

НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ФАКУЛЬТЕТ ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ, ІНЖЕНЕРІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЇ  
Кафедра біотехнології

ДОПУСТИТИ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач випускової

кафедри

\_\_\_\_\_ Барановський М.М.

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

**ДИПЛОМНА РОБОТА**  
**(ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА)**

ВИПУСКНИКА ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ  
«МАГІСТР» ЗА СПЕЦІАЛЬНІСТЮ 162 «БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ»

**Тема: Удосконалення технології пробіотика ІV покоління Біфітен**

Виконавець: студентка групи БР-201Мз

Вороніч Анастасія Юріївна

Керівник: к.т.н., доцент кафедри біотехнології

Решетняк Людмила Расулівна

Консультант з розділу «Охорона праці» : Павлиш В.Д.

Консультант з розділу «Охорона навколишнього середовища»: Бовсуновський Є.О.

Нормоконтролер: асистент кафедри біотехнології

Лазарєв В.Г.

Київ 2020

# НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет екологічної безпеки, інженерії та технологій

Кафедра біотехнології

Спеціальність 162 „Біотехнології та біоінженерія”

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

Барановський М.М. \_\_\_\_\_

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## ЗАВДАННЯ

на виконання дипломної роботи

Вороніч Анастасії Юріївни

1. Тема роботи: «Удосконалення технології пробіотики IV покоління Біфітен» затверджена «18» листопада 2019 р.

2. Термін виконання роботи: з «10» грудня 2019 р. по «21» лютого 2020 р.

3. Вихідні дані роботи: пробіотики, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*.

4. Зміст пояснювальної записки: ВСТУП, РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД,

1.1. Історія відкриття пробіотиків, 1.2. Класифікація пробіотиків, 1.3. Загальна

характеристика пробіотиків, 1.4. Загальна характеристика Біфітену, 1.4.1.

Характеристика біфідобактерій, 1.4.1. Характеристика лактобактерій, 1.4.1.

Характеристика стрептококів, 1.4.4. Технологія отримання Біфітену, 1.4.5.

Характеристика готового продукту, РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

ПРОБІОТИКА БІФІТЕНУ, 2.1. Зовнішній вигляд препарату пробіотики Біфітену,

2.2. Автентичність препарату пробіотики Біфітену, 2.3. Фізико-біохімічні

характеристики препарату пробіотики Біфітену, 2.4. Специфічна нешкідливість

препарату пробіотики Біфітену, 2.5. Мікробіологічна чистота препарату пробіотики

Біфітену, 2.6. Специфічна активність препарату пробіотики Біфітену, 2.7. Упаковка

препарату пробіотики Біфітену, 2.8. Маркування препарату пробіотики Біфітену,

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ, 3.1. Вибір штамів біфідобактерій для отримання Біфітену, 3.2. Характеристика штаму *Bifidobacterium bifidum*, 3.3. Підбір поживного середовища для вирощування біфідобактерій, 3.4. Удосконалення технології отримання Біфітену, ОХОРОНА ПРАЦІ, ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА ВИСНОВКИ, СПИСОК БІБЛЮГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ, ДОДАТКИ.

5. Календарний план–графік

№	Завдання	Термін виконання
1	Узгодження змісту дипломної роботи з керівником	
2	Підбір літератури за темою «Характеристика пробіотиків та їх класифікація»	
3	Підбір літератури за темою «Порівняльна характеристика отримання пробіотиків»	
4	Написання першого та другого розділів дипломної роботи	
5	Підбір літератури за темою «Удосконалення отримання Біфітену»	
6	Систематизація отриманого матеріалу та написання третього розділу дипломної роботи	
7	Оформлення результатів дослідження	
8	Написання розділів «Охорона праці» та «Охорона навколишнього середовища»	
9	Написання висновків	
10	Оформлення дипломної роботи	
11	Перевірка дипломної роботи керівником	
12	Попередній захист дипломної роботи	
13	Захист дипломної роботи	

Дата видачі завдання “ ” 2019 р.

Керівник дипломної роботи \_\_\_\_\_ /Решетняк Л.Р./  
(підпис керівника)

Завдання прийняв до виконання \_\_\_\_\_ /Вороніч А.Ю. /  
(підпис випускника)

## РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до дипломної роботи " Удосконалення технології пробіотика IV покоління Біфітен ": 81 сторінка, 5 таблиць, 8 рисунків, 41 літературних джерел, 2 додатки.

### БІОТЕХНОЛОГІЯ, ПРОБІОТИКИ, БІФІДОБАКТЕРІЇ, ЛАКТОБАКТЕРІЇ, СТРЕПТОКОКИ, ПОЖИВНЕ СЕРЕДОВИЩЕ

**Об'єкт дослідження:** процес отримання пробіотика Біфіфена.

**Предмет дослідження:** пробіотик Біфіфен.

**Мета роботи:** удосконалення технології отримання пробіотика Біфіфена.

**Методи дослідження:** аналітичні, математичні.

Відомо, що пробіотики – це непатогенні для людини мікроорганізми, які здатні відновити нормальну мікрофлору органів, а також згубно діють на патогенні та умовно-патогенні бактерії. Показано, що пробіотики поділяються на 5 поколінь. Пробиотики V – покоління – це більш досконалі і складні полікомпонентні продукти, отримані із застосуванням нових технологій і містять кілька видів бактерій і речовини, що сприяють їх росту. Удосконалено технологічну схему отримання Біфітену, що дозволяє скоротити час накопичення біомаси та збільшити у 3 рази її кількість. Досліджено, що для отримання Біфітену краще використовувати штам *Bifidobacterium bifidum*, так як він має такі властивості: пригнічує поширені умовно-патогенні та патогенні мікроби, має високий рівень адгезії до слизової оболонки кишківника, достатню для виробництва швидкість накопичення біомаси та має високі показники кислотності. Встановлено, що для накопичення біомаси *Bifidobacterium bifidum* доцільно використовувати агаризоване дріждже-молочно-сольове середовище, що володіє високими ростовими якостями.

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД .....	9
1.1. Історія відкриття пробіотиків .....	9
1.2. Класифікація пробіотиків.....	11
1.3. Загальна характеристика пробіотиків .....	12
1.4. Загальна характеристика Біфітену .....	18
1.4.1. Характеристика біфідобактерій.....	19
1.4.1. Характеристика лактобактерій .....	22
1.4.1. Характеристика стрептококів .....	24
1.4.4. Технологія отримання Біфітену.....	25
1.4.5. Характеристика готового продукту .....	33
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ПРОБІОТИКА БІФІТЕНУ .....	36
2.1. Зовнішній вигляд препарату пробіотика Біфітену .....	36
2.2. Автентичність препарату пробіотика Біфітену.....	36
2.3. Фізико-біохімічні характеристики препарату пробіотика Біфітену .....	37
2.4. Специфічна нешкідливість препарату пробіотика Біфітену .....	37
2.5. Мікробіологічна чистота препарату пробіотика Біфітену.....	38
2.6. Специфічна активність препарату пробіотика Біфітену .....	39
2.7. Упаковка препарату пробіотика Біфітену .....	39
2.8. Маркування препарату пробіотика Біфітену.....	40
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	42
3.1. Вибір штамів біфідобактерій для отримання Біфітену .....	42
3.2. Характеристика штаму <i>Bifidobacterium bifidum</i> .....	45
3.3. Підбір поживного середовища для вирощування біфідобактерій .....	51
3.4. Удосконалення технології отримання Біфітену.....	53
3.5. Біореактор BioFlo Pro для вирощування мікроорганізмів .....	54

РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ .....	56
4.1. Небезпечні та шкідливі виробничі фактори в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену .....	56
4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних або шкідливих виробничих факторів в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену .....	58
4.2.1. Розрахунок місцевої витяжної вентиляції в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену .....	62
4.3. Забезпечення пожежної та вибухової безпеки в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену .....	63
РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА .....	66
5.1. Виробничі фактори виробництва Біфітену, що впливають на навколишнє середовище .....	66
5.2. Методи очистки стічних вод при виробництві Біфітену .....	68
5.3. Заходи щодо поліпшення впливу виробництва Біфітену на організм людини .....	72
ВИСНОВКИ .....	74
СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ .....	75
ДОДАТОК А .....	80
ДОДАТОК Б .....	81

## ВСТУП

**Актуальність теми.** За останні десятиліття при дослідженні етіопатогенетичних механізмів розвитку як інфекційних, так і багатьох неінфекційних захворювань, встановлено роль мікробного фактору, що вимагає застосування протимікробної терапії. Появі перших змін, що свідчать про порушення функцій відповідного характеру, передують парафізіологічні стани.

У зв'язку з цим зросла тенденція до застосування пробіотичних препаратів. Накопичено значну кількість достатньо аргументованих і науково обґрунтованих свідчень того, що адекватна корекція мікроекологічних порушень за допомогою засобів біологічної терапії сприяє оптимізації процесів адаптації та компенсації порушених функцій, корекції патологічно змінених ланок метаболізму, досягненню імуномодельюючого, антиоксидантного та інших корисних ефектів.

Величезний арсенал біопрепаратів включає різні за складом та прямим призначенням лікарські засоби. Якщо препарати першого покоління (традиційні лакто-, біфідо- та коліпрепарати) призначалися переважно для відновлення втраченої нормофлори, то сьогодні з біотерапією пов'язують очікування десенсибілізуючого, морфокінетичного, антитоксикаційного та інших ефектів. До актуальних біопрепаратів відносять композиції з двох і більше компонентів, в яких завдяки асоціації мікроорганізмів впродовж тривалого часу підтримується висока активність і спостерігається сумація ефекту при їх використанні.

Неправильне харчування, сидячий спосіб життя, стреси, забруднення оточуючого середовища призводять до того, що багато людей по всьому світі страждає від різноманітних захворювань кишківника. Зокрема, в результаті багатьох міжнародних епідеміологічних досліджень було встановлено, що частота уповільнення транзиту їжі по шлунково-кишковому тракту (функціональний запор) в індустріально розвинених країнах досягає 40 % серед людей працездатного віку.

Мікробіоценоз кишківника грає важливу роль в життєдіяльності організму людини: симбіонтні мікроорганізми беруть активну участь в обміні речовин, синтезі

вітамінів (вітамін К і вітаміни групи В), необхідних амінокислот, цілого ряду біологічно активних речовин (гістамін, серотонін), у формуванні імунобіологічної реактивності організму. Термін «дисбактеріоз кишківника» або «дисбіоз кишківника» – бактеріологічне поняття, але у жодному разі не клінічний діагноз. Дисбактеріоз кишківника – це зміна кількісного співвідношення мікроорганізмів в тонкій кишці і складу нормальної мікрофлори товстої кишки.

Причин, що сприяють його розвитку, більш ніж достатньо. Це, в першу чергу, гострі і хронічні захворювання травної системи інфекційного і неінфекційного характеру, системні захворювання з дифузним ураженням мікросудин (склеродермія, діабетична ангіопатія та ін.). Причиною порушення рухомої рівноваги симбіонтних організмів може виявитися нераціональна антибіотикотерапія, екологічне і соціальне неблагополуччя, підвищений радіаційний фон та ін.

Ефективне лікування і профілактика дисбактеріозу можуть бути досягнуті вживанням бактерійних препаратів – пробіотиків, провідне місце серед яких займають біфідобактерії та лактобактерії.

Тому актуальним є удосконалення існуючої технології виробництва пробіотиків з метою підвищення обсягів виробництва та покращення їх якості.

**Об'єкт дослідження:** процес отримання пробіотика Біфітена.

**Предмет дослідження:** пробіотик Біфітен.

**Мета роботи:** удосконалення технології отримання пробіотика Біфітена.

**Методи дослідження:** аналітичні, математичні.

Завдання роботи полягало у вирішенні таких задач:

1. Охарактеризувати пробіотичні препарати та мікроорганізми, які входять до їхнього складу.
2. Дослідити технологію отримання пробіотика Біфітена.
3. Удосконалити технологічну схему виробництва Біфітена.



## РОЗДІЛ I

### ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

#### 1.1. Історія відкриття пробіотиків

З давніх часів у медицині використовувалися препарати, які містять нормальну мікрофлору. Ще у 1907 році І. Мечніков писав, що численні асоціації мікробів, які заселяють кишківник, значною мірою визначають духовне і фізичне здоров'я людини. Він довів, що шкіра і слизові оболонки вкриті біоплівкою, яка містить сотні видів мікробів. Роботи І. Мечнікова поклали початок розвитку нового напрямку в медицині – бактеріотерапії.

Особливий інтерес до бактеріотерапевтичних методів лікування виник з початком ери антибіотиків, коли надмірне захоплення клініцистів ідеєю знищення інфекційних патологій призвело не тільки до загострення проблеми інфекцій за рахунок збільшення агресивних властивостей патогенної і умовно-патогенної мікрофлори, але і змусило уважно поставитися до нормоавтофлори людини [29].

В Україні бактеріотерапевтичні препарати (спочатку під назвою "еубіотики") з'явилися на початку 70-х років минулого століття. Це були одно-, двоштамові препарати, що містять ліофілізовану біомасу клітин *Coli*-бактерій, біфідобактерій і лактобацил. Їх і сьогодні часто застосовують для корекції дисбіозів: колібактерин, біфідумбактерин, лактобактерин, біфікол. В останні роки асортимент пробіотиків помітно розширився, в основному за рахунок препаратів закордонного виробництва [3].

Термін «пробіотики» був запропонований Річардом і Паркером в 1977 році для позначення мікроорганізмів і продуктів їхньої ферментації, що володіють антагоністичною активністю стосовно патогенної мікрофлори.

Історія створення мультипробіотиків бере свій початок з другої половини 80-х років ХХ століття. Після аварії на Чорнобильській АЕС відбувається різке

збільшення кількості хворих, особливо дітей, з глибокими дисбіотичними порушеннями, що спричиняли розвиток довготривалих інфекцій та інших захворювань, які тяжко лікувались традиційними методами. Група українських фахівців в галузі мікробіології та медицини вирішила створити принципово нові вітчизняні засоби пробіотичної профілактики та терапії на основі цілющих мікроорганізмів. Колектив науковців під керівництвом Янковського Д.С. розробив принципово нову інноваційну біотехнологію багатокомпонентних пробіотиків.

На сьогоднішній день створено велику кількість фармакологічних препаратів та БАД, які містять представників нормальної мікрофлори людини. Найчастіше використовують різні штами лакто- та біфідобактерій, непатогенні штами кишкової палички і ентерококів. Крім використання вже відомих штамів, провідні компанії займаються розробкою власних штамів бактерій, які пізніше патентують і виробляють за ліцензіями.

Комітет ООН по продовольчим питанням і сільському виробництву (FAO) разом із Всесвітньою організацією охорони здоров'я (WHO) опублікували спільний висновок Експертного комітету по оцінці здоров'я і харчових якостей пробіотиків у їжі, включаючи сухе молоко з живими лактобактеріями, в якому визначили, що основні штами пробіотиків первинно належать до двох генерацій: *Lactobacillus* та *Bifidobacterium*, які мають вижити при проходженні через травну систему і розмножитися в товстому кишківнику [10].

Твердження щодо їх корисних властивостей мають бути науково обгрунтованими. Пізніше опубліковане «Керівництво по оцінці пробіотиків» додатково підкреслило необхідність оцінки їх безпеки, ризику інфікування в людей зі скомпрометованою імунною системою, ризику розвитку ендокардитів. У свою чергу Французька агенція харчової безпеки (AFFSA) визначила основні принципи безпечного застосування пробіотиків у маленьких дітей, виключивши генетично модифіковані і нежиттєздатні мікроорганізми з формулювання «пробіотик».

У 2004 році Комітет по харчуванню Європейського товариства дитячої гастроентерології, гепатології та харчування (ESPGHAN) зробив систематичний

огляд клінічних досліджень використання дієтичних продуктів, які містять пробіотики, для використання у дітей раннього віку [4].

## **1.2. Класифікація пробіотиків**

Відповідно до прийнятого в 1996 р. класифікації препарати, що нормалізують кишкову мікрофлору поділяються на 4 покоління:

I покоління – класичні монокомпонентні препарати, що містять один штам бактерій (біфідумбактерин, лактобактерин, колібактерин);

II покоління – антагоністи, що самоелімінуються (бактисубтил, біоспорин, споробактерин і ін.);

III покоління – комбіновані препарати, що складаються з декількох штамів бактерій (полікомпонентні) або містять добавки, що посилюють їхню дію (аципол, ацилакт, лінекс, біфіліз, біфі-форм);

IV – покоління – іммобілізовані на сорбенті живі бактерії, представники нормофлори. У цей час до них відносяться сорбовані біфідовмісні пробіотики (біфідумбактерин форте і пробіфор);

V – покоління - це більш досконалі і складні полікомпонентні продукти, отримані із застосуванням нових технологій і містять кілька видів бактерій і речовини, що сприяють їх росту (Біфітен) [13].

Пробіотики можуть поділятися не тільки по комплектності препарату, але і по родовому складі бактерій, що входять в нього. Виділені біфідовмісні пробіотики (біфідумбактерин сухий і біфідумбактерин у порошок, біфіліз, біфіформ, біфікол, біфідумбактерин форте, пробіфор), лактовмісні пробіотики (лактобактерин, аципол, ацилакт, лінекс, біобактон, гастрофарм), колівмісні пробіотики (колібактерин, біфікол, біофлор), пробіотики з родів бацил, аерококів і дріжджеподібних грибів сахароміцет (бактисубтил, бактиспорин, споробактерин, біоспорин, ентерол).

Все більшу популярність здобуває інший клас препаратів для регуляції кишкової мікрофлори, що одержав назву пребіотики. Пребіотики – це препарати або біологічно активні добавки немікробного походження, здатні робити позитивний ефект на організм через селективну стимуляцію росту або метаболічної активності нормальної мікрофлори кишківнику. У цю групу входять препарати, що відносяться до різних фармакотерапевтичних груп, але мають загальну властивість: можливість стимулювати ріст нормальної мікрофлори кишківнику. Найбільш популярними з них є дюфалак, хілак форте, лактулоза, лізоцим, пантотенова кислота, препарати інуліну і ін. У схемах пробіотичної корекції пребіотики використовуються, звичайно, як додаткове лікування.

Всі існуючі пробіотики поділяються на дві великі групи – рідкі і сухі. Сухі пробіотики одержують шляхом ліофільного сушіння мікробної маси. Клітини мікроорганізмів у цьому випадку перебувають у глибокому анабіозі і можуть довгостроково зберігатися.

Рідкі пробіотики мають ряд переваг, незважаючи на короткий термін зберігання. Бактерії в них споконвічно перебувають в активному стані й здатні до розмноження в шлунково-кишковому тракті вже через 2 години після потрапляння в організм. Крім того, рідкі препарати містять продукти життєдіяльності мікроорганізмів – незамінні амінокислоти, органічні кислоти, імуностимулюючі речовини, ферменти і коферменти, фактори росту, які поліпшують стан власного мікробіоценозу. Таким чином, рідкі пробіотики створюють тимчасовий штучний мікробіоценоз, що позитивно впливає на представників нормальної мікрофлори і одночасно згубно діє на патогенні і умовно-патогенні мікроорганізми [15, 30].

### **1.3. Загальна характеристика пробіотиків**

Відповідно до сучасних тенденцій у медицині пробіотики I покоління: біфідумбактерин і лактобактерин застосовуються як монопрепарати, переважно, для

профілактики захворювань або для корекції мікрофлори у випадку дисбактеріозу I ступеня. При гострих кишкових інфекціях (ГКІ) дані пробіотики раціональніше застосовувати або в комплексній терапії з іншими біопрепаратами і сорбентами, або у реабілітаційних курсах. До групи монокомпонентних пробіотиків відноситься також препарат хронологічно більш пізнього походження біобактон, що включає антагоністично активну проти патогенних бактерій ацидофільну паличку. Препарат рекомендований дітям з перших днів життя при дисбактеріозах і гострих кишкових інфекціях вірусно-бактеріальної етіології. Що стосується колібактерину, то він використовується, переважно, при колітах [32, 33].

Сухий колібактерин являє собою ліофілізовану живу культуру кишкової палички *Escherihia coli* штаму М-17, розфасовану в ампули, флакони або таблетовану. Діючий компонент колібактерину – живі клітини названого штаму, що володіють антагоністичною активністю по відношенню до широкого кола патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів.

Колібактерин застосовують для лікування ряду кишкових захворювань:

- хронічних колітів різної етіології, у тому числі постдизентерійних;
- неспецифічних виразкових колітів;
- дисбактеріозів, що виникли в результаті застосування антибіотиків і сульфаніламідних препаратів. Крім того, препарат застосовується для санації реконвалесцентів при кишкових інфекціях. Ряд авторів оцінюють колібактерин як ефективний профілактичний засіб. Протипоказань для застосування колібактерину немає [1, 12].

Біфідумбактерин і лактобактерин являють собою ліофілізовані культури відповідних молочнокислих бактерій, розфасовані в ампули, флакони або таблетовані. До складу біфідумбактерину входять бактерії *Bifidobacterium bifidum*, лактобактерин виготовляють з виробничих штамів молочнокислих бактерій *Lactobacillus fermenti* і *L. plantarum*.

Біфідумбактерин призначають дітям і дорослим для лікування хронічних колітів, кишкових розладів нез'ясованої етіології, дисбактеріозів, що виникли в

результаті застосування антибіотиків. Особливо рекомендується біфідумбактерин дітям першого півроку життя [6, 36].

Виробничі штами молочнокислих бактерій мають високу антагоністичну активність відносно збудників дизентерії, патогенних ентеробактерій і умовно-патогенних мікроорганізмів (гемолітичного стафілокока, протей і ін.). Антагоністична активність у великому ступені пов'язана з дією молочної кислоти, що накопичується при зброджуванні бактеріями лактози і інших вуглеводів. Молочна кислота бере участь у кальцієвому обміні, переводячи кальцій їжі в засвоюваний макроорганізмом лактат кальцію, сприяючи профілактиці рахіту у дітей. Молочнокислі бактерії беруть участь в утворенні вітамінів і амінокислот, у тому числі так званих незамінних, тобто не синтезованих організмом людини [24, 28].

Вигідною відмінністю молочнокислих бактерій є стійкість до антибіотиків. Це дозволяє застосовувати їх із профілактичною метою паралельно з антибіотикотерапією [5].

Пробіотики II покоління складаються зі спорових бацил і дріжджоподібних грибів. Спорові препарати містять бацили (бактисубтил, флонівін) або сінну паличку у вигляді одного штаму (бактиспорин і споробактерин) або в сполученні з бацилами (біоспорин). Препарат із дріжджоподібних грибів (ентерол) включає сахароміцети. Незважаючи на те, що спорові бацили і дріжджоподібні гриби не відносяться до облігатної мікрофлори людини, при влученні в шлунково-кишковий тракт вони виконують частково подібні функції із препаратами з нормальної флори. В основі їхньої дії лежить здатність придушувати патогенні і умовнопатогенні бактерії антагоністи, що самоелімінуються, призначаються при легких і середньоважких формах ГКІ, гострих неінфекційних діареях, субкомпенсованих дисбактеріозах, звичайно коротким курсом 5-7 днів, з наступним долікуванням пробіотиками з нормальної мікрофлори. Препарат ентерол рекомендується також для лікування антибіотикоасоційованих діарей, тому що доведено його антагоністичну активність по відношенню до клостридій [14, 18].

Пробіотики III покоління являють собою комбіновані препарати. Це можуть бути полікомпонентні пробіотики, що складаються з декількох симбіотичних штамів бактерій одного (ацилакт, аципол) або різних (лінекс, біфіформ) видів, що підсилюють дію один одного. До комбінованих препаратів відносяться також лікарські засоби, у яких до активно діючих бактерій додані речовини, що підвищують ефективність пробіотика або здатні самі додатково нормалізувати кишкову мікрофлору. Так у препаратах біфідумбактерину в порошку і біфілізе поряд з біфідобактеріями втримуються біфідогенний моносахарид лактоза або фактор неспецифічного захисту лізоцим, полікомпонентний пробіотик біфіформ додатково включає лактулозу, а аципол -імуномодулюючу субстанцію - полісахарид кефірного грибка. Пробіотики III покоління такі, як ацилакт, аципол, біфіформ призначаються у випадках захворювань ГКІ середньо-важкої форми (при важкій формі – тільки в комплексній терапії). При лікуванні хронічних гастроентерологічних захворювань і корекції мікрофлори кишківнику при дисбактеріозах різного ступеня використовуються поряд з вищевказаними також біфідумбактерин у порошку, лінекс, біфіліз.

Пробіотики симбітер і апібакт мають полікомпонентний склад. Препарати, залежно від їх виду, містять від 14 до 24 штамів фізіологічно цінних мікроорганізмів з різною біологічною активністю. Всі штами бактерій, що входять до складу цих препаратів, взаємодіють між собою за типом мутуалістичного симбіозу, тобто взаємно стимулюють розвиток клітин і біологічну активність своїх симбіотичних партнерів [24].

Симбітер і апібакт – рідкі пробіотики, містять мікроорганізми в живій активній формі, на відміну від традиційної ліофілізованої форми більшості відомих пробіотиків. Для “живих” пробіотиків симбітер і апібакт не потрібен час для реактивації клітин. Мультипробіотики діють одразу ж після перорального приймання, починаючи з ротової порожнини, яка, як відомо, за ступенем заселеності різними популяціями, займає друге місце після товстого кишківника і часто потребує санації.

Апібакт – мультипробіотик нового типу, містить концентровану біомасу симбіозу пробіотичних мікроорганізмів та екстракт прополісу (1,5% або 2,5%). Унікальна комбінація бактерій і прополісу значно підвищує пробіотичну ефективність, зокрема, антиінфекційну активність мультипробіотику, і розширює сферу його застосування.

Лінекс – це один з найбільш відомих сучасних препаратів, які використовуються для лікування дисбактеріозу кишківника або інших хвороб, викликаних порушенням складу мікрофлори організму.

Основна дія лінексу полягає в нормалізації мікрофлори кишківника. Одна капсула лінексу містить не менше  $1.2 \times 10^7$  живих молочнокислих бактерій, які є основним компонентом нормальної мікрофлори кишківника.

Біфіформ – капсулований пробіотик, містить живі ліофілізовані біфідобактерії штаму *B. longum*  $10^7$  КУО і *Enterococcus faecium*  $10^7$  КУО в одній капсулі. До складу його входять так само лактулоза, глюкоза, молочні дріжджі, сироп ріжкового дерева, стеарат магнію, поліетиленгліколь, масло соєвих бобів, ацетиловані моногліцериди, які забезпечують стабільність капсули в кислому середовищі шлунка і є субстратом для природного живлення і розмноження бактерій у кишківнику, володіючи пребіотичними властивостями. Вхідний до складу біфіформу фекальний ентерокок, що колонізує в нормі тонкий кишківник, володіє вираженою ферментативною (у тому числі, лактазною) і антагоністичною активністю стосовно патогенних бактерій. Додаткове включення в препарат апатогенного ентерокока, на відміну від монокомпонентних біфідовмісних пробіотиків, дозволяє впливати на нормалізацію кількісного і якісного складу мікрофлори не тільки товстого, але і тонкого відділу кишківника [16].

Пробіотики IV покоління представлені двома сорбованими препаратами – біфідумбактерином форте і пробіфором. Сорбовані пробіотики містять біфідобактерії, іммобілізовані на частках подрібненого вугілля (кількість біфідобактерій у пробіфорі на порядок більше, ніж у біфідумбактерині форте). За рахунок такої іммобілізованої структури сорбовані біфідобактерії ефективно колонізують слизову оболонку кишківнику, роблячи більш виражену протективну



дію, ніж несорбовані аналоги. Такі препарати краще, ніж їх несорбовані форми придушують патогенні і умовнопатогенні мікроорганізми при дисбактеріозі, більш успішно відновлюють захисну мікрофлору. Клінічно це виражається в скороченні тривалості діареї й інтоксикації, більш швидкої нормалізації стулу і болючого синдрому.

Пробіотик пробіфор має виражені антидіарейні і детоксикаційні властивості. Його призначають при ГКІ, у т.ч. середньо-важкого і важкого стану, як єдиний засіб етіотропної терапії, при декомпенсованому і субкомпенсованому дисбактеріозі, при важких поразках товстої кишки (гемоколітах, неспецифічному виразковому коліті), у реанімаційних хворих [7, 21].

На сьогоднішній день рекомендоване застосування полікомпонентних (комплексних) препаратів з першого дня терапії - таких, як Біфітен, який містять біфідобактерії і лактобактерії.



Рис. 1.1 Пробіотик Біфітен

Мікробні препарати, що нормалізують нормальну мікрофлору, на відміну від багатьох хіміотерапевтичних засобів фізіологічні і не дають ніяких побічних явищ.

Це дозволяє об'єднувати в одному препараті різні пробіотичні властивості (широкий спектр антагоністичної активності щодо умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів; вітамінсинтезуюча здатність; синтез полісахаридів, ферментів, органічних кислот; деградація алергенів, токсинів та ін.).

У складі пробіотиків використовують тільки штами мікроорганізмів, що є найбільш фізіологічними представниками мікробних біоценозів організму людини будь-якого віку (біфідобактерії, лактобацили, лактококи і пропіоновокислі бактерії). Дана мікрофлора виконує головну роль у підтриманні нормального складу та функціональної активності мікроекосистем організму і ніколи не викликає побічних ефектів. Завдяки фізіологічності складу пробіотики не мають протипоказань і препарати можна призначати з лікувальною та профілактичною ціллю пацієнтам різних вікових груп. Крім того, пробіотики підвищують вироблення вітамінів у кишківнику (головним чином вітаміни групи В і вітамін Д), а також стимулює відновлення епітелію тонкого і товстого кишківнику [27].

#### **1.4. Загальна характеристика Біфітену**

Біфітен - інноваційний продукт. Він містить 9 добірних штамів живих корисних бактерій, які вважають безпечними і схвалені Європейським Агентством безпеки харчових продуктів (EFSA) в кількості 4,5 млрд.

Кислотостійка капсула, виготовлена за технологією MURE, має ряд переваг:

- захищає вміст від впливу рН шлункового соку, руйнівної дії травних ферментів і солей жовчних кислот;
- забезпечує надходження безпосередньо в кишківник живих пробіотичних бактерій (ЖПБ), здатних швидко адаптуватися там і зберігати високу біологічну активність протягом тривалого часу;
- ЖПБ, поступаючи в кишківник, вже через 1-3 години після прийому виходять з анабіозу, «заселяються» і починають проявляти адгезивний потенціал і протидіяти патологічним збудникам. При цьому пробіотичний компонент

олігофруктоза служить живильним середовищем і джерелом енергії для росту і розвитку ЖПБ.

### 1.4.1. Характеристика біфідобактерій

Біфідобактерії (*Bifidobacterium*) в основному використовуються в медицині як лікувально-профілактичний засіб. На основі вивчення особливостей біології біфідобактерій були розроблені принципи регулювання їх життєдіяльності в окремих екосистемах. Отримання нових нетрадиційних промислових штамів біфідобактерій і підбір оптимальних умов для їх життєдіяльності дозволили розробити ефективні лікувальні препарати [8].

Підбір і селекцію штамів мікроорганізмів для промислового виробництва здійснюють з кишківника здорових дітей і дорослих.

При підборі культур для продуктів лікувально-профілактичного профілю велика увага приділяється в основному біфідобактеріям і лактобацилам як основним представникам нормальної мікрофлори кишківника. Широке застосування у виробництві ферментованих продуктів отримали біфідобактерії видів: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium adolescentis* і лактобацили видів *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei subsp. casei*, *Lactobacillus casei subsp. rhamnosus*, *Lactobacillus casei subsp. tolerans*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*.

Велике значення при підборі штамів біфідобактерій має оптична характеристика молочної кислоти, яку вони продукують. Перевага віддається штамам, які утворюють L (+) форму, як найбільш фізіологічну для людського організму або суміш обох ізомерів (D і L). Відібрані штами біфідобактерій повинні бути стійкими до дії антибіотиків, бактеріофагів, NaCl, лужного середовища, жовчі і фенолу. З технологічної точки зору важливі швидкість і межі кислоутворення, органолептичні показники і протеолітична активність. Для виробництва сухих

бактеріальних продуктів важливим є вивчення стійкості штамів біфідобактерій до підвищеної температури. Кардинальною ознакою штамів біфідобактерій є також антагоністична активність до патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. Важливим показником можливості проживання в організмі є визначення адгезивних властивостей штамів [2, 35].

Систематика *Bifidobacterium bifidum*. *Bifidobacterium bifidum* № 1 відноситься до роду *Bifidobacterium*. Бактерії роду *Bifidobacterium* згідно "Визначника бактерій Берджи" (1997) віднесені до сімейства *Actinomycetaceae* 20 частини класу *Thallobacteria* відділу *Firmicutes* царства *Procaryotae*.

До відділу *Firmicutes* входять організми з грампозитивною клітинною стінкою. За формою: коки, палички, розгалужені і нерозгалужені нитки. Розмножуються бінарним поділом. Деякі утворюють спори (ендо- або суперечки на гіфах або спорангіях). Більшість нерухомі, а рухливі мають джгутики. Аеробні, анаеробні і факультативно анаеробні організми. Діляться на 2 класу: *Firmibacteria* і *Thallobacteria*.

Частина 20, класу *Thallobacteria*, об'єднує грампозитивні бактерії, що не утворюють ендоспори. Сюди входять бактерії трьох груп: корінеформні бактерії, пропіонові бактерії і актиноміцети. Актиноміцети об'єднані в порядок *Actinomycetales*. Ці бактерії утворюють розгалужені гіфи, деякі формують міцелій субстратний або повітряний, розмножуються конідіями, які утворюються на конідієносцях різної будови. До родини *Actinomycetaceae* відносяться грампозитивні розгалужені форми, які не утворюють повітряного міцелію, що не є кислотостійкими, нерухомі форми.

До складу сімейства входять анаеробні бактерії (рід *Bifidobacterium*) і факультативні анаероби (рід *Arachnia*, більшість видів роду *Actinomyces*). Поділ на роди здійснюється в залежності від хімічного складу клітинних стінок бактерій і продуктів бродіння глюкози. Зазвичай живуть в ґрунті, руйнують багато органічних сполук, деякі види *Actinomyces* патогенні для людини і тварин.

Відповідно до класифікації, представленої в визначнику Берджи (1997) світ прокаріотів розділений на 4 категорії. Рід *Bifidobacterium* віднесений до 2 категорії

(грампозитивні мікроорганізми, що мають клітинну стінку) і 20 групи (грампозитивні неспороутворюючі палички неправильної форми), без будь-якого об'єднання в сімейство.

Морфолого-культуральні ознаки *Bifidobacterium bifidum*. За морфологічними ознаками клітини біфідобактерій роду *Bifidobacterium* (див. рис. 1.2) є неспороутворюючими, грампозитивні бактерії, палички, розміром  $0,5-1,3 \times 1,5-8$  мкм. Форма клітин варіює від прямих паличок до коків, з булавовидними потовщеннями на кінці, іноді розгалужені (В-, Т-форми), зернисті; в чистих культурах вони більш поліморфні.



Рис. 1.2 Мікроскопічна фотографія *Bifidobacterium bifidum*

Розміщення клітин одинарне, парами, іноді ланцюжками або розетками. Іноді зустрічаються роздуті клітини коковидної форми. Анаероби. Деякі види можуть рости в атмосфері повітря, збагаченій 10 % CO<sub>2</sub>. Не ростуть при pH <4,5 або pH > 8,5.

Слід зазначити, що довжина і форма клітин у різних культур одних і тих же видів біфідобактерій залежить, певною мірою, від складу середовища, присутності кисню, віку культури і способу інкубації [11].

Істотний вплив на форму клітин і ступінь викривленості надають присутність в середовищі вітамінів. Продовження клітин, їх витончення і фрагментування

спостерігається при значному вмісті солі NaCl (до 6 %), при температурі, що набагато перевищує оптимальну, іноді – при високому вмісті етилового спирту. На форму клітин значний вплив може чинити іонізуюче випромінювання. Тенденція до утворення ланцюжків змінюється в залежності від фази зростання і рН середовища. При симбіотичному зростанні, під впливом високих концентрацій гліцину, D-амінокислот або антибіотиків, активних у відношенні клітинної стінки, можуть спостерігатися клітини неправильної форми.

На щільних поживних середовищах *Bifidobacterium bifidum* № 1 утворюють колонії, зазвичай невеликого розміру діаметром 2-5 мм, з рівним краєм, опуклі, плоскі, блискучі, непрозорі, білого або світло сірого кольору.

Зростання на рідких поживних середовищах спостерігається у вигляді рівномірного помутніння або випадання гомогенного або, рідше, зернистого осаду.

При зростанні на середовищах загального призначення біфідобактерії не мають особливих запахів. Проте, вони в значній мірі обумовлюють запах продуктів бродіння, утворюючи різні леткі сполуки, такі як діацетил і його похідні, а також сірководень [9].

#### **1.4.2. Характеристика лактобактерій**

*Lactobacillus* (див. рис. 1.3) – рід грам-позитивних факультативно анаеробних бактерій. Вони – велика частина молочно-кислих бактерій, групи, названої так за те, що більшість її членів перетворюють лактозу і інші цукри на молочну кислоту. Вони звичайні і звичайно непатогенні. У людини вони постійно присутні в піхві і травному тракті, де вони є симбіонтами і складають значну частину флори кишківника. Багато видів беруть участь в розкладанні залишків рослин. Виробництво молочної кислоти робить їх оточення кислим, що перешкоджає росту деяких шкідливих бактерій.

Систематика *Lactobacillus*. Згідно "Визначника бактерій Берджи" (1997) *Lactobacillus* відноситься до родини роду *Lactobacillaceae*, віднесені до сімейства *Lactobacillales* частини класу *Bacilli* відділу *Firmicutes* царства *Bacteria*.

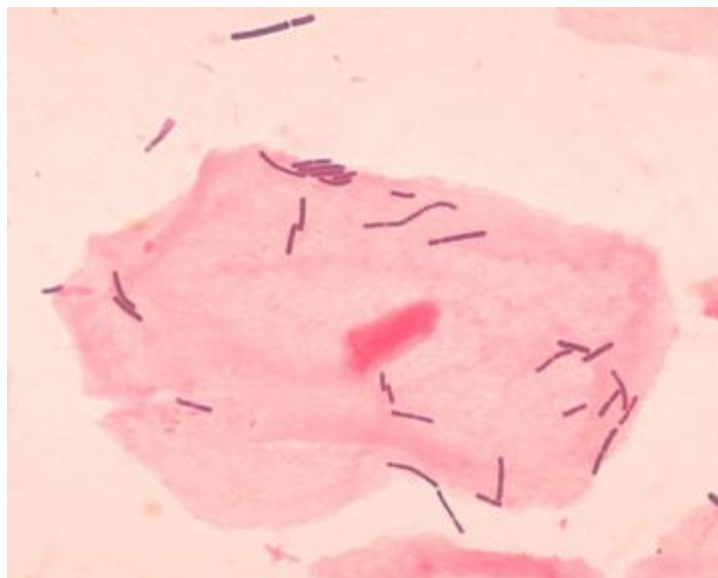


Рис. 1.3 Мікроскопічна фотографія *Lactobacillus*

Деякі різновиди *Lactobacillus* використовуються в промисловості для виробництва кефіру, йогурту, сиру, солених овочів, маринадів та інших продуктів бродіння, наприклад силосу. Кислий хліб робиться використовуючи «стартову культуру», яка є симбіотичною культурою дріжджів і молочно-кислих бактерій, що росте на суміші води і борошна. Корейська страва кімчі також робиться використовуючи методи молочно-кислого бродіння. Багато *Lactobacillus* унікальні серед живих організмів, оскільки вони не вимагають заліза для росту і мають надзвичайно високу толерантність до перекису водню. *Lactobacillus*, особливо *L. casei* і *L. brevis*, – деякі з найзагальніших факторів псування пива.

Геноми кількох видів роду секвеновані, що показує великий інтерес до цих бактерій. Багато *Lactobacillus* незвичайні ще в тому, що вони використовують гомоферментативний метаболізм (тобто, вони виробляють тільки молочну кислоту з цукру) і аеротолерантні, не зважаючи на повну відсутність дихального ланцюга. Ця аеротолерантність залежить від марганця і була досліджена (і пояснена) для *Lactobacillus plantarum*.

*Lactococcus* (див. рис. 1.4) – рід грам-позитивних бактерій, що широко використовується для виготовлення маслянки і сиру. Представники роду були раніше включені в рід *Streptococcus* під назвою група N1. Це грам-позитивні, каталаза-негативні, нерухомі коки, які знаходяться окремо, в парах, або в ланцюзі. Рід містить штами, що можуть рости при температурі нижче 7 °С.

Систематика *Lactococcus*. Згідно "Визначника бактерій Берджи" (1997) *Lactococcus* відноситься до родини роду *Streptococcaceae*, віднесені до сімейства *Lactobacillales* частини класу *Bacilli* відділу *Firmicutes* царства *Bacteria*.

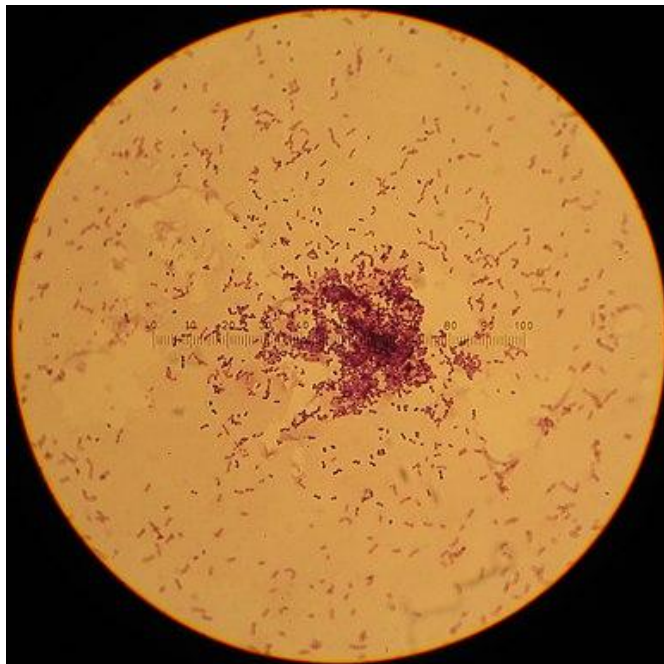


Рис. 1.4 Мікроскопічна фотографія *Lactococcus*

### 1.4.3. Характеристика стрептококів

*Streptococcus* (див. рис. 1.5) – рід сферичних грам-позитивних бактерій типу *Firmicutes*. Клітинне ділення відбувається вздовж єдиної осі цих бактерій, тому вони ростуть у ланцюжках або парах, звідти й походить їхня назва. Ця структура схожа із структурами стафілококів (*Staphylococcus*), але останні діляться вздовж багатьох осей і створюють структури, що нагадують виноградні грона.



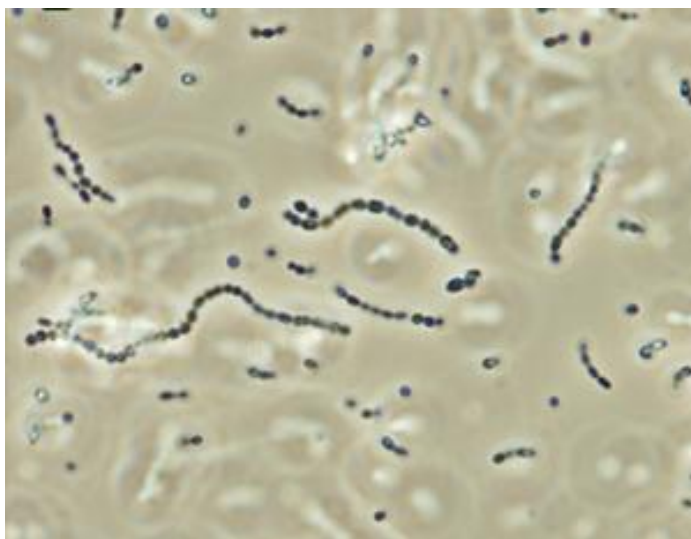


Рис. 1.5 Мікроскопічна фотографія *Streptococcus*

Згідно "Визначника бактерій Берджи" (1997) стрептококи належать до родини *Streptococcaceae*. Патогенними є тільки 2 роди: *Streptococcus* та *Enterococcus*.

Члени цього роду здатні спричинити стрептококовий фарингіт, бешиху, певну кількість випадків менінгіту, бактеріальної пневмонії, ендокардиту, і, навіть, харчових отруєнь. Слід відзначити, що багато видів стрептококів не патогенні. Стрептококи – складова нормальної мікрофлори рота, шкіри, кишківника і верхніх дихальних шляхів людини.

#### **1.4.4. Технологія отримання Біфітену**

Технологія отримання пробіотика Біфітену складається з наступних стадій, вони ж наведені в додатку А [31].

Стадія ДР (допоміжних робіт) Санітарна підготовка виробництва.

##### **Підготовка повітря.**

У виробничих приміщеннях передбачена ефективна система припливно-витяжної вентиляції повітря. Система припливної вентиляції складається з припливного вентилятора, повітревода, який має повітророзподільні вікна. Система

втяжної вентиляції складається з витяжного вентилятора, витяжних парасольок, і повітревона з повітрозабірними вікнами.

### **Підготовка виробничих приміщень.**

Яка в свою чергу складається з: щоденної, генерального прибирання та контролю мікробної контамінації. Приміщення виробництва лікарських засобів відповідно до МУ 42-51-3-93 поділяються на 4 групи чистоти. У виробництві Біфітену використовуються приміщення 2, 3, 4 класів чистоти. Підготовка приміщення 2-3 класів частоти включає в себе сукупність заходів, які складаються з вологого прибирання, дезінфекції, УФ-опромінення підлоги, стін, стелі та ін. В якості миючих засобів використовується «Лотос» і т.д., а в якості дезінфікуючих засобів – пероксид водню, етанол, хлорамін.

В якості матеріалів для протирання стін використовують паралонові губки або серветки з забитими краями з капронових тканин. Для протирання підлог використовують ганчірки з тканин. Прибирання проводиться в спеціально призначених для цього гумових чоботях, гумових рукавичках, гумовому фартусі, а при необхідності – в респіраторі.

Після прибирання інвентар протягом 2-3 годин знезаражують шляхом замочування в розчині  $H_2O_2$  (6 %), розчині хлораміну (4 %), або розчині хлорного вапна (5 %). Обробка виробничих приміщень 2 класу чистоти проводиться  $H_2O_2$  (6 %) з миючим засобом.

Щоденне прибирання приміщень 3 класу чистоти проводиться  $H_2O_2$  (1 %) з миючим засобом. Після закінчення обробки приміщення звільняють від персоналу і включають настінні і стельові бактерицидні лампи на 2 години. Генеральне прибирання проводиться один раз на 6 днів. При генеральному прибиранні стелі, двері та інші поверхні дуже часто змочують робочим розчином з розрахунку 150-200 мл/м<sup>2</sup> і закривають приміщення на 30-60 хвилин.

Визначення мікробної контамінації повітря проводиться 2 рази на тиждень під час виробничого процесу і 1 раз на 2 тижні безпосередньо після обробки приміщень дезінфікуючими розчинами. Контроль мікробної контамінації повітря здійснюється за допомогою апарату Кротова (відкриту чашку Петрі з щільних середовищем

поміщають в апарат Кротова і відбирають пробу протягом 5-х хвилин при швидкості проходження повітря 40 л/хв) або методом седиментації (на 15 хв. відкриті чашки Петрі з МПА і середовищем Сабуро). Після відбору проб апаратом Кротова чашки поміщають в термостат і витримують 20-30 хвилин протягом 2 діб при температурі 20-25 °С і 30-35 °С.

Після відбору методом седиментації при температурі 20-25 °С протягом 3 діб з середовищем Сабуро і при 37 °С протягом 2 діб – з МПА. Допускається не більше 50 не виробничих мікроорганізмів на 1 м<sup>3</sup> повітря для 2 класу чистоти і не більше 2 колоній мікроорганізмів на одній чашці Петрі. Допускається не більше 100 не виробничих мікроорганізмів на 1 м<sup>3</sup> повітря для 3 класу чистоти і не більше 5 колоній мікроорганізмів на одній чашці Петрі.

#### **Приготування дезрозчинів.**

- Пероксид водню з миючим засобом – прозорі, не мають неприємного запаху, не псують предмети, що обробляються, не корозійні метали, бактерицидна і спороцидна активність підвищується з підвищенням температури.

- Хлорамін (4 %) включена нашатирним спиртом.

- Етиловий спирт (76 %).

- Розчин для обробки рук С-4 «первомур» – суміш Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> і мурашиної кислоти, в якій в процесі приготування утворюється надмурашина кислота, яка має високу бактерицидну і спороцидну активність.

- Стериліум – фармакологічний, антисептичний препарат для обробки рук на основі пропанолу і мецетроніум етилсульфату. Інактивує навіть віруси СНІДу, гепатиту В.

#### **Підготовка обладнання до роботи.**

Яка складається з: підготовки касет і контейнерів для миття і стерилізації ампул, апарату для миття ампул, бюретки-дозатора, касети для розливу препарату, морозильної камери сублімаційної установки і контролю мікробної контамінації техобладнання. Устаткування підлягає обробці, яке безпосередньо стикається з препаратом: обладнання для приготування та розливу в ампули, обладнання для сушки сублімації препарату та ін.

В якості миючих засобів використовують «Лотос», а в якості деззасобів – пероксид водню, спирт. Прибирання та дезінфекція обладнання проводять аналогічно підготовці приміщень. Використовуваний технологічний одяг – комплект одягу без ворсової тканини, призначений для захисту матеріалів, напівпродуктів або готового продукту від контамінації мікроорганізмів виділяється персоналом.

Санітарний одяг складається з халата, тапочок, косинки або шапочки. Обробка технологічного одягу включає в себе прання, висушування і стерилізацію. Стерилізацію одягу та рукавичок проводять в автоклавах (ГФ-13) при 120 тиску 1,1 кгс/см 45 хвилин. Контроль мікробної контамінації здійснюється мікробіологом 2 рази на тиждень під час виробничого процесу в кожному виробничому приміщенні 2-3 класу чистоти вибірково і 1 раз в 2 тижні – після стерилізації одягу.

Вимоги до персоналу:

- Персонал проходить регулярні медичні огляди;
- Персонал, який робить візуальний контроль лікарських препаратів проходять регулярні огляди окулістів;
- Не допускаються до роботи (2-3 клас) носії патогенної мікрофлори, люди які мають алергічні та шкірні захворювання;
- Дотримання особистої гігієни;
- Регулярно приймає душ, миє голову не менше 2 разів на тиждень, забороняється користуватися косметикою, носити годинники, ювелірні вироби.

По приході персоналу в гардеробній знімає верхній одяг, одягає одяг і взуття, проходить в передбокснику знімає перехідний одяг миє і дезінфікує руки і бере комплект стерильного одягу і пакет із стерильним взуттям.

### **Допоміжні роботи**

Ця стадія включає підготовку ампул (їх укладання в касети, мийки, стерилізації), мікробіологічного посуду (мийка, стерилізація) приготування поживних середовищ, 0,05 % фізіологічного розчину натрію хлориду, наповнювача, барвників.

Стадія ТП (технологічний процес) 3. Підготовка виробничих штамів

### **Посів ліофілізованих мікроорганізмів**

При виробництві Біфітену використовуються біфідобактерії, лактобактерії та стрептококи. Еталонні штами були отримані з НДІ мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного в ліофілізованому стані в ампулах. Ампули зберігають у холодильнику і використовують при необхідності протягом 3 років. Для висіву мікроорганізмів ампулу розводять в 1 мл фізіологічного розчину NaCl і висівають на 2-3 чашки Петрі з МПА для отримання ізольованих колоній з наступним інкубуванням в термальній кімнаті (ГФ-17) при +37 °С протягом 20 годин. По закінченні інкубації штами контролюють візуально на відповідність культуральних ознак при зростанні на МПА, морфологію клітин шляхом мікроскопії мазків забарвлених за методом Грама, а також визначають активність тест-культур.

### **Посів відібраних колоній на пробірки зі скошеним агаризованим середовищем**

З метою використання на стадії ТП 4.1 «Вирощування «маточних» культур» або з метою зберігання штамів, мікроорганізмів, що відповідають вимогам, відсівають з чашки Петрі на 10 пробірок зі скошеним агаризованим середовищем. Пробірки зі штамом інкубують 20 годин при температурі +37 °С. Контроль температури здійснюється за допомогою термометра (КП-17.1).

Регулюють температуру за допомогою термостатичного приладу (РП-17.2). Після закінчення часу інкубації мікробіологічні штами контролюють на чистоту посівів шляхом мікроскопії мазків, контролюють по Граму і посіву на чашці Петрі з МПА для виявлення атипичних колоній.

Стадія ТП 4. Приготування «маточної» суспензії мікроорганізмів.

### **Вирощування «маточних» культур мікроорганізмів.**

Приготовані на операції ТП 3.2 виробничі штами відсівають на живильне середовище, попередньо приготоване в бактеріологічних матрацах (С-19). Для приготування «матраців» суспензія мікроорганізмів на 1 серію препарату, яка складається з 15000 одиниць сіють 6-7 матраців. Матраци зі штамми вирощують при +37 (протягом 20 годин в термальній камері (ГФ-17)). Після закінчення часу інкубації мікробіологічні штами контролюють на чистоту посівів.

### **Приготування «маточної» суспензії мікроорганізмів.**

З поверхні живильного середовища роблять зіскріб шпателем мікробної плівки, емульгують її в 0,85 % розчині NaCl з таким розрахунком, щоб в 1 мл суспензії містилося 7 млрд. бактерій по оптичному стандарту мутності. При змиві мікробної плівки з 1 матраца виходить 450 мл «маточної» суспензії, приготовленої в 1 пляшці обсягом 450 мл (С-20). Штами контролюють на чистоту посівів.

Стадія ТП 5. Отримання бактеріальної маси

### **Вирощування мікроорганізмів на виробничому поживному середовищі.**

Для отримання однієї серії препарату, яка містить переважно 15000 ампул, що використовують біомасу, яку засівають на 250 матраців з виробничим поживним середовищем. Для того, щоб засіяти вищевказану кількість матраців необхідно на стадії ТП 4.2. приготувати 6-7 пляшок «маточної» суспензії, так як 450 мл мікробної суспензії з однієї пляшки використовується для посіву 45-50 матраців. Перед виконанням усіх цих операцій на цій стадії матраци з виробничим середовищем перевіряють на проростання сторонньої мікрофлори і за наявності росту сторонньої мікрофлори їх відбраковують з подальшим знезараженням в камері Крупін (ГФ-8).

У кожен матрац (С-21) в стерильних умовах вносять 7-10 мл посівного матеріалу, який рівномірно розподіляється по всій поверхні живильного середовища. Матраци поміщають в термічну камеру.

Після закінчення терміну інкубації матраци з посівами переглядають у на проростання сторонньої мікрофлори: візуально, мікроскопією, посівом на чашки Петрі з МПА. З бактеріальної маси роблять мазки за Грамом і мікроскопірують їх.

Змив з матраців роблять тільки в тому випадку, якщо в мазках виявляється не менш 60-80 % мікроорганізмів.

### **Зіскріб біомаси з поживного агару.**

У кожен матрац стерильно вносять 20-25 мл 0,85 % NaCl, перевіряється на стерильність. Шпателями роблять зіскріб мікробної плівки з агаризованого середовища в матрацах. Після зіскрібка плівку зливають в 20 л балон (С-23) пропустив через фільтр (2 шари стерильного капрону і 4 шари стерильної марлі), встановлений на воронці з дрібною сіткою з нержавіючої сталі. Вміст балона

перемішують і визначають кількість мікробів в 1 мл суспензії. Вона повинна бути не менше 120 млрд клітин.

### **Приготування препарату Біфітену.**

Основний технологічний процес шостої стадії зводиться до додавання необхідної кількості наповнювача і розрахунку обсягу суспензії мікроорганізмів для розливу в ампули з таким розрахунком, щоб у кожній ампулі містилося 100 млрд клітин в 1 мл.

### **Зведення компонентів препарату Біфітену в серію**

З отриманої на стадії ТП 5 біомаси мікроорганізмів готують серію препарату Біфітену.

### **Додавання наповнювача.**

Наповнювач (гідроксипропілметилцелюлоза) додається з таким розрахунком, щоб концентрація мікробних клітин була 100 млрд клітин в 1 мл. При цьому вміст наповнювача був не менш 1-1,5 % в одиниці препарату. Отриманий препарат перекачують в герметичні балони (С-24) під дією вакууму з розрядкою 0,03-0,04 МПа і передають в бокс розливу препарату на стадію ТП 6.3 Наповнення ампул.

Біомасу контролюють шляхом посіву суспензії на чашки Петрі з МПА. Після ретельного перемішування наповнювача і біомаси роблять визначення концентрації мікроорганізмів в 1 мл і розраховують в якій кількості розливати в ампули готовий препарат (0,8-2,0) з тим, щоб в ампулі містилося 100 млрд клітин. Балони з розчином препарату (С-24) заносять в бокс розливу попередньо витерши 76 % розчином етилового спирту, встановлюють в захисних чохлах на розливному столі.

У бокс розливу вносять касети зі стерильними ампулами (К-6) і касети для наповнених ампул (К-26). За допомогою бюретки – дозатора (Д-25) йде відображення дози. Наповнені ампули поміщають вертикально в касету (К-25) куди вкладає 2 етикетки (на дно і збоку), в яких зазначено: назва препарату, номер серії, дата розливу. У міру заповнення касети прикривають стерильною капроновою-марлевою серветкою. Після закінчення розливу касети передають в передбоксники, де їх укладають в транспортні візки (ТР-27), які зверху накривають марлевым простиралом і медичною клейонкою з подальшою передачею на сублімаційне

висушування. Препарат контролюють на чистоту: мікроскопія мазків, посів на МПА.

Стадія ТП 7. Сублімаційна сушка препарату пробіотика Біфітену.

#### **Заморожування препарату.**

Касети з Біфітеном (К-26) через спецход передають в окреме приміщення сушильного цеху. Апаратники з прийому продукції встановлюють їх в морозильні прилавки (Х-28) по 40-50 касет у кожній. Морозильний прилавок служить в якості додаткового пристрою до сублімаційних приладів ТГ 50 ПП.

#### **Сублімаційна сушка препарату Біфітену.**

Сушку препарату ведуть в сублімаційних сушильних установках ТГ-50 (СШ-29). Сушарка складається з прямокутного боксу, виготовленого з корозійного матеріалу з дверима. Обладнана подвійною шарнірною підвіскою і 2-ма оглядовими вікнами, які служать додатково для безпосереднього візуального контролю за препаратом. Рідина під дією заморожування і глибокого вакууму, а згодом і температури сублімується у вигляді водяної пари вивітрюється з ампул. Водяні пари потрапляють в льодоконденсатор, на пластинках якого температура  $-60$  йде десублімації і опади у вигляді інею. Температуру підвищують по 3 на годину і до 30 годин сушіння вона досягає  $+40$ . При  $+18$  препарат витримують 18 годин. Весь процес триває протягом 48 годин. Після закінчення процесу сушіння камеру відсікають від вакуумної установки. Відкривають камеру, вивантажують продукцію і передають на запаювання.

#### **Запаювання ампул з препаратом Біфітеном.**

Запаювання проводять в приміщенні для запаювання бакпрепаратів на машині для запаювання ампул АП-6М (ГФ-30).

Стадія ПМВ 8. Перегляд, пакування та маркування готової продукції.

Після ліофілізації і запаювання ампул контролер разом зі співробітником мікробіологічного цеху проводить відбір із серії в кількості 70 ампул для серії близько 15000 ампул. Відібрані ампули контролюють за фізико-хімічними, біологічними, мікробіологічними показниками відповідно до ФС 42У-200/8-142-97.



При відповідності препарату вимогам ампули передаються на операцію перегляду ампул. Перегляд ампул здійснюється візуально. Візуальний перегляд робиться в добре освітленому приміщенні за столом для перегляду (ГФ-32). Ампули складають у пакети з запором (К-33) в кожен вкладають етикетку з назвою препарату, номер серії, датою перегляду і передають на маркування. Маркування робиться на машині АП-20М (ГФ-34).

На кожен ампулу наносять назву препарату українською та російською мовами, кількість доз, номер серії. Ампули після маркування розміщують в ящиках, які передають у приміщення фасування. На коробці відзначають «Україна», назву підприємства-виробника, його товарний знак і адресу, назву препарату латинською та українською або латинською та російською мовами, кількість доз, ампул, умови зберігання, реєстраційний номер, штриховий код.

#### Стадія ЗВ 9. Знезараження відходів

Відпрацьований мікробіологічний посуд зі слідами мікроорганізмів, а також браковані ампули з препаратом проходять знезараження. Знезараження скляного посуду, такий як пробірок, чашок Петрі, пляшок.

### 1.4.5. Характеристика готового продукту

#### Склад лікарського засобу: капсули, № 10

1 капсула містить: основні речовини: ліофілізовані пробіотичні бактерії дев'яти штамів, не менше -  $4,50 \cdot 10^9$  КУО (*Bifidobacterium bifidum* -  $2,25 \cdot 10^8$  КУО / 1,0 мг; *Lactobacillus plantarum* -  $2,25 \cdot 10^8$  КУО / 0,9 мг; *Lactobacillus casei* -  $2,25 \cdot 10^8$  КУО / 4,0 мг; *Bifidobacterium breve* -  $4,50 \cdot 10^8$  КУО / 5,0 м; *Lactococcus lactis* -  $9,00 \cdot 10^8$  КУО / 4,5 мг; *Lactobacillus rhamnosus* -  $4,50 \cdot 10^8$  КУО / 2,0 мг; *Streptococcus thermophilus* -  $4,50 \cdot 10^8$  КУО / 5,0 мг; *Lactobacillus helveticus* -  $9,00 \cdot 10^8$  КУО / 7,8 мг; *Bifidobacterium longum* -  $6,75 \cdot 10^8$  КУО / 5,0 мг), олігофруктоза - 63,0 мг;

допоміжні речовини: крохмаль кукурудзяний;

наповнювач: гідроксипропілметилцелюлоза;

емульгатори: шелак, магнію стеарат, кислота альгінова, камедь ріжкового дерева, масло оливкове;

барвник: титану діоксид;

антиоксидант: аскорбінова кислота.

### **Характеристика.**

Біфітен є комбінованою дієтичною добавкою - синбіотик, до складу якого одночасно з унікальною комбінацією входить 9 видів мікроорганізмів-пробіотиків, пребіотик олігофруктоза - живильне середовище і джерело енергії для росту і розвитку живих бактерій. Живі корисні бактерії, що потрапляють в кишківник, через 1-3 години після прийому всередину виходять з анабіозу, заселяють кишківник і починають проявляти здатність до адгезії і протидіяти патогенних бактерій.

Життєздатність корисних бактерій протягом тривалого перебування в шлунково-кишковому тракті забезпечують кишково-розчинні капсули, виготовлені за інноваційною технологією MURE® (Multi Resistant Encapsulation), захищають вміст капсули від впливу низького рівня рН шлункового соку, руйнівного впливу травних ферментів і солей жовчних кислот і забезпечують надходження безпосередньо в кишківник живих бактерій, здатних адаптуватися і зберігати високу біологічну активність саме в кишківнику, що підтверджено дослідженнями і перевірено часом.

Біфітен призначений для підтримки і відновлення шлунково-кишкової мікрофлори - потужної екосистеми, яка виконує в організмі людини захисну, імуностимулюючу, детоксикаційну, регуляторну та інші функції, а також формує захисний бар'єр, що перешкоджає проникненню і розвитку сторонніх мікроорганізмів, в тому числі збудників інфекційних хвороб.

Біфітен може використовуватися особами, які не переносять лактози. Продукт не містить казеїну і консервантів, тому його можуть використовувати особи з алергією на продукти, що містять дані речовини.

**Рекомендації щодо вживання.** Біфітен рекомендований як дієтична добавка до раціону харчування як додаткове джерело живих штамів пробіотичних бактерій і

пребіотика з метою регуляції діяльності шлунково-кишкового тракту при порушенні балансу мікрофлори кишківника (дисбактеріоз):

- внаслідок кишкових інфекцій бактеріального та вірусного походження, функціональних розладів кишківника (діареї, запорах);
- під час або після антибіотикотерапії;
- при пригніченні імунітету, порушення обміну речовин, алергічних проявах;
- при вживанні неякісних харчових продуктів і питної води.

## **РОЗДІЛ 2**

### **МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ПРОБІОТИКА**

### **БІФІТЕНУ**

Методи контролю препарату пробіотика Біфітену проводяться згідно Аналітичної нормативної документації (АНД) [19].

#### **2.1. Зовнішній вигляд препарату пробіотика Біфітену**

Порошок (кристалічна або пориста маса) бежевого кольору різної інтенсивності або бежевого кольору з сіруватим відтінком зі специфічним запахом і смаком. Визначають візуально.

#### **2.2. Автентичність препарату пробіотика Біфітену**

Нерухомі грампозитивні поліморфні палички з біфуркацією на одному або двох кінцях, завдовжки 4-5 мкм, розташовуються у вигляді скупчень або окремих клітин. Облігатний анаероб. При зростанні на напіврідких середовищах окремі колонії біфідобактерій мають форму дрібних «цвяхів», «крихт», «ниток» білого кольору, що утворюють при струшуванні крошкоподібну масу. Контроль проводять за методикою підприємства [26].

### **2.3. Фізико-біохімічні характеристики препарату пробіотика Біфітену**

Розчинність препарату пробіотика Біфітену. При додаванні води з розрахунку 1 мл на 1 дозу препарату протягом 5 хв утворюється гомогенна суспензія сірувато-бежевого кольору. Визначають візуально.

Прозорість препарату пробіотика Біфітену. Суспензія повинна бути непрозорою. Приготування розчину проводять по п. 3 АНД «Розчинність». Визначають візуально.

Кольоровість препарату пробіотика Біфітену. Суспензія повинна мати бежевий або бежевий з сіруватим відтінком колір. Приготування розчину проводять по п. 3 АНД «Розчинність». Визначають візуально.

рН препарату пробіотика Біфітену. Від 5.5 до 6.5. Суспензія готують по п. 3 АНД «Розчинність». Визначають по ДФУ вид. 1 р.2.2.3. с. 17 потенціометричні.

Втрата в масі при висушуванні препарату пробіотика Біфітену. Втрата не більше 3,5 %. Визначають ДФУ, вид.1, р.2.2.32, с. 49. 0,1 г сухої розтертої біомаси з флакона сушать в вакуум-сушильній шафі при температурі від 58 до 62 °С і при тиску від 1,5 кПа до 2,5 кПа до постійної маси [20].

### **2.4. Специфічна нешкідливість препарату пробіотика Біфітену**

Препарат повинен бути нешкідливим для білих мишей при введенні його перорально в кількості однієї дози. Випробування проводять на 5-ти безпородних мишах обох статей масою 14-16 г (зважування проводять безпосередньо перед дослідом). Вміст флакона розводять водою з розрахунку 0,5 мл на 1 дозу препарату. Кожній з 5-ти мишей вводять по 0,5 мл отриманої суспензії перорально в шлунок за допомогою насадки на шприц ємністю 1 мл. Термін спостереження – 5 діб. Всі тварини повинні залишатися живими і не втратити у вазі. У разі загибелі за цей

термін хоча б однієї миші або втрати у вазі контроль повторюють на подвійній кількості тварин. Препарат вважають нешкідливим, якщо при повторному випробуванні не загинула жодна з мишей. В іншому випадку дану серію бракують.

## **2.5. Мікробіологічна чистота препарату пробіотика Біфітену**

Препарат не повинен містити сторонніх мікроорганізмів, цвілі і дріжджоподібних грибів. Визначають по ДФУ, доп. 1, м 2.6.12, с.37, р.2.6.13, N, с.42.

Зразок лікарського засобу в кількості 10 г поміщають в мірну флакон ємністю 250 мл, доводять до 100 мл (розведення 1:10) буферним розчином з натрію хлоридом і пептоном, рН 7,0 і перемішують до утворення гомогенної суспензії. Для визначення загальної кількості бактерій по 1 мл суспензії висівають не менше, ніж на дві чашки Петрі з густим живильним середовищем № 1 методом двошарового посіву. Для визначення загальної кількості грибів по 1 мл суспензії висівають не менше, ніж на дві чашки Петрі з густим живильним середовищем № 2 методом двошарового посіву. Посіви на середовищі № 1 інкубують при 30-35 °С для виявлення бактерій, а посіви на середовищі № 2 – при 20-25 °С для виявлення грибів протягом 5 діб, якщо достовірні результати не будуть отримані раніше.

Для визначення окремих видів мікроорганізмів по 10 мл суспензії висівають в 100 мл рідких поживних середовищ: № 3 (для виявлення бактерій роду сім'ї *Enterobacteriaceae*) і № 8 (для виявлення *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*). Посіви інкубують при 30 - 35 °С протягом 18-24 годин, після чого роблять пересів з середовища № 3 на густі середовища № 4 і № 5, а з середовища № 8 – на густі середовища № 9 і № 10. Посіви інкубують при 35 -37 °С протягом 24-48 годин. При наявності росту мікроорганізмів проводять їх ідентифікацію відповідно до вимог ДФУ, доп. 1, м 2.6.13, N, с. 42. Препарат не повинен містити сторонніх мікроорганізмів, цвілі і дріжджоподібних грибів. У разі виявлення в посівах сторонніх мікроорганізмів, контроль повторюють на подвійній кількості зразків

препарату. При відсутності росту мікроорганізмів при повторному посіві випробуваний препарат вважають відповідним вимогам. У разі зростання сторонніх мікроорганізмів при повторному посіві зразків серію препарату бракують [37].

## **2.6. Специфічна активність препарату пробіотика Біфітену**

Специфічна активність препарату визначається за кількістю життєздатних клітин біфідобактерій, лактобактерій та стрептококів в одній дозі і активністю кислотоутворення. В одній дозі препарату повинно міститися не менше 10 живих біфідобактерій лактобактерій та стрептококів. Визначення проводять по п. 10.1 АНД "Визначення кількості живих біфідобактерій, лактобактерій та стрептококів в 1 дозі". Показник активності кислотоутворення Біфітену, виражений в градусах Тернера ( $^{\circ}$  Т), повинен бути не нижче 90. Визначення проводять по п. 10.2 АНД "Визначення активності кислотоутворення препарату".

## **2.7. Упаковка препарату пробіотика Біфітену**

За 5 або 10 доз в скляні флакони типу ФО-1-10 або ФМ-05 зі скла марки НС-1А або НС-1 по ТУ 9461-025-00480678-99, або у флакони типу ФОП-Ю-А, або ФОП-5-А зі скла марки УСП-1 по ТУ у 00480945-006-98 або у флакони типу ФО-1-10 або ФМ-1-5 зі скла марки НС-3 по ТУ 9461-010-00480514-99, або в флакони ін'єкційні прозорі або коричневого кольору з трубного скла виробництва фірми "SCHOTT forma vitrum" forma vitrum kft. (Свідоцтво про державну реєстрацію № 7521/2008), закупорені пробками № 1 конструкції 1 з гуми марки ІР-119 по ТУ У 600152253-013-96 або ТУ У 25.1-00152253-037-2004, або ТУ У 25.1-00152253-034 -2002, або виробництва фірм West Pharmaceutical Services Deutschland GmbH & Co. KG, або

West Pharmaceutical Services Denmark A / S, або West Pharmaceutical Services, або West Pharmaceutical Services Singapore Pte. Ltd., або West Pharmaceutical Services Beograd doo Kovin (свідоцтво про державну реєстрацію-рацію № 7322/2007), і обтиснуті ковпачками алюмінієвими типу К-2-20 або К-2-14 за ТУ У 25206109.001-2001 або ТУ У 28.7 – 30883300-005-2002, або ТУ У 14257180.003-98 або виробництва фірм West Pharmaceutical Services Deutschland GmbH & Co. KG, або West Pharmaceutical Services Denmark A / S, або West Pharmaceutical Services, або West Pharmaceutical Services Singapore Pte. Ltd., або West Pharmaceutical Services Beograd doo Kovin (свідоцтво про державну реєстрацію № 7290/2007). Десять флаконів разом з інструкцією із застосування вкладають в пачку по ОСТ 64-071-89 з картону коробкового (хром-ерзац) по ГОСТ 7933-89 перегородкою або гофрованою вкладкою, або полімерним вкладишем з плівки полівінілхлоридної для розміщення та фіксації флаконів. На флакони наклеюють етикетку з паперу етикеткової по ГОСТ 7625-86 або паперу згідно з ГОСТ 18510-87, або етикетку на липкій основі. Групова та транспортна тара відповідно до ГОСТ 1776-90 [19].

## **2.8. Маркування препарату пробіотика Біфітену**

На флакон фарбою глибокого друку для скляних виробів по ТУ У 42.34.011-97 українською або російською мовами нанесено: назва препарату, кількість доз, норм серії, термін придатності. На етикетці (макеті) флакона українською та російською мовами вказують: назва підприємства, товарний знак, назву препарату латинською, російською та українською мовами, кількість доз, номер серії, термін придатності. На пачці (макеті) та етикетці групової тари українською та російською мовами нанесено: «Україна», назва підприємства, товарний знак і адресу, назву препарату латинською, російською та українською мовами, лікарську форму, кількість доз, кількість флаконів, "Для застосування через рот", умови зберігання, "Зберігати в недоступному для дітей місці", номер серії, реєстраційний номер, термін



придатності, штрих-код, реєстраційний номер в країні-імпортері (при необхідності). Серійний номер і термін придатності допускається наносити на бічній стороні пачки методом тиснення. На етикетці групової тари додатково вказують кількість упаковок. Транспортне маркування за ГОСТ 14192-96. При поставці препарату на експорт допускається текст маркування вказувати мову, обумовленої в контракті.

Транспортування препарату пробіотика Біфітену – в закритих транспортних засобах усіма видами критого транспорту при температурі 2-8 °С по ГОСТ 17768-90.

Зберігання препарату пробіотика Біфітену – в сухому, захищеному від світла місці при температурі 2-8 °С.

Термін придатності препарату пробіотика Біфітену – 1 рік.

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 3.1. Вибір штамів біфідобактерій для отримання Біфітену

Оскільки вміст бактерій *B. bifidum* найбільший в 1 капсулі Біфітену, тому слід звернути більшу увагу на підвищення його активності. В зв'язку з цим актуальним є удосконалення традиційної схеми з метою підвищення біологічної активності штаму, стійкості, життєдіяльності та скорочення часу накопичення біомаси.

Функції нормальної мікрофлори в організмі є життєво важливими: синтезуюча, регуляторна, десенсибілізуюча, дезінтоксикаційна, ферментативна, захисна й імуностимулююча. Останнім часом спостерігається широка розповсюдженість серед населення дисбактеріозів та вторинних імунодефіцитів. При цьому проявляється виражена алергізація організму та активізація хронічних бактеріальних і вірусних інфекцій. Численні епідеміологічні дослідження доводять, що майже 90% населення земної кулі мають порушення якісного та/або кількісного складу мікрофлори в організмі людини. Причинами дисбактеріозів є антибіотикотерапія, гормонотерапія та хіміотерапія, гіповітамінози, неповноцінне і нераціональне харчування, несприятливі соціально-економічні та екологічні умови. Тому виникла необхідність проведення активної профілактики та ефективної корекції порушеної мікробіологічної рівноваги. Одним з найбільш ефективних засобів корекції є пробіотики. Серед пробіотиків важливими є біфідобактерії *Bifidobacterium bifidum*.

Відомий штам *Bifidobacterium bifidum* В-3300, використовуваний у виробництві бактерійних препаратів, сквашує молоко протягом 18-24 годин, має антагоністичну активність проти *S. sonnei*, *S. flexneri*, *E. coli* (220), *S. aureus*, стійкий до канаміцину, мономіцину, чутливий до антибіотиків пеніцилінового ряду, кефзолу, гентаміцину тощо (див. патент SU 2023396, МПК А23С9/12, 1994р.). Недоліком цього штаму є недостатньо висока біологічна активність і технологічність.

Відомий штам *Bifidobacterium bifidum* V-4, депонований 5 квітня 1993 року у центральному музеї промислових мікроорганізмів ВНИИгенетика під номером S-1257 (патент Російської Федерації 2108383, МПК6 C12N1/20, A23C9/12, 1998 рік). Цей штам виділений із умісту кишківнику здорової дорослої людини. Морфологічні і культуральні ознаки. Вирощені на гідролізованих молочних середовищах клітини штаму V-4 мають вигляд довгих тонких гранульованих паличок, розташованих у скупченнях, дуже рідко – у вигляді окремих паличок.

Довжина клітин складає 3,5-5 мкм, товщина 0,3-0,5 мкм. Грампозитивні, нерухливі, спор і капсул не утворюють. У щільних живильних середовищах (1,5 % агару) утворюють пастоподібні колонії ясно-коричневого кольору у вигляді "гречаних зерен" або дисків до 2,5-3мм у діаметрі. Пігменту не утворюють. У рідких живильних середовищах ріст по висоті живильного середовища 90-95 %. Фізіолого-біохімічні ознаки. Непатогенний, безспоривий облігатний анаероб. Каталазу не утворює.

Оптимальна температура росту 36,5-38,0 °С, максимальна температура становить 41±0,5 °С, мінімальна – 25±0,5 °С; при 46,5 °С не розмножується. Оптимальний початковий рН живильних стерилізованих середовищ 6,8-7,0 одиниць рН. Желатин не розріджує, нітрати не відновлює, індол не утворює. Ферментує лактозу з утворенням оцтової і молочної кислот (газу не утворює). На молочних середовищах утворює більше молочної кислоти, ніж оцтової; на печіночних середовищах утворює більше оцтової кислоти, ніж молочної.

Сквашує молоко при 5%-ній дозі інокуляції (інокулянт готують на гідролізатно-молочних середовищах) за 14-16год., закислюючи молоко до рН=(4,7±0,1) або до кислотності (75±5) °Т. Штам стійкий до 4 % NaCl, при 6 % NaCl у середовищі ріст знижується на порядок, понад 6 % – у 2-4 рази. Стійкий до ристоміцину, кормогризину, канаміцину, неоміцину, мономіцину. Чутливий до тетрацикліну, оксацикліну, ампіциліну, пеніциліну. Ферментує глюкозу, галактозу, лактозу, сахарозу; не утилізує арабінозу, ксилозу, рибозу, манозу, фруктозу, мальтозу, рафінозу, сорбіт, інουλін, маніт, інозит, трегалозу.

Максимальний ріст на живильних середовищах складає  $(6-9) \cdot 10^8$  КУО/мл, у молоці –  $(4-6) \cdot 10^8$  КУО/мл. Штам *B. bifidum* V-4 антагоністично активний до патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів – шигел Зонне, Флекснера, до ентеропатогенних мікроорганізмів. Причинами, що перешкоджають одержанню потрібного технічного результату є недостатня стійкість до агресивних середовищ шлунково-кишкового тракту.

Штам *Bifidobacterium bifidum* 45 депонований у "ГНИИгенетика" під номером ВКПМ Ас-1621 (патент Російської Федерації №2184146, МПК7 С12N1/20, А23С9/12, А61К35/74, А23L1/03, 2002 рік). Штам виділений з кишківнику здорової дорослої людини. Культурально-морфологічні ознаки. Поліморфні грам позитивні палички вигнуті або з роздвоєннями на кінцях, нерухомі, ростуть у рідких живильних середовищах по всьому об'єму, крім зони аеробіозу. Культура штаму пігмент не утворює.

На середовищах Блаурока, гідролізатно-молочному, казеїново-гідролізатному і тіогліколевому, логарифмічна фаза росту закінчується за 16-18 годин. Загальна кислотність на середовищі Блаурока за 24 години досягає 90-100 °Т. Оптимальна температура вирощування 37,5-40,5 °С. Кращий спосіб нагромадження біомаси – вирощування культури на казеїново-гідролізатному середовищі. Середовище висушування сахарозо-желатинове. У ліофільному вигляді зберігається від 1 року до 7 років.

Фізіолого-біохімічні ознаки. Облігатний анаероб. Ферментує целобіозу, лактозу і глюкозу з утворенням оцтової і L+ молочної кислот. Арабінозу, ксилозу, рибозу, маніт, меліцитозу, саліцин не ферментує. Зброджує молоко за 14-16 годин з утворенням стабільного згустку при кислотності 90-110 °Т. Каталазу не утворює, желатин не розріджує.

Антагоністичні властивості. Штам біфідобактерій *B. bifidum* 45 ВКПМ Ас-1621 пригнічує ріст шигел Зонне, Флекснера, ентеропатогенних кишкових паличок, золотистих стафілококів, клебсієл, протеїв та інших умовно патогенних мікроорганізмів. Антибіотикостійкість штаму. Штам *B. bifidum* 45 ВКПМ Ас-1621

стійкий до дії канаміцину, мономіцину, гентаміцину, левоміцитину, кефзолу, стрептоміцину, ампіциліну.

Адгезивні властивості біфідобактерій. Адгезивність штаму оцінювалася по середньому показнику адгезії (СПА), який дорівнює 9,8-10. Бактеріоциногенні властивості. Штам біфідобактерій *B.bifidum* 45 ВКПМ Ас-1621 виділяє біфідоцини й утворює зону затримки росту індикаторних культур від 2 до 3,5 мм. Причинами, що перешкоджають одержанню потрібного технічного результату є те, що штам *Bifidobacterium bifidum* 45 ВКПМ Ас-1621 недостатньо стійкий до ушкоджуючих факторів середовищ культивування та шлунково-кишковому тракту, а отже, недостатні його життєздатність і колонізуючі властивості.

Зазначену задачу вирішує штам *Bifidobacterium bifidum* [23] для виготовлення бактерійних концентратів та харчових продуктів, які коригують мікрофлору травного тракту людей та тварин.

В якості носія доцільно використовувати фруктовий, цитрусовий чи овочевий порошок, або порошок ананасів, чи баштанових культур, або їх суміш, а також цукор молочний і стеарат кальцію при такому співвідношенні компонентів, % мас.: бакконцентрат 10-25; цукор молочний 20-35; стеарат кальцію 1-2; носій решта.

Слід відмітити, що пробіотик в якості носія може містити порошок, вибраний з наступного ряду: порошок яблук, порошок груш, порошок винограду, порошок цитрусових, порошок ананасів, порошок моркви, порошок буряка, порошок часнику, порошок гарбуза, порошок кавуна, порошок дині, порошок капусти, порошок петрушки, порошок кропу, порошок шпинату, порошок топінамбуру.

### **3.2. Характеристика штаму *Bifidobacterium bifidum***

Штам *Bifidobacterium bifidum* (див. рис. 3.1) ідентифіковано в науково-методичному центрі "Біокорекція" м.Київ, узвіз Протасів Яр. Штам *Bifidobacterium*

*bifidum* депонований у колекції Інституту мікробіології та вірусології НАН України під номером у 2000р.

Родовід штаму. Штам ізольований з кишкового вмісту.

Спосіб одержання штаму. Штам культивований в напіврідкому поживному середовищі Блаурока шляхом пересівів з окремих колоній 1-2 рази на тиждень з експозицією в термостаті при  $38 \pm 0,5$  °С. Клонування проведено двадцятьма пасажами з уокремлених колоній з розведення щільного росту, яке відповідає 1:100 млн. Штам виявив антагонізм до поширених умовно-патогенних та патогенних мікробів, має високий рівень адгезії до слизової оболонки кишківнику, достатню для виробництва швидкість накопичення біомаси, високі показники кислотності.

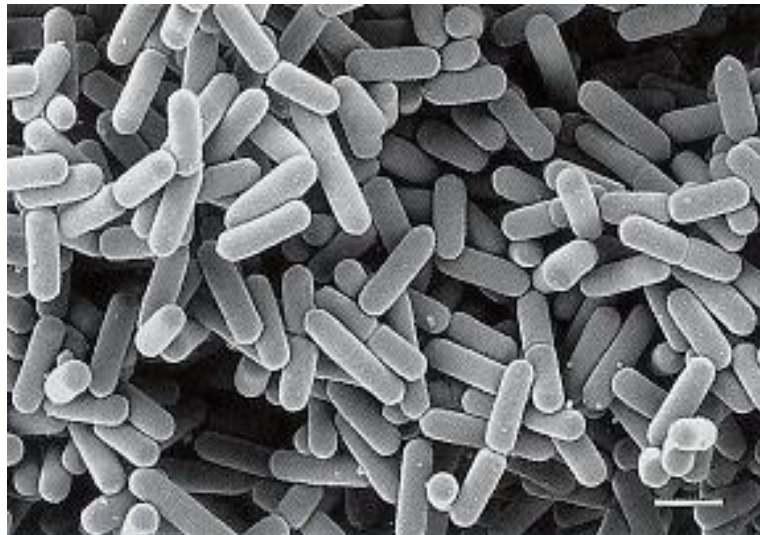


Рис. 3.1 Мікроскопічна фотографія *Bifidobacterium bifidum*

Морфологія. Клітини штаму – грампозитивні поліморфні палички, довжиною 4-5 мкм, товщиною біля 0,5 мкм, можуть мати біфуркації на одному, або обох кінцях; розташовуються скупченнями по 7 і більше клітин, або поодиночі, парами.

Культуральні властивості. Вимагає анаеробних умов, використання регенерованих середовищ. В лабораторіях добре культивується в стовпчиках напіврідкого середовища Блаурока та інших за умови, що висота стовпчика не нижче 5 см. Засівається піпетками місткістю в 1-2 мл, з введенням матеріалу до дна пробірки з наступним перемішуванням без барботажу. Через добу при щільному посіві стає

помітною смуга прозорої незарослої рідини безпосередньо під меніском. Культура вимагає 1-2 діб вирощування, аби досягти максимальної концентрації. За повного терміну культивування концентрація може сягати 100 млн. на мл і більше. Штам швидко утворює смугасті видовжені колонії, які на другу добу грубішають і стають схожі на "ракетні запуски" з характерним розгалуженням в нижній частині. На поверхні агарових середовищ колонії напівпрозорі, округлі, трохи розпливчасті діаметром 2-3 мм.

Фізіолого-біохімічні властивості. Результати випробувань наведені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Ферментуюча активність штаму *Bifidobacterium bifidum*  
до цукрів та інших речовин

Речовина	Утворення кислоти	Речовина	Утворення кислоти
Арабіноза	-	Сорбіт	-
Саліцин	-	Ксилоза (на 2 добу)	+/-
Целобіоза	-	Глюкоза	+
Трегалоза	-	Галактоза	+/-
Меліцитоза	-	Рамноза	-
Рибоза	-	Маніт	-
Інозит	-	Лактоза (на 3 добу)	+
Дульцит	-	10% желатин	не розріджує

Молоко закислює, згусток не утворює. Штам призначений для використання в складі заквасок, бактерійних концентратів для виготовлення сумішей і препаратів з метою корекції порушень мікробіоценозів і лікування кишкових захворювань людей і свійських тварин.

Продукти, що синтезуються штамом. Штам синтезує кислоти, зокрема оцтову і молочну, чинники мікробного антагонізму.

Активність і промислові показники штаму. Антагоністична активність штаму. Для визначення антагоністичної активності штаму було застосовано метод його вирощування на агарових платівцях з підшаруванням культури *Serratia marcescens*, як поглиначка кисню. Штам рясно засівався на поверхню агару і через добу

перпендикулярно до нього на відстані не більше 1-2 мм стрічками засівались штами, що випробовувались. Склад агару для випробування антагоністичної дії відповідав складові казеїно-дріжджово-гідролізатного середовища з доданням агару до 2 %. Результати наведені в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Антагоністична активність штаму *Bifidobacterium bifidum*

Назва виду і штаму	Відстань пригнічення у мм
<i>E. coli</i> 026 F/41	11
<i>E. coli</i> 0111 "Stoken"	12
<i>E. coli</i> Aberdin	12
<i>S. sonnei</i> 17 (reg.N 100033)	9-10
<i>S. flexneri</i> 2a (reg N 100035)	9-10
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13885	1
<i>S. typhi</i> 562 (свіжовиділений)	9-10
<i>P. mirabilis</i> F 458	13
<i>P. vulgaris</i> U 8	10
<i>P. vulgaris</i> F 295 A	11
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	11

Специфічна активність в кишківника (рівень адгезії штаму до поверхні слизової оболонки (рівень гістадгезії) експериментальних тварин). Рівень адгезії (гістадгезії) клітин кишкових мікробів, зокрема біфідобактерій є прямим визначенням їх колонізаційної активності. Випробовували на свіжоекстірпованих кишківниках за методом В. П. Жалко-Титаренко, В.М. Бондаренко, А.В. Григор'єва, Л.Г. Купчинського. Метод складається з 9 окремих процедур: готування мікробної суспензії, передопераційної підготовки тварини, евтаназії, препарування кишківнику, його канюлізації і введення мікробної суспензії, витримування при зниженій температурі, відмиванні, триптичної дезінтеграції і посіву.

Специфічна, колонізаційна (гістадгезійна) активність штаму наведена в таблиці 3.3.



Таблиця 3.3

Гістадгезійна активність штаму *Bifidobacterium bifidum*

Концентрація біфідобактерій штаму в млн/мл	Рівень гістадгезії в КУО на кв.см слизової	Середнє значення коефіцієнта гістадгезії $\mu$
0,1	740±37	0,36±0,18
1,0	1542±771	
10,0	30475±1523	
100,0	67933±3396	

Для визначення конкурентноздатності штаму за сайти адгезії в кишківнику обчислено показник конкуренції порівняно з вірулентними шигеллами Флекснера, що мають  $U=0,03$ . Показник конкуренції:  $(\mu_{\text{штаму}})/(\mu_{\text{шигел}})=0,36:0,03=12$ . Це означає, що штам перевищує гістадгезивну потужність збудника дизентерії майже у 12 разів.

Репродуктивна активність. Штам досягає максимальної концентрації при репродукції у флаконах з казеїново-дріжджово-гідролізатним середовищем на третю добу вирощування. Початкова швидкість розмноження при концентраціях 10000-1000000 КУО на мл складає величину  $m=0,2$  за годину. Рівні максимальних концентрацій і відповідно кислотності за Тернером наведені в таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

Концентрація штаму *Bifidobacterium bifidum* і кислотність розчину протягом відрощування

Кількість годин вирощування	Концентрація КУО на мл	Градуси Тернера
0	38 тис.	0
8 год. 30 хв.	20 млн.	45
23	200 млн.	75
45	100 млн.	135
53	100 млн.	146

Довгострокове зберігання штаму. Для довгострокового зберігання штаму необхідно його ліофілізувати за технологією, що використовується при випуску препаратів типу "Біфідумбактерин сухий". Тимчасове продовжене зберігання протягом тижня, до місяця включно припустимо в пробірках з середовищем Блаурока

та іншим під шаром вазелінової олії в рефрижераторі з температурою не нижче +5°C. Для ліофілізації треба мати культуру штаму вирощену в напіврідкому середовищі при 39 °C протягом 2-х діб. До взятого об'єму культури додають свіжовиготовлене середовище висушування в кількості 33 %. Середовище висушування складається з трьох рівних частин по 50 мл: знежиреного молока - "обрату"; розчину 31,5 г сахарози у дистильованій воді; розчину 4,5 г желатини у дистильованій воді (желатину для набухання витримують у теплій воді 1-2 години). Компоненти нарізно стерилізують в автоклаві 30 хв. при 110 °C, змішують в теплому стані і додають до культури при 37-39 °C.

Режим висушування: заморожування під вакуумом до -45 °C, ступінчасте підвищення температури по 5 °C на годину до +22-+24 °C, досушування протягом 12 год.

Спосіб, умови та склад середовища для культивування штаму. Штам культивують в напіврідких середовищах за відомими стандартними рецептурами. Основою культивування є ряд пробірок з відповідним середовищем по 9 мл, що попередньо бажано регенерувати. Колонія штаму вноситься в першу пробірку ряду, ретельно перемішується насмоктуваннями без барботажу. Матеріал з першої пробірки далі переноситься в наступні по 1мл (серійні десятикратні розведення). Температура культивування  $38 \pm 0,5$  °C.

Для одержання штаму з наданих Депозитарієм флаконів, культура оживлюється регідратуванням шляхом додавання 5 мл стерильної дистильованої води, фізіологічного розчину хлориду натрію або поживного середовища. Після цього матеріал серійно розводять по 1 мл в рядах з 9 пробірками по 9 мл середовища в кожній і термостатують з щоденною перевіркою протягом 4 днів.

Генетичні особливості штаму. Штам генетично однорідний. Штам чутливий до деяких антибіотиків: гентаміцину, тетрацикліну, ампіцикліну, карбеніциліну, рифампіцину, цефазоліну, мономіцину, канаміцину. Штам резистентний до нітроксоліну, налідіксової кислоти.

### 3.3. Підбір поживного середовища для вирощування біфідобактерій

Для культивування біфідобактерій [22] використовують поживне середовище, до складу якого входять компоненти: пептон, лактоза, натрій хлористий, цистин, твін, агар мікробіологічний, панкреатичний гідролізат казеїну, бульйон печіночний. Недоліком такого поживного середовища є невеликий термін зберігання біфідобактерій, а також зазначене середовище передбачає значні матеріальні витрати на здійснення процесу. Також відмічається повільний ріст бактерій, максимальна кількість бактерій відмічається на 18-24 год. культивування.

Таблиця 3.5

Склад поживних середовищ для вирощування біфідобактерій

Компоненти поживного середовища	Вміст поживних речовин, г/л	
	Традиційне поживне середовище	Удосконалене поживне середовище
натрій хлористий	5	-
пептон	10	-
екстракт печінки	14	-
агар	0,75	0,075
цистин	0,1	0,1
лактоза	10	0,5
молочна сироватка	-	10
дріжджований аутолізат	-	0,3
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	-	0,8
$\text{NH}_4\text{Cl}$	-	0,1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	-	0,02

Поставлене завдання вирішується тим, що в якості живильного середовища використовували молочну сироватку (див. табл. 3.5).

Молочну сироватку і дріжджовий аутолізат використовують в якості живильної основи, лактозу – джерело вуглецю, цистеїн – редукуючої речовини,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – джерело фосфору,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – джерело азоту,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – джерела магнію.

Відомо використання молочної сироватки в якості комплексного збагачувача поживних середовищ, однак у складі живильних середовищ для культивування

біфідобактерій молочну сироватку і, зокрема, освітлену молочну сироватку не використовували. Освітлена молочна сироватка дозволяє отримати прозоре живильне середовище, що забезпечує відсутність осаду при вирощуванні біфідобактерій, отримання біомаси біфідобактерій, вільної від компонентів середовища. Прозорість середовища дозволяє здійснювати візуальний контроль чистоти культури і може бути використана також для дослідницьких цілей.

Пропоноване агаризоване дріждже-молочно-сольове середовище (АДМС) володіє високими ростовими якостями. Нарощування біомаси біфідобактерій до концентрації  $10^9$  КУО/мл на цьому середовищі відбувається протягом 7-8 год проти 18-24 год при використанні традиційного середовища.

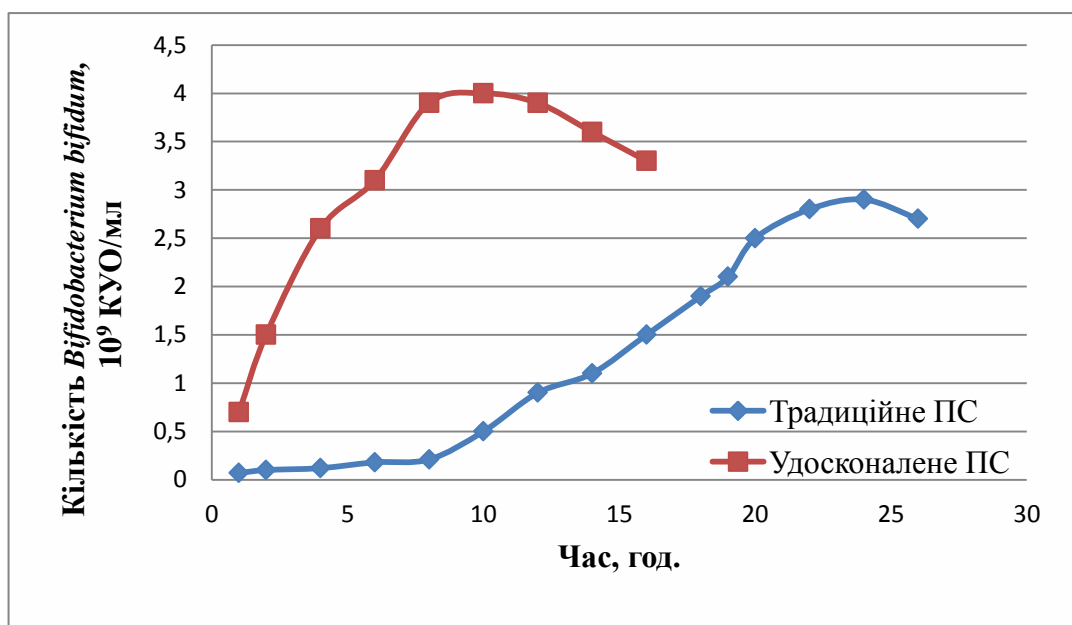


Рис. 3.2 Накопичення клітин *Bifidobacterium bifidum* при вирощуванні на традиційному та удосконаленому поживному середовищі

Крім того, на відміну від традиційного середовища, пропоноване середовище можливо заготовляти про запас у вигляді концентрованих розчинів.

### 3.4. Удосконалення технології отримання Біфітену

Удосконалена принципово-технологічна схема отримання Біфітену наведена в додатку Б. Удосконалення відбувається на стадії:

1. Підготовки поживного середовища (додавання до середовища молочної сироватки).

2. Вирощування посівного матеріалу (заміна штаму *Bifidobacterium bifidum* № 1 на *Bifidobacterium bifidum*).

3. Отримання мікробної біомаси (зниження часу культивування – від 24 до 8 год.).

Переваги удосконаленої схеми:

- Скорочення часу накопичення біомаси у 3 рази.
- Висока біологічна активність штаму *Bifidobacterium bifidum*.
- Стійкість штаму *Bifidobacterium bifidum* до агресивних середовищ шлунково-кишкового тракту.
- Висока життєздатність штаму *Bifidobacterium bifidum* і колонізуючі властивості.

Біфітен містить 4,5 млрд ( $4,5 \cdot 10^9$  КУО) корисних бактерій, збалансованих за складом, - 9 добірних штамів живих корисних бактерій, які вважаються безпечними і схвалені Європейським агентством безпеки харчових продуктів (EFSA): 4 види лактобацил (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus helveticus*), 3 види біфідобактерій (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*), лактококков (*Lactococcus lactis*), термофільний стрептокок (*Streptococcus thermophilus*).

Біфідобактерії (*Bifidobacterium*) беруть участь в утворенні молочної і оцтової кислот, синтезі амінокислот, білків і вітамінів, посилюють всмоктування іонів кальцію, заліза і вітаміну D, пригнічують ріст патогенної мікрофлори, підтримують процеси пристінкового травлення, сприяють зниженню рН живильної маси в товстому кишківнику.

Лактобактерії (*Lactobacillus*, *Lactococcus*) пригнічують ріст патогенної мікрофлори, продукуючи молочну кислоту, спирт, лізоцим, перекис водню, інтерферони, а також позитивно впливають на розвиток біфідобактерій, які є основною складовою мікрофлори здорового кишківника. Лактобактерії виробляють речовини з природними антибактеріальними властивостями, що сприяє очищенню організму від шкідливих бактерій і грибів.

Термофільний стрептокок (*Streptococcus thermophilus*) розщеплює лактозу і полісахариди, зменшує алергічні прояви при непереносимості лактози, сприяє пригніченню росту патогенної мікрофлори, розщеплює казеїн, окисляє нітрити до нітратів.

Саме завдяки такій комбінації бактерій Біфітен проявляє підвищену ефективність в порівнянні з продуктами, що містять один вид бактерій. Тому 1 капсула на добу допоможе підтримати і збалансувати мікрофлору шлунково-кишкового тракту.

### **3.5. Біореактор BioFlo Pro для вирощування мікроорганізмів**

Біореактор - BioFlo Pro

Технічні характеристики:

продуктивність – 150 кг/год,

розміри: об'єм – 500 м<sup>3</sup>,

висота – 4 м.

потужність – 75 кВт,

вага – 10000 кг,

максимальна температура охолодження конденсатора – -75 °С.

На рис. 3.3 зображено біореактор для вирощування бактерій.



Рис. 3.3. Біореактор BioFlo Pro для вирощування мікроорганізмів

## РОЗДІЛ 4

### ОХОРОНА ПРАЦІ

#### **4.1. Небезпечні та шкідливі виробничі фактори в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітен**

В лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену діють такі шкідливі і небезпечні виробничі фактори:

**Нервово-психічні перевантаження:** зоровий дискомфорт під впливом довгострокової роботи на комп'ютері та з лабораторними приладами (мікропіпетками, концентратомером, бюретками, мікроскопом), що потребує підвищеного зосередження, в умовах недостатньої освітленості робочої зони. Причиною перенапруги очей може бути недостатня освітленість, необхідність розглядати дрібні колонії мікроорганізмів, тривала робота з мікроскопом, за комп'ютером, на що витрачається біля 5 годин робочої зміни [15, 24].

Підвищений рівень ультрафіолетової радіації, джерелом якої є бактерицидні кварцові лампи, спектр яких містить випромінювання діапазону довжин хвиль 205–315 нм. Дані електричні джерела випромінювання використовуються в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену для створення стерильних умов в боксі. Інтенсивність опромінення працівника становить  $0,005 \text{ Вт/м}^2$  при загальній тривалості впливу 20 хв.

Підвищений рівень електромагнітних випромінювань. Його головними джерелами в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену є персональний комп'ютер, периферійні пристрої комп'ютера – принтер, сканер, холодильник, електроплитка.

Для обробки та аналізу наукових даних отриманих в результаті проведення дослідження з мікроорганізмами пробіотика Біфітену використовується комп'ютер, який в свою чергу є джерелом електромагнітного випромінювання. Сучасні ПК випускають із захисними екранами або спеціально нанесеним на дисплей захисним



шаром, але це не вирішує проблеми впливу електромагнітного випромінювання на користувача. Крім того, джерелом електромагнітного випромінювання також виступає задня стінка ПК при його роботі, якщо вона не захищена [7]. В нашому випадку за комп'ютером доводилося працювати по 8–10 год протягом доби, а задня стінка ПК не захищена. Дія електромагнітного поля на працівника з рівнем, що перевищує гігієнічну норму, триває 3 години, результатом чого можуть бути функціональні порушення нервової, ендокринної та серцево-судинної систем.

Підвищений рівень шуму на робочому місці в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену, який призводить до послаблення зосередженості та відволікання від роботи. Даний негативний фактор виникає в лабораторії внаслідок використання системи вентиляції, стерилізаційного обладнання (сушильної шафи, автоклаву), персонального комп'ютера, шейкера тощо. Шкідливий вплив підвищеного рівня шуму (більше, ніж 50 дБА) протягом 3 годин виявляється як у вигляді специфічного негативного впливу на органи слуху, так і у вигляді порушень багатьох інших органів, в першу чергу центральної нервової системи.

**Хімічні речовини**, які входять до складу застосовуваних матеріалів в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену, що проникають в організм людини через органи дихання, шлунково-кишковий тракт, шкірні покриви і слизові оболонки.

Хімічні небезпечні та шкідливі виробничі фактори, що характеризуються токсичною (гідроксиди калію та натрію, аміак, сірчана, соляна, азотна, оцтова, етиловий спирт, солі калію та магнію, біхромати, неорганічні сполуки фосфору, ароматичні вуглеводні, розчинники, перекис водню, тощо), подразнюючою (дезінфікуючі та мийні засоби, хлор, фтор і азотомісткі сполуки, аміак, вапняк), канцерогенною (ароматичні вуглеводні, біхромати), алергенною (антибіотики, вапняк, біхромати) діями.

Перш за все, небезпека дії хімічних речовин пов'язана з тим, що при проведенні лабораторних досліджень виникає тісний контакт зі шкідливими, небезпечними, а також токсичними речовинами, які використовуються в якості реактивів.

Дані хімічні небезпечні та шкідливі виробничі фактори діють у концентраціях, що перевищують або дорівнюють гранично допустимим концентраціям шкідливих речовин у повітрі робочої зони, протягом 5 годин.

#### **4.2 Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних або шкідливих виробничих факторів в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену**

Для профілактики захворювання очей у першу чергу необхідно звернути увагу на дотримання режимів праці та відпочинку, на правильне розміщення ПК та монітору зокрема (щоб центр екрана дисплея був нижчий від кута зору людини), на використання моніторів з покращеними характеристиками і на забезпечення раціонального освітлення робочого місця.

З метою профілактики несприятливого впливу електромагнітного випромінювання від комп'ютера на користувача необхідно:

- встановити на робочому місці монітор, що відповідає сучасним вимогам стосовно захисту від випромінювання;
- не концентрувати на робочому місці великої кількості радіоелектронних пристроїв;
- вимикати екран, якщо на ньому не працюють, але знаходяться неподалік.

Експлуатація бактерицидних установок повинна здійснюватися відповідно вимогам, вказаним в паспорті на виробі і інструкції з експлуатації. Бактерицидні лампи, що відробили термін служби, повинні бути замінені новими. Для цього необхідно вести облік часу роботи опромінювачів у приміщенні. До експлуатації бактерицидних установок слід допускати тільки персонал, що пройшов необхідний інструктаж з охорони праці.

Знезараження повітряного середовища здійснюється тільки у відсутності людей – в перерві між роботою або у спеціально відведений для цього час.

Лікарсько-профілактичні заходи передбачають проведення систематичних медичних оглядів працівників, які перебувають у зоні дії електромагнітного поля, обмеження в часі перебування людей в зоні підвищеної інтенсивності електромагнітних випромінювань [16].

**Для захисту від надмірного ультрафіолетового випромінювання** застосовують захисні екрани: хімічні (хімічні речовини, креми, що поглинають випромінювання) і фізичні (перешкоди, що поглинають або розсіюють промені). Очі слід захищати окулярами із захисним склом відповідно до ГОСТ 12.4.013–97. Повний захист від ультрафіолетового випромінювання усіх хвиль забезпечує флінтглас (скло, що вміщує оксид свинцю) товщиною 2 мм.

Зниження інтенсивності опромінення ультрафіолетовим випромінюванням досягається також спеціальним фарбуванням приміщень, раціональним розташуванням робочих місць. Пропонується подачу і відключення живлення бактерицидних ламп від електричної мережі здійснювати за допомогою окремих вимикачів, розташованих зовні приміщення біля входних дверей [24].

**Рівень шуму** не повинен перевищувати рівня, передбаченого ДСН 3.3.6.037–99. Для зниження рівня шуму стіни і стеля приміщень можуть бути фанеровані звукопоглинальними матеріалами. Зменшити шум від вентиляційної системи можна акустичною оптимізацією вентиляторів (наприклад, збільшенням зазорів, зменшенням діаметра й окружної швидкості), зменшенням витрат повітря. В якості заходів щодо зменшення рівня шуму пропонується також екранування робочого місця (установлення перегородки, діафрагм), використання обладнання, що породжує мінімальний шум, раціональне планування приміщення.

**Для захисту від шкідливої дії хімічних речовин** при роботі необхідно дотримуватися правил охорони праці. Крім того, ефективним захистом людини від шкідливих домішок та речовин у повітрі являється раціональна вентиляція.

У якості додаткового профілактичного заходу використовують засоби індивідуального захисту. Щоб уникнути або зменшити шкідливий вплив хімічних речовин на організм працівника, необхідно чітко дотримуватись наступних заходів з охорони праці:

1. Перед початком робіт проводити інструктаж на робочому місці з виконавцями робіт, а при виконанні робіт з підвищеною небезпекою, спочатку оформити відповідний наряд-допуск.

2. Проводити систематичний нагляд за роботою вентиляційних систем.

3. Роботи проводити тільки в спеціальному одязі та спеціальному взутті з обов'язковим використанням засобів індивідуального захисту.

4. Всі робочі місця забезпечувати необхідною кількістю води та нейтралізуючих речовин.

Спецодяг, спецвзуття та індивідуальні засоби захисту повинні повністю захищати людину від шкідливої дії токсичних речовин.

Основою проведення заходів щодо боротьби зі шкідливими хімічними речовинами є гігієнічне нормування. Гранично допустимі концентрації шкідливих речовин в повітрі робочої зони встановлені ГОСТ 12.1.005–88. Зниження рівня дії на працівника шкідливих та небезпечних речовин або його повне усунення досягається шляхом проведення технологічних, санітарно-технічних, лікувально-профілактичних заходів, наприклад, забезпеченням спецодягом, спецвзуттям і засобами індивідуального захисту (респіратори, захисні окуляри), окремого приміщення для зберігання та приготування поживних середовищ, реактивів, робочих розчинів, оснащенням робочих місць місцевою витяжною вентиляцією тощо. Коли технологічні, санітарно-технічні заходи не повністю виключають наявність шкідливих речовин в повітряному середовищі, відсутні методи і прилади для їх контролю, проводяться лікувально-профілактичні заходи: організація і проведення попередніх і періодичних медичних оглядів, дихальної гімнастики, лужних інгаляцій, забезпечення лікувально-профілактичним харчуванням і молоком.

Так як хімічні речовини при попаданні на тіло можуть викликати хімічні опіки, а проникнення в організм людини через легені, шкіру і рот – отруєння, глибоку токсикацію, то операції з концентрованими кислотами, лугами та іншими небезпечними речовинами слід проводити з використанням засобів індивідуального

захисту (кислотостійкі рукавиці, окуляри та фартух) у витяжній шафі при працюючій загальнообмінній вентиляції.

При нагріванні рідини у пробірці необхідно спрямовувати її у бік від себе й осіб, які знаходяться поруч. При збовтуванні розчину у колбах і пробірках треба закривати їх тільки пробками. При закупорюванні пробками посудин із реактивами враховують їх властивості. Гумові пробки сильно набухають під дією деяких реактивів (спирт, бензол, ацетон, ефір), а під дією галогенів (бром, йод) втрачають еластичність. Такі реактиви краще закупорювати скляними притертими пробками. Луг не можна закупорювати притертою пробкою, тому що карбонати, що утворюються між пробкою і горлом, щільно заклинюють пробку.

При переливанні рідин (крім тих, що містять біологічний матеріал) користуються лійкою. Відбір кислот, лугів та інших агресивних рідин з великих ємностей слід проводити за допомогою скляних сифонів з грушею або інших приладів для їх перекачування, забороняється набирати концентровані кислоти і луги в піпетки ротом. При приготуванні розчинів кислот спочатку в посудину наливають необхідну кількість води, а потім помалу додають кислоту. Забороняється додавати воду в кислоту. Розведення кислот проводять тільки в термостійкому посуді.

Бутлі з кислотами, лугами й іншими їдкими речовинами переносять удвох у спеціальних ящиках (кошиках) або перевозять на спеціальному візку, попередньо перевіривши цілісність тари. Зливають відпрацьовані ефір, бензол та інші горючі рідини, відходи кислот і луги тільки у спеціальну тару. При митті посуду хромовою сумішшю запобігають попаданню її на шкіру, одяг, взуття [24].

#### **4.2.1. Розрахунок місцевої витяжної вентиляції в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену**

Одним з основних заходів щодо зниження рівня впливу на працівника лабораторії шкідливих та небезпечних хімічних речовин та мікроорганізмів є

забезпечення робочих місць місцевою витяжною вентиляцією, що видаляє повітря від певних місць з найбільшою концентрацією шкідливих домішок в повітрі.

При розрахунку місцевої витяжної вентиляції кількість повітря, що вилучається місцевою витяжною (наприклад, витяжною шафою), можна порахувати за формулою:

$$L = F \cdot v \cdot 3600, (\text{м}^3/\text{год}),$$

де  $F$  – площа перерізу отвору місцевої витяжки,  $\text{м}^2$ ;

$v$  – швидкість руху вилученого повітря в цьому отворі (приймається від 0,5 до 1,7 м/с в залежності від токсичності та леткості газів і парів) [15].

Визначаємо площу перерізу отвору місцевої витяжки:

$$F = 3,14 \cdot (0,25)^2/4 = 0,05 (\text{м}^2)$$

Підставляємо отримані значення до формули:

$$L = 0,05 \cdot 0,75 \cdot 3600 = 135 (\text{м}^3/\text{год})$$

Отже, для забезпечення нормального вентиляювання та циркулювання повітря в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену необхідно мати потужність місцевої витяжної вентиляції 135  $\text{м}^3/\text{год}$ .

### **4.3. Забезпечення пожежної та вибухової безпеки в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену**

Причинами пожежі в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену можуть бути:

- необережне поводження з вогнем;
- незадовільний стан електротехнічних пристроїв та порушення правил їх монтажу та експлуатації;
- самозапалювання і самозаймання речовин і матеріалів при неправильному їхньому збереженні чи застосуванні;
- невиконання вимог нормативних документів з питань пожежної безпеки тощо.

Приміщення лабораторії повинно бути забезпечене автоматичною пожежною сигналізацією, вогнегасниками, які розташовують у доступних місцях. Бокс та приміщення, в яких розміщені сушильно-стерилізаційні шафи і термостати, забезпечують вогнегасником та азбестовою або вовняною ковдрою. Забороняється розміщувати на сушильно-стерилізаційних шафах і термостатах та біля них сторонні предмети, вибухонебезпечні, легкозаймісті, горючі, токсичні та агресивні речовини. Підходи до засобів пожежогасіння повинні бути вільними.

Для попередження виникнення пожежі в лабораторії контролю якості пробіотика Біфітену забороняється:

- використовувати відкритий вогонь, палити в лабораторії, окрім спеціально відведених місць, класти недопалки на підлогу і інші місця приміщень;
- залишати та зберігати папір, вату, марлю, спирт та інші легкозаймісті речовини та матеріали на шафах та поза ними, на радіаторах центрального опалення, поблизу палаючих пальників, електричних проводів і приладів;
- зберігати легкозаймісті, вибухові та вогненебезпечні речовини (бензин, ефір тощо) без дотримання правил безпеки;
- нагрівати легкозаймісті речовини на відкритому вогні, електроплитах тощо;

- залишати без нагляду включені електроприлади, електричне освітлення, запалені газові пальники;
- користуватися електроплитами, та іншими електронагрівальними приладами там, де не передбачено технологічними процесами;
- прибирати випадково пролиті легкозаймисті речовини при запалених пальниках і включених електроприладах;
- порушувати електропроводку, заставляти шафами, завішувати плакатами, картинами, газетами електропроводи, електровимикачі, розетки;
- захаращувати переходи, виходи, сходи і доступи до протипожежних засобів шафами, столами та іншими предметами;
- користуватися саморобними, несправними або з відкритою спіраллю електронагрівальними приладами;
- порушувати стан електропроводки, тобто: подовжувати проводку, вставляти саморобні запобіжники, обгортати і заклеювати електролампи та електропровід папером та тканиною, підвішувати на проводах будь-які предмети, закручувати або зав'язувати електропровід вузлом тощо [24].

В лабораторії контролю якості пробіотика біосприну повинні бути наявні інструкції з пожежної безпеки, з обслуговування установок пожежогасіння, з обслуговування установок пожежної сигналізації, оперативні картки дій на випадок виникнення пожежі, схема евакуації людей на випадок пожежі, встановлена система оповіщення людей про пожежу, плани та графіки проведення протипожежних тренувань, навчання і перевірки знань персоналу, технічного нагляду за системами пожежного захисту, порядок проведення планово-попереджувальних ремонтів та оглядів електроустановок, опалювального, вентиляційного, технологічного та іншого інженерного обладнання тощо.

Лабораторія повинна бути забезпечена первинними засобами пожежогасіння: вогнегасниками, пожежним інвентарем (пожежними щитами та стендами, пожежними відрами тощо), пожежним знаряддям (пожежними ломачами тощо) та засобами зв'язку.



На випадок пожежі або вибуху терміново викликається пожежна охорона, при необхідності здійснюється евакуація людей згідно з діючим планом евакуації. Одночасно з цим організовується відключення мереж електро- і газопостачання; зупинка систем вентиляції та кондиціонування повітря і здійснення інших заходів, які сприяють запобіганню поширенню пожежі; та гасіння пожежі своїми силами з допомогою наявних засобів пожежогасіння.

## РОЗДІЛ 5

### ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

#### **5.1. Виробничі фактори виробництва Біфітену, що впливають на навколишнє середовище**

Проблема профілактики негативного впливу біологічних чинників виробничого середовища на організм людини та навколишнє природньо середовище набуває все актуальнішого соціально-гігієнічного й медико-біологічного значення.

При отриманні Біфітену споживається велика кількість води та повітря, які забруднюються мікроорганізмом-продуцентом, органічними та мінеральними речовинами. Склад стічних вод та відпрацьованого повітря дуже складний.

У процесі виробництва Біфітену робітники підпадають під вплив таких виробничих чинників, як мікроклімат та біологічний фактор, до якого належить багатокомпонентний органічний пил, що включає умовно-патогенну мікрофлору [37].

Мікроорганізми зазвичай не вважаються патогенними для людини, проте інколи здатні викликати отруєння їжі токсинами. Їх спори здатні виживати при значному та тривалому нагріванні, тому не вмирають при звичайних методах приготування їжі. При проростанні спор при зберіганні продуктів, ці бактерії викликають утворення слизкого шару на поверхні продуктів, за що відповідають довгі полісахариди, які вони секретують. При неправильному поводженні в лабораторії з даними мікроорганізмами можливе виникнення отруєння працівників.

У повітрі ці бактерії знаходяться у вигляді спор завдяки їхньому пасивному та активному розсіюванню, причому їхня кількість залежить від багатьох факторів. Вивчення мікобіоти повітря має важливе санітарно-гігієнічне та фітопатологічне значення. Підвищена кількість бактерій у повітрі виробничих приміщень під час виробництва Біфітену негативно впливає на здоров'я персоналу. Потрапляючи в

легені при диханні, спори можуть осідати на слизових оболонках та уражувати їх внаслідок заселення та виділення токсичних речовин. Ступінь ураження та клінічні прояви захворювання залежать від кількості спор у повітрі, чутливості та імунного статусу організму [9].

За даними літератури, вплив на здоров'я працюючих здійснюють не лише спори/клітини бактерій, але й клітинні фрагменти, яким досі приділяють мало уваги. Доведено, що дрібні частинки (менше 2,5 мкм) чітко зумовлюють побічні ефекти на здоров'я людей. Встановлено, що значна кількість імунологічно активних часток мають розміри суттєво менші, ніж спори, що виділяються з поверхонь, забруднених грибами. Дуже маленькі частинки (0,3 мкм) кількісно перевищували кількість спор більш ніж у 320 разів. Проблема розпізнавання таких часток полягає в тому, що дрібні й дуже дрібні клітинні фрагменти неможливо виявити традиційними методами дослідження зразків біоаерозолів. Проте попередніми знахідками фрагментів міцелія (великі фрагменти, що виявляються при світловій мікроскопії) підтверджена така можливість.

Показано, що концентрація фрагментів бактерій у повітрі приміщень досягає рівня від 29 до 146 частинок у 1 м<sup>3</sup>, тобто до 6,3 % усіх елементів. Бельгійські вчені повідомили, що частинки бактерій часто відриваються від забруднених поверхонь і деякі з цих фрагментів залишаються життєздатними і можуть проростати [8].

Бактеріальні клітини можуть викликати захворювання алергенного характеру. У осіб з серйозними імунодефіцитними станами може бути пряма інфекція. Основним шляхом потрапляння бактерій та їх спор в організм є шлунково-кишковий тракт та органи дихання [1].

## 5.2. Методи очистки стічних вод при виробництві Біфітену

З метою уникнення забруднень навколишнього середовища необхідно очищати стічні води виробництва Біфітену.

### 1. Механічні методи усунення забруднень

Суть механічного методу полягає в тому, що із стічних вод видаляють механічні домішки (нерозчинні). Механічне очищення дозволяє видаляти з стічних вод до 60–75 % нерозчинних домішок. Цей метод очистки стічних вод є найбільш дешевим.

Спорудження для механічної очистки стічних вод: решітки (або УФС – установка фільтрувальна самоочищаюча) і сита; пісколовки; первинні відстійники; мембранні елементи [20].

Для затримання великих частинок органічного і неорганічного походження застосовують решітки і сита. Максимальна ширина складає 16 мм. Далі стоки проходять через пісколовки, де відбувається осадження дрібних частинок під дією сили тяжіння і жироловки, за допомогою якої відбувається видалення з поверхні води гідрофобних речовин шляхом флотації.

Для звільнення стічних вод від дуже маленьких частинок застосовують фільтрування шляхом пропускання через шар зернистого матеріалу. Досить поширеними є мембранні фільтри. Після такої очистки стічні води направляють на первинні відстійники для видалення зважених частинок, здебільшого органічного походження [2, 18]. Як показали дослідження, в осад випадає більше 80 % зважених речовин. Зниження БСК складає 20–30 %.

Так, кору видаляють зі стічних вод за допомогою барабанних і сітчастих фільтрів. Волокна фільтрують через сітчасті фільтри з подальшим відстоюванням в горизонтальних або вертикальних відстійниках [33, 35, 39].

Механічну очистку як самостійний метод застосовують тоді, коли освітлена вода після цього способу очистки може бути використана в технологічних процесах виробництва і спущена у водойми без порушення їх

екологічного стану. У всіх інших випадках механічна очистка слугує першим етапом очистки стічних вод [31, 33].

## 2. Фізико-хімічні методи усунення забруднень

Фізико-хімічна очистка полягає в тому, що в стічні води вводять речовину-реагент (коагулянт чи флокулянт). Вступаючи в хімічну реакцію з домішками, які знаходиться у воді, ця речовина сприяє повному видаленню нерозчинних домішок, колоїдів і частини розчинних з'єднань [2, 41]. При цьому зменшується концентрація шкідливих речовин в стічних водах, розчинні з'єднання переходять в нерозчинні чи розчинні, але не шкідливі, змінюється реакція стічних вод (відбувається їх нейтралізація) тощо. В залежності від необхідного ступеня очистки стічних вод фізико-хімічна очистка може бути завершальною чи другою стадією перед біологічною.

Найчастіше з фізико-хімічних методів застосовуються коагуляція, окислення, сорбція [28, 29], екстракція і т.д. [31, 37].

## 3. Біологічні методи усунення забруднень

Серед методів очищення стічних вод велику роль відіграє біологічний метод, заснований на використанні закономірностей біохімічного і фізіологічного самоочищення річок й інших водоймищ.

Біологічна очистка передбачає деградацію органічних речовин стічних вод мікроорганізмами (бактеріями і найпростішими) [2, 18]. На даному етапі відбувається мінералізація стічних вод, видалення органічного азоту і фосфору, головною метою є зниження БСК5. Можуть використовуватися як аеробні, так і анаеробні організми.

Очисні установки біологічної очистки можна розділити на два основних типи:

- установки, в яких очистка відбувається в умовах, близьких до природних;
- установки, в яких очистка відбувається в штучно створених умовах.

До першого типу відносяться установки, в яких відбувається фільтрування очищаючих стічних вод через ґрунт (поля зрошування і поля фільтрації) і установки, які представляють собою водойми (біологічні ставки) з проточною водою. В таких

установках дихання мікроорганізмів киснем відбувається за рахунок безпосереднього поглинання його з повітря. Кліматичні умови і велика площа, яка використовується обмежує розвиток природних методів очистки стічних вод.

В установках другого типу мікроорганізми дихають киснем за рахунок подачі його через поверхню води (реаерація) чи за рахунок механічної аерації. В таких умовах процес очистки відбувається більш інтенсивно, так як створюються кращі умови для розвитку активної життєдіяльності мікроорганізмів [37].

Важливим є те, що навіть 90–95 % технічна ефективність споруд біологічної очистки (біоставки, поля зрошування, поля фільтрації) не гарантує достатнього видалення зі стічних вод органічних речовин. Біологічно очищені стічні води мають високу кольоровість (до 400 °). Запах стічних вод зникає при розведенні в 200 разів. ХСК біологічно очищених вод досягає 280–350 мг О<sub>2</sub>/л. При відведенні таких стічних вод у поверхневі водойми вода в них має неприємний запах на відстані до 20 км нижче ділянки випуску. Він зникає лише при розведенні в 2–5 разів. У 3–4 рази зростає кольоровість води у водоймах, різко знижується концентрація розчиненого у воді кисню. У десятки разів зростає вміст завислих частинок [15, 36, 39].

З технічної точки зору розрізняють декілька варіантів штучної біологічної очистки. На даний момент основними є активний мул (аеротенки), біофільтри і метанотенки (анаеробне бродіння) [31].

У біофільтрах стічні води пропускаються через шар грубозернистого матеріалу, покритого тонкою бактерійною плівкою. Завдяки цій плівці інтенсивно протікають процеси біологічного окислення. Саме вона служить діючим початком в біофільтрах.

Аеротенки – величезні резервуари із залізобетону. Тут очисне начало – активний мул з бактерій і мікроскопічних організмів. Бактерії склеюються в пластівці і виділяють ферменти, що мінералізують органічні забруднення. Мул з пластівцями швидко осідає, відділяючись від очищеної води. Інфузорії, джгутикові, амеби, коловертки й інші найдрібніші тварини, пожираючи бактерії, що не злипаються в пластівці, омолоджують бактерійну масу мулу.

Особливістю анаеробних методів очистки є отримання в якості концентрованих кінцевих продуктів метану та  $\text{CO}_2$ . При використанні таких методів не потрібна аерація і утворюється незначна кількість надлишкового мулу. Особливістю аеробних методів очистки є забезпечення водних біоценозів киснем. Кисень використовується для окислення забруднювачів, які містяться у воді шляхом отримання мінеральних з'єднань і біомаси [32, 34].

При анаеробному розкладанні органічних речовин з утворенням метану лише 8 % енергії витрачається на приріст біомаси, 3 % складають теплові витрати і 89 % переходить в метан. Анаеробні мікроорганізми ростуть дуже повільно і потребують велику концентрацію субстрату.

Аеробний процес:  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 \rightarrow 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} + \text{мікробна біомаса} + \text{тепло}$ .

Анаеробний процес:  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow 3\text{CH}_4 + 3\text{CO}_2 + \text{мікробна біомаса} + \text{тепло}$ .

Очищення стоків з високою концентрацією забруднюючих речовин краще використовувати анаеробний метод очистки. Перевагою цього методу в порівнянні з аеробним є отримання енергетично цінного біопалива. Також, слід відзначити, що анаеробний процес здійснюється при невеликих потребах в електроенергії, не потребує додаткових поживних речовин в процесі ферментації, майже не вимагає технологічного обслуговування, відсутність запаху, оскільки реактор закритий.

Інтенсивність процесу очистки стічних вод в тій чи іншій установці визначається окислювальною потужністю установки, під якою розуміють число грамів кисню, який отримують з  $1 \text{ м}^3$  установки за добу і використовують для зниження біологічної потреби в кисні стічних вод, окислення амонійних солей до нітритів і нітратів, а також для підвищення вмісту в стічних водах розчинного кисню. Окислювальна потужність для різних установок коливається в широких межах [31].

#### 4. Дезінфекція стічних вод

Для остаточного знезараження стічних вод, які скидаються у природні водойми застосовують установки ультрафіолетового опромінювання. Для знезараження біологічно очищених стічних вод разом з ультрафіолетовим опроміненням застосовують також хімічну обробку – хлором або хлорним вапном

впродовж 30 хвилин. Хлорування застосовують також для видалення речовин, що мають неприємний запах [15, 36, 39]. Для дезинфекції використовують і фізико-хімічні прийоми (ультразвук, електроліз, озонування та ін.) [16, 31, 38].

### **5.3. Заходи щодо поліпшення впливу виробництва Біфітену на організм людини**

З метою уникнення негативного впливу бактерій на організм людини рекомендовано дотримуватись наступних заходів безпеки:

- До технологічних заходів відносяться такі як автоматизація та механізація процесів виробництва Біфітену, дистанційне керування процесом, герметизація резервуарів.

- Санітарно-технічні заходи: обладнання робочих місць місцевою витяжною вентиляцією або переносними місцевими відсмоктувачами.

- Лікувально-профілактичні заходи: організація і проведення попередніх та періодичних медичних оглядів, дихальної гімнастики, лужних інгаляцій, забезпечення лікувально-профілактичним харчуванням і молоком та ін.

- Особлива увага повинна приділятися застосуванню засобів індивідуального захисту, перш за все для захисту органів дихання (фільтруючі і ізолюючі протигази, респіратори, захисні окуляри, спеціальний одяг) [27].

### **Висновки до розділу 5**

1. У розділі встановлено, що в процесі виробництва Біфітену утворюється значна кількість забрудненої води та повітря, що містить в собі мікроорганізми, органічні та мінеральні речовини.

2. Досліджено, що забруднене повітря може викликати ряд захворювань, в тому числі і алергічні реакції, для запобігання яких необхідно використовувати ряд технічних та індивідуальних захистів.



3. Показано, що в наш час з перемінним успіхом застосовуються різні методи очищення забруднених стічних вод:

- самоочищення – пасивний метод, що не забезпечує швидкого та ефективного вирішення проблеми, адже воно відбувається протягом дуже довгого часу під дією природніх фізичних і хімічних перетворень без участі людей та механізмів;

- механічні методи – передбачають ліквідацію забруднень за допомогою всіляких конструкцій та пристроїв. Цей метод потребує менш тривалого часу на очищення, але необхідні кошти на придбання та оснащення механізмів та не завжди забезпечує ефективно і повне очищення;

- фізико-хімічні методи – очистка полягає в тому, що в стічні води вводять речовину-реагент (коагулянт чи флокулянт). Вступаючи в хімічну реакцію з домішками, які знаходяться у воді, ця речовина сприяє повному видаленню нерозчинних домішок, колоїдів і частини розчинних з'єднань;

- біологічні методи – полягає в використанні біологічних культур. Розрізняють анаеробний і аеробний метод біологічної очистки. Для очищення стічних вод краще використовувати анаеробний метод. Перевагами цього методу є біологічне, екологічно чисте розкладання забруднювачів, не довгий час ліквідації забруднення, не великі економічні затрати, не відбувається перенавантаження навколишнього середовища забруднюючими речовинами, а головне – можливість одержання енергетично цінного біопалива.

4. Рекомендовано з метою профілактики негативного впливу бактерій на організм людини дотримуватись технічних, санітарно-технічних, лікувальних заходів та заходів індивідуального захисту працівників.

## ВИСНОВКИ

1. Відомо, що пробіотики – це непатогенні для людини мікроорганізми, які здатні відновити нормальну мікрофлору органів, а також згубно діють на патогенні та умовно-патогенні бактерії.

2. Показано, що пробіотики поділяються на 5 поколінь. Пробіотики V – покоління – це більш досконалі і складні полікомпонентні продукти, отримані із застосуванням нових технологій і містять кілька видів бактерій і речовини, що сприяють їх росту.

3. Удосконалено технологічну схему отримання Біфітену, що дозволяє скоротити час накопичення біомаси та збільшити у 3 рази її кількість. Досліджено, що для отримання Біфітену краще використовувати штам *Bifidobacterium bifidum*, так як він має такі властивості: пригнічує поширені умовно-патогенні та патогенні мікроби, має високий рівень адгезії до слизової оболонки кишківника, достатню для виробництва швидкість накопичення біомаси та має високі показники кислотності. Встановлено, що для накопичення біомаси *Bifidobacterium bifidum* доцільно використовувати агаризоване дріждже-молочно-сольове середовище, що володіє високими ростовими якостями.

## СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ

1. Анохина Г. А. Современные аспекты микрoэкологического дисбаланса. Профилактика и лечение / Г. А. Анохина, С. В. Скопиченко // Журнал практичного лікаря. – 2001, № 4. – С. 20-24.
2. Аркадьєва З. А. Промышленная микробиология / З. А. Аркадьєва, А. М. Безбородов. – К. : Высшая школа, 1989. – 688 с.
3. Беккер М. Е. Введение в биотехнологию; [Пер. с латыни]. – Рига: Пищевая промышленность, 1978. – 231с.
4. Белоусова Е. А. Синдром диареи в практике гастроэнтеролога: патофизиология и дифференцированный подход к лечению / Е. А. Белоусова, А. Р. Златкина // Фарматека. – 2003. – № 10. – С. 65–71.
5. Беюп Е. А. Дисбактериозы кишечника и их клиническое значение / Е. А. Беюп, И. Б. Куваева // Клин. мед. – 1986. – С. 37-44.
6. Бережний В. В. Діагностика, сучасна фармакотерапія та профілактика кишкового дисбактеріозу у дітей: Метод. рекомендації / В. В.Бережний, Н. К. Уніч, І. Б. Орлюк. – К., 2000. – 36 с.
7. Бережной В. В. Микрoэкологические нарушения у детей и современные возможности повышения эффективности их коррекции / В. В. Бережной, С. А. Крамарев, В. Ю. Мартынюк. Э. Э. Шунько // Здоровье женщины. – 2002, № 4 (12). – С. 79-91.
8. Биологическая роль бактерий [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://mikro.bio.ua/mikro-text12.html>.
9. Бондаренко В. М. Микрoэкологические изменения кишечника и их коррекция с помощью лечебно-профилактических препаратов / В. М. Бондаренко, Н. М. Грачева, Т. В. Мацулевич, А. А. Воробьев // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии. – 2003. – Приложение № 20. – С. 66-76.

10. Борщ С. К. Диференційоване використання пробіотиків для антагоністичного впливу на грампозитивні бактерії у лікуванні кишкових інфекцій і синдрому дисбактеріозу кишечника / С. К. Борщ // Ліки України. – 2008. – № 6. – С. 69–74.
11. Воробьева Л. И. Промышленная микробиология / Л. И. Воробьева. – М. : Изд-во МГУ, 1989. – 294 с.
12. Грачева Н. М. Эффективность лечения острых кишечных инфекций, хронических болезней желудочно-кишечного тракта и вирусного гепатита В большими дозами отечественного бифидумбактерина форте / Н. М. Грачева, И. Т. Щербаков, А. А. Аваков, Т. М. Мацулевич // Военно-медицинский журнал. – 1999. – № 5. – С. 51-57.
13. Грачева Н. М. Пробиотики в комплексном лечении больных с заболеваниями ЖКТ с сопутствующим дисбактериозом кишечника / Н. М. Грачева, О. С. Партин, А. А. Аваков, А. Ф. Гаврилов, А. И. Соловьева // Лечащий врач. – 2008. – № 9.
14. Гусев М. В. Микробиология : учебник [для студ. биол. специальностей вузов] / М. В. Гусев, Л. А. Минеева. – [4-е изд., стер.]. – М. : Издательский центр «Академия», 2003. – 464 с.
15. Жидецький В. Ц. Основи охорони праці : [підруч. для студ. вищ. навч. закл.] / В. Ц. Жидецький. – Л.: Українська академія друкарства, 2006. – 336 с.
16. Захаров Л. Н. Техника безопасности в химических лабораториях / Л. Н. Захаров. – Л. : Химия, 1991. – 336 с.
17. Запруднов А. М. Микробная флора кишечника и пробиотики / А. М. Запруднов, Л. Н. Мазанкова // Методическое пособие. – К., 2001. – С. 32.
18. Каримов М. М. Пробиотики как компонент эрадикационной терапии язвенной болезни / М. М. Каримов, А. А. Якубов, З. З. Саатов // Гастросессия, 24–25 ноября 2011 года. – Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2011. – № 4. – С. 13.
19. Коршунов В. М. Проблема регуляции микрофлоры кишечника / В. М. Коршунов // Журн. микробиол. – 1995. – № 3. – С. 56.
20. Лазебник Л. Б. Использование пробиотиков при эрадикации *HELICOBACTER PYLORI* / Л. Б. Лазебник, М. Н. Рустамов // XII съезд Науч.

общества гастроэнтерологов России «Классическая и прикладная гастроэнтерология». – тезисы докладов, 1-2 марта 2012 г. – К. – С. 18-19.

21. МВК 10.10.2.2-119-2005. Методичні вказівки з методів контролю. Визначення кількості біфідобактерій у кисломолочних продуктах. – Київ, 2005. – 20 с.

22. Мельникова И. Ю. Клинические исследования терапевтической и профилактической эффективности пробиотика Витафлор производства ГосНИИ особо чистых биопрепаратов Минздрава РФ. Отчет // ГОУ ДПО МАПО. Санкт-Петербург, 2004 г. – С. 37.

23. Можина Т. Л. Роль и место пробиотических препаратов в современной медицине (по материалам руководства Probiotics and prebiotics, 2008) / Т. Л. Можина // Суч. гастроентерол. – 2009. – № 1. – С. 5–13.

24. Основи охорони праці / [Ткачук К. Н., Халімовський М. О., Запарний В. В. та ін.]; під ред. Ткачука К.Н. та Халімовського М.О. – [2-ге вид., допов. та перероб.] – К.: Основа, 2006. – 448 с.

25. Пат. 38748 Україна. Тверде поживне середовище "ПСБ" для культивування біфідобактерій / П. А. Руденко, А. А. Руденко, С. С. Бордюгова, О. В. Комаров. – Заявл. 10.04.2008; Опубл. 12.01.2009. – Бюл. № 1. – 2 с.

26. Пат. 83027 Україна. Штам *Bifidobacterium bifidum*, композиція, що містить галактоолігосахариди, її застосування та спосіб виробництва речовини для стимулювання росту біфідобактерій / У. Е. Грехем, Г. Гленн, С. Я. Вітольд, Ц. Георгіос. – Заявл. 16.03.2004; Опубл. 10.06.2008. – Бюл. № 11. – 11 с.

27. Пирог Т. П. Загальна мікробіологія : Підручник / Т. П. Пирог – Київ : НУХТ, 2004. – 471с.

28. Пономарев С. В. Новая тактика в лечении больных с острыми кишечными инфекциями / С. В. Пономарев, Е. Н. Кубенский // Поликлиника. – 2003. – № 3. – С. 33-35.

29. Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю: ДСП 9.9.5.–080–2002. – Офіц. вид. – К. : ГРІФРЕ: М-во охорони здоров'я України, 2002. – 33 с.

30. Прищеп Т. П. Основи фармацевтичної біотехнології / Т. П. Прищеп, В. С. Чучалін, К. Л. Зайков. – Ростов-на-Дону, 2006. – 256 с.
31. Промышленная биотехнология : Учеб. пособие для вузов по спец. «Микробиология» и «Биология» / З. А. Аркадьева, А. М. Безбородов, И. Н. Блохина и др.; Под ред. Н. С. Егорова. – К. : Высш. шк., 1989. – 688с.
32. Рогов И. А. Биотехнология / И. А. Рогов, В. И. Ганина, М. М. Данилова. – 2003. – № 4. – С. 45-51.
33. Сидорук К. В. Универсальный метод выделения высокомолекулярной ДНК из микроорганизмов, основанный на предварительной обработке биомассы раствором ацетата аммония / К. В. Сидорук, Е. И. Левитин, О. В. Пикасова // Актуальные вопросы генетики, радиобиологии и радиэкологии: Вторые чтения, посвящённые памяти В.И. Корогодина и В.А. Шевченко (Дубна - Москва, 12-13 января 2009 г.): Материалы, тезисы докладов. – Дубна: ОИЯИ, 2008. – С. 100.
34. Смирнов В. В. Антибиотики и/или пробиотики: размышления и факты / В. В. Смирнов // Лікування та діагностика. – 2001. – № 3. – С. 8–16.
35. Смирнов В. В. Дискуссионные вопросы создания и применения бактериальных препаратов для коррекции микрофлоры теплокровных / В. В. Смирнов, С. Р. Резник, И. Б. Сорокулова, В. А. Вьюницкая // Микробиол. журн. – 1992. – Т 54, №6. – С. 82–94.
36. Тропко Л. В. Сравнение бактериологической эффективности различных пробиотиков в комплексном лечении больных неспецифическим язвенным колитом / Л. В. Тропко. // Вісник Дніпропетровського університету. – Серія Біологія. Екологія. – Вип. 7. – 2000. – С. 270–273.
37. Хавинсон В. Х. Свободнорадикальное окисление и старение / В. Х. Хавинсон, В. А. Баринов, А. В. Арутюнян, В. В.Малинин – СПб., 2003. – 327 с.
38. Феклисова Л. В. Пробиотики в лечении детей с хронической гастроэнтерологической патологией / Л. В. Феклисова, С. В. Полевой, А. Ю. Ушакова // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2002. – № 4. – С. 42-45.
39. Шендеров Б. А. / В кн. : Медицинская и микробная экология и функциональное питание. – К.: Грант, 2001. – Т. 3. – С. 42-74.

40. Ghisolfi J. Dietary fibre and prebiotics in infant formulas. – Proc Nutr Soc. 2003; 62(1) : 183 – 5.

41. Pikasova O. V. Methods of Molecular Identification as Important Tools for Control and Certification in Microbiology / O. V. Pikasova, M. A. Kornienko, Yu. D. Tsygankov, A. I. Netