2<sup>nd</sup> edition, 2014, Geneva [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789241548748>

15. Drugs monograph – Tubersol [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.drugs.com/monograph/tuberculin.html>

16. ВООЗ – Туберкульоз (виявлення, лікування, моніторинг) [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://phc.org.ua/sites/default/files/uploads/files/%D0%A2%20%D0%A3%20%D0%91%20%D0%95%20%D0%A0%20%D0%9A%20%D0%A3%20%D0%9B%20%D0%95%20%D0%97%20%D0%92%D1%8B%D1%8F%D0%B2%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5%2C%20%D0%BB%D0%B5%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5%20%D0%B8%20%D0%BC%D0%BE%D0%BD%D0%B8%D1%82%D0%BE%D1%80%D0%B8%D0%BD%D0%B3%20%D0%BF%D0%BE%20%20%D0%9A.%20%D0%A2%D0%BE%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%83.pdf>

17. CDC Tuberculin Skin Testing Fact Sheet, 2020 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.cdc.gov/tb/publications/factsheets/testing/skintesting.htm>

18. Tuberculin - an overview, ScienceDirect Topics [Електронний ресурс] – Режим доступу:

[https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/tuberculin#:~:text=One%20tuberculin%20unit%20\(1%20TU,is%205%20TU%20%3D%200.1%20%CE%BCg](https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/tuberculin#:~:text=One%20tuberculin%20unit%20(1%20TU,is%205%20TU%20%3D%200.1%20%CE%BCg).

19. Буценко Л.М., Пенчук Ю.М., Пирог Т.П. Технології мікробного синтезу лікарських засобів: навч. посіб. –К.: НУХТ, 2010.- 323 с.

20. Mosavari N., Karimi A., Tadayon K., Shahhosseini G., Zavaran Hosseini A., Babaie M. Evaluation of Heating and Irradiation Methods for Production of Purified Protein Derivative (PPD) of *Mycobacterium Tuberculosis*. Archives of Razi Institute. 2021, 75(4): 439–449 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

[https://archrazi.areeo.ac.ir/article\\_121556.html](https://archrazi.areeo.ac.ir/article_121556.html)

21. Hedayati H., Alé-Agha S., Mahinpoor M., Sadri M. Studies on the modification of Dorset - Henly medium for the production of bovine tuberculin. Archives of Razi Institute. 1979, 31(1): 55-59 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

[https://archrazi.areeo.ac.ir/article\\_108841\\_75b23bf91b53f1c9ae4c35b894b39c4d.pdf](https://archrazi.areeo.ac.ir/article_108841_75b23bf91b53f1c9ae4c35b894b39c4d.pdf)

22. Renato Dall'Stella, Marco A. Krieger, Marion Burger, Jorge B. Agottani, Samira Chahad-Ehlers, Vanete Thomaz-Soccol. Development of bioprocess for the production of purified protein derivative with Brazilian strains of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis use. 2007, 127(2): 278–287. doi:10.1016/j.jbiotec.2006.07.007.

23. Merkal R.S., Curran B.J. Growth and metabolic characteristics of *Mycobacterium paratuberculosis*. Appl Microbiol. 1974, 28(2):276-279. doi:10.1128/am.28.2.276-279.1974.

24. S. Percival, M. Yates «Microbiology of Waterborne Diseases (Second Edition). Microbiological Aspects and Risks», 2014, p. 667-695. [Електронний ресурс] – Режим доступу:

[https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/mycobacterium#:~:text=Mycobacteria%20are%20Gram%2Dpositive%2C%20catalase,pink%20\(Iivanainen%2C%201999\)](https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/mycobacterium#:~:text=Mycobacteria%20are%20Gram%2Dpositive%2C%20catalase,pink%20(Iivanainen%2C%201999))

25. Bergey's manual of determinative bacteriology, 1948, p. 878. [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://archive.org/details/bergeysmanualofd00amer/page/878/mode/2up>

26. R. Jabir, A. Rukmana «The Existence of *Mycobacterium tuberculosis* in Microenvironment of Bone», 2016. [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://www.intechopen.com/chapters/55940>

27. Woese C. Bacterial evolution. Microbiol Rev 51, 221–277, 1987. [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC373105/>

28. L. F. Fu, C. Fu-Liu Genome comparison of *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria, Journal «Omics», 2002, p.199-206. [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12143965/>

29. Fitzgerald DW, Sterline TR, Haas DW "251 – *Mycobacterium tuberculosis*". Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Elsevier Saunders. p. 2787, 2015 [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://eol.org/pages/6385875/articles>

30. Bergey's manual of determinative bacteriology, 1948, p. 878. [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://archive.org/details/bergeysmanualofd00amer/page/878/mode/2up>

31. A. Gouzy, C. Healy, K. Black Growth of *Mycobacterium tuberculosis* at acidic pH depends on lipid assimilation and is accompanied by reduced GAPDH activity, University of Cambridge, 2021. [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.2024571118>

32. O. H. Vandal, L. M. Pierini, D. Schnappinger, C. F. Nathan, S. Ehrt, A membrane protein preserves intrabacterial pH in intraphagosomal *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat. Med.* 14, 849–854, 2008. [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18641659/>

33. H. Botella., *Mycobacterium tuberculosis* protease MarP activates a peptidoglycan hydrolase during acid stress. *EMBO J.* 36, 536–548, 2017. [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28057704>

34. J. J. Baker, B. K. Johnson, R. B. Abramovitch, Slow growth of *Mycobacterium tuberculosis* at acidic pH is regulated by phoPR and host-associated carbon sources. *Mol. Microbiol.* 94, 56–69, 2014. [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24975990>

35. Y. Yam, N. Alvarez Extreme Drug Tolerance of *Mycobacterium abscessus* “Persisters”, *Front. Microbiol.*, 2020, p.359. [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7064438/>

36. K. Borah, A. Theorell, H. Wu Intracellular *Mycobacterium tuberculosis* Exploits Multiple Host Nitrogen Sources during Growth in Human Macrophages,

Cell reproduction journal, 2019, p. 3580-3591 [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6915324/>

37. R. Kathiah, G. Thaningaimani Textbook of pathology, p.624, 2016. [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://books.google.dk/books?id=XaZ1EAAAQBAJ&pg=PA624&lpg=PA624&dq=mycobacterium+tuberculosis+This+bacterium+can+resist+weak+disinfectants+and+can+survive+in+a+dry+state+for+weeks&source=bl&ots=cRvOTrav3&sig=ACfU3U3mWVxxdjSSWlhKEhtC5kYv4MDYrw&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwis-bPa6dv7AhX0YPEDHdcpCFoQ6AF6BAghEAM#v=onepage&q=mycobacterium%20tuberculosis%20This%20bacterium%20can%20resist%20weak%20disinfectants%20and%20can%20survive%20in%20a%20dry%20state%20for%20weeks&f=false>

38. B. Cumming, C. Addicott Mycobacterium tuberculosis induces decelerated bioenergetic metabolism in human macrophages. Journal «Biochemistry and Chemical Biology», 2018. [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://elifesciences.org/articles/39169>

39. R. Jabir, A. Rukmana «The Existence of Mycobacterium tuberculosis in Microenvironment of Bone», 2016. [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://www.intechopen.com/chapters/55940>

40. S. Gygli, S. Borrell Antimicrobial resistance in Mycobacterium tuberculosis: mechanistic and evolutionary perspectives, FEMS Microbiol Rev (3), 2017, p. 354-373. [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28369307/#:~:text=Mycobacterium%20tuberculosis%20is%20intrinsically%20resistant,drug%20degrading%20and%20modifying%20enzymes.>

41. R. Prasad IISc works to make a common antibiotic more effective against TB, 2017. [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.thehindu.com/sci-tech/health/iisc-works-to-make-a-common-antibiotic-more-effective-against-tb/article19240438.ece>

42. J. Raaijmakers, A. Schildkraut The role of amikacin in the treatment of nontuberculous mycobacterial disease, Journal «Expert Opinion on Pharmacotherapy»(22) 2021, p.1961-1974. [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14656566.2021.1953472>

43. J. Palomino, A. Martin Drug Resistance Mechanisms in Mycobacterium tuberculosis, Antibiotics (Basel), 2014, p. 317-340. [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4790366/>

44. Інтернет база даних «InterPro». [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.ebi.ac.uk/interpro/taxonomy/uniprot/1773/>

45. Інтернет база-даних «BacDive». [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://bacdive.dsmz.de/strain/145193>

46. Дубілет Д. Кількість працездатного населення в Україні, КМУ, 2020 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://ua.korrespondent.net/ukraine/4185685-dubilet-poiasnyv-skorochnnia-naselennia-ukrainy>

47. Міністерство Фінансів України Чисельність населення України з 1990 по 2022 рр., 2022 [Електронний ресурс] – Режим доступу :

<https://index.minfin.com.ua/ua/reference/people/2020/>

48. Осіпова І., Новіченко М. Соціально-демографічні характеристики домогосподарств України Social and Demographic Characteristics of Households of Ukraine Статистичний збірник. Державна служба статистики України, 2021, 92 с. [Електронний ресурс] – Режим доступу :

[https://ukrstat.gov.ua/druk/publicat/kat\\_u/2021/zb/07/zb\\_cdhd\\_21.pdf](https://ukrstat.gov.ua/druk/publicat/kat_u/2021/zb/07/zb_cdhd_21.pdf)

49. БО "Фундація "Громадський рух "Українці проти туберкульозу" Відкрите звернення, 2020 [Електронний ресурс] – Режим доступу :

<https://www.prostir.ua/?news=dytynstvo-bez-tuberkulozu-zahysty-svoje-majbutnje-vidkryte-zvernennya>

50. Центр Громадського здоров'я МОЗ України Річний звіт, 2022 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

[https://phc.org.ua/sites/default/files/users/user90/National\\_response\\_HIV\\_TB\\_VH\\_SMT\\_war\\_2023\\_UKR.pdf](https://phc.org.ua/sites/default/files/users/user90/National_response_HIV_TB_VH_SMT_war_2023_UKR.pdf)

51. Barreteau H., Kovač A., Boniface A., Sova M., Gobec S., Blanot D. Cytoplasmic steps of peptidoglycan biosynthesis FEMS Microbiology Reviews, Volume 32, 2008, p. 168–207 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://academic.oup.com/femsre/article/32/2/168/2683919?login=true>

52. Шлях гліколізу - Mycobacterium bacterium [Електронний доступ].  
Режим доступу:

[https://www.genome.jp/module/mtu\\_M00001](https://www.genome.jp/module/mtu_M00001)

53. KEGG pathway maps - Mycobacterium tuberculosis [Електронний доступ]. Режим доступу:

[https://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_organism?menu\\_type=pathway\\_maps&org=mtu](https://www.genome.jp/kegg-bin/show_organism?menu_type=pathway_maps&org=mtu)

54. Пирог, Т.П. Загальна мікробіологія: підручник, 2-е вид., доп. і перероб. / Т.П. Пирог. – К. :НУХТ, 2010.

55. Методичні вказівки до практичних занять з дисципліни «Основи проектування» для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»/ Укладач: Гуляєв В.М. - Кам'янське: ДДТУ, 2019 р. – 71 с.

56. Карлаш Ю.В., Красінько В.О. Основи проектування біотехнологічних виробництв Електронний ресурс : Навч. посібник. – К.:НУХТ, 2022. –373 с.

57. Диференціація мікобактерій комплексу MICOBACTERIUM TUBERCULOSIS(використання біохімічних тест-наборів Microxpress виробництва Tulip Diagnostics [p] LTD ) : методические рекомендации / Ін-т фтизіатрії і пульмонології ; сост.: Ю. І. Фещенко [и др.]. - К. : Б.В., 2006. - 23 с.

58. Конспект лекцій з дисципліни «Процеси і апарати біотехнологічних виробництв та енерготехнологія» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» за освітньо-професійною програмою «Біотехнології та біоінженерія» /Укладач: к. т. н., доцент кафедри ПБЗХ Анацький А.С., Кам'янське, ДДТУ, 2020 р. - 125 с.

59. Офіційний сайт дистриб'ютора Sartorius в Україні ферментерів BIOSTAT® RM. [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<http://www.sartorius-sd.com.ua/index.php/%D0%BE%D0%B4%D0%BD%D0%BE%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%BE%D0%B2%D1%8B%D0%B5->

<http://biostat.c2ae-rm.html>

60. Оснос С.П. Фільтри на основі базальтових волокон, Україна. [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<http://basaltfm.com/eng/articles/article04.html>

61. Лич І.В. Промислова технологія лікарських засобів [Електронний ресурс]: конспект лекцій для студ. освітнього ступеня бакалавр спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» ден. та заоч. форм навч. / І.В. Лич. – К.: НУХТ, 2017. – 323 с.

62. МОЗУ Державний реєстр дезінфекційних засобів, 2020 р., 304 с. [Електронний ресурс] – Режим доступу:

[https://moz.gov.ua/uploads/ckeditor/%D0%92%D1%96%D0%B4%D0%BA%D1%80%D0%B8%D1%82%D1%96%20%D0%B4%D0%B0%D0%BD%D1%96/2020\\_%D1%80%D0%B5%D1%94%D1%81%D1%82%D1%80%20%D0%B4%D0%B5%D0%B7%D0%B7%D0%B0%D1%81%D0%BE%D0%B1%D1%96%D0%B2%201-821.pdf](https://moz.gov.ua/uploads/ckeditor/%D0%92%D1%96%D0%B4%D0%BA%D1%80%D0%B8%D1%82%D1%96%20%D0%B4%D0%B0%D0%BD%D1%96/2020_%D1%80%D0%B5%D1%94%D1%81%D1%82%D1%80%20%D0%B4%D0%B5%D0%B7%D0%B7%D0%B0%D1%81%D0%BE%D0%B1%D1%96%D0%B2%201-821.pdf)

63. Журило О.А., Клименко М.Т, Барбова А.І. Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф.Г. Яновського НАМН України, «Інструкція з бактеріологічної діагностики туберкульозу», 2002 р. [Електронний ресурс] – Режим доступу:

[http://www.ifp.kiev.ua/doc/staff/dodat\\_45\\_060202\(2\).htm](http://www.ifp.kiev.ua/doc/staff/dodat_45_060202(2).htm)

64. Crothers J., Laga A., Solomon I. Clinical Performance of Mycobacterial Immunohistochemistry in Anatomic Pathology Specimens: The Beginning of the End for Ziehl-Neelsen, *American Journal of Clinical Pathology*, Volume 155, 2021, P. 97–105. [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://academic.oup.com/ajcp/article/155/1/97/5904191?login=false>

65. «ДСТУ 4664:2006 Туберкулін очищений для ссавців у стандартному розчині. Технічні умови»

66. Красінько В.О., Белемець Т.О. Біологія клітини [Електронний ресурс]: лаб. практикум для здобувачів освіт. ступ. «бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» ден. та заоч. форм навчання. - К.: НУХТ, 2018. – 110 с.

67. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія і вірусологія: лабораторний практикум для студ. освітнього ступеня «Бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» денної форми навч. / уклад. Т.П. Пирог, М.М. Антонюк. – К.: НУХТ, 2016. – 126 с

68. Коць С. Я. Воробей Н. А. Кириченко О. В. Мельникова Н. М. Михалків Л. М. Пухтаєвич П. П. "Мікробіологічні препарати для сільського господарства" Головний редактор академік НАН України В.В. Моргун Українською мовою Підп. до друку. 28.11.2016. Київ. Наукове видання Інститут фізіології рослин і генетики національної академії наук України Віддруковано у ТОВ-Видавництві «ЛОГОС».

69. Measuring of *Mycobacterium tuberculosis* growth. A correlation of the optical measurements with colony forming units. [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3804212/>

70. Кассіч О.В. Розробка препарату «ПІД-туберкулін для ссавців очищений» з використанням методів мікрофільтрації та ультрацентрифугування, СНАУ, Суми, 2018, с. 205

71. P. Anand, R.K. Saxena, R.G. Marwah. A novel downstream process for 1,3- propanediol from glycerol-based fermentation. Appl. Microbiol. Biotechnol. (2011) 90:1267–1276. doi:10.1007/s00253

72. Zhang Y., Yongren W. Personalized nanomedicine: a rapid, sensitive, and selective UV–vis spectrophotometry method for the quantification of nanostructured PEG-asparaginase activity in children’s plasma, International Journal of Nanomedicine (2018) , p. 6337-6344

73. R. Malek, P. Bonnarme, F. Irlinger, P. Frey-Klett, D. Onésime, J. Aubert, J.- M. Beckerich. Transcriptomic response of *Debaryomyces hansenii* during mixed culture. International Journal of Food Microbiology (2018) 264, 53–62. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.10.026.

74. Про затвердження Державних санітарно-протиепідемічних правил і норм щодо поводження з медичними відходами, МОЗУ, від 8 червня 2015 року № 325 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0959-15#Text>

75. Наказ МОЗУ «Про затвердження Інструкції з мікробіологічної діагностики туберкульозу» від 2019 р. [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0886-19#Text>

76. Наказ МОЗУ «Про затвердження Заходів та Засобів щодо попередження інфікування при проведенні догляду за пацієнтами» , від 2020 р. [Електронний ресурс] – Режим доступу:

[https://zakononline.com.ua/documents/show/490978\\_\\_735038](https://zakononline.com.ua/documents/show/490978__735038)

77. WHO Tuberculosis laboratory biosafety manual, 2012 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.cdc.gov.tw/Uploads/files/201504/c798839c-8b66-45a1-944f-a72b2a425507.pdf>

78. Infectious Waste Management For the Ethiopian Health Center Team, 2005 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

[https://www.cartercenter.org/resources/pdfs/health/ephti/library/modules/degree/mod\\_inf\\_waste\\_mgt\\_final.pdf](https://www.cartercenter.org/resources/pdfs/health/ephti/library/modules/degree/mod_inf_waste_mgt_final.pdf)

79. Сайт компанії «УкрЕкоПром» - Утилізація відходів виробництва [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://ueco.com.ua/ua/poslugi/nebezpechni-vidhodi/utilizacziya-biologichnih-vidhodiv/>

80. Сайт компанії «УтільВторПром» - Утилізація відходів виробництва [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://xn--80ancaco1ch7azg.xn--j1amh/uk/utilizatsiya-othodov/utilizatsiya-biologicheskikh-othodov/>

81. Anguil © Air & Water pollution in Pharmaceutical Production, 2023 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://anguil.com/industries-served/pharmaceutical/>

82. Виробник «Технопластик» Скрубер лабораторний, Україна, 2020 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.tehnoplastic.com.ua/ua/shop/promyshlennye-filtrovalnye-ustanovki/skrubber-laboratornyj>

83. Anaire ©Air Scrubbers for the Pharmaceutical Industry, 2017 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://vanair.com/industries/pharmaceutical/>

84. Pioneering Biopharma Single-use bioprocessing: Why it pays off to switch to single-use systems now, 2022 [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.susupport.com/knowledge/single-use-technology/single-use-bioprocessing-pays-switch-single-use-systems>

85. Alicat Scientific © Advantages of single-use bioreactors and fermenters over traditional bioprocessing, 2024 [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://www.alicat.com/advantages-of-single-use-bioreactors-and-fermenters-over-traditional-bioprocessing/>

86. Stock R. A Significant and Growing Market: Single Use Technology in the Biopharmaceutical Industry, American Pharmaceutical Review, 2010 [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/115054-A-Significant-and-Growing-Market-Single-Use-Technology-in-the-Biopharmaceutical-Industry/>

87. Barshai A. Advanced Green Technologies for Wastewater Treatment, eMew Clean Technologies, 2017 [Электронный ресурс] – Режим доступа:

<https://blog.emew.com/advanced-green-technologies-for-wastewater-treatment>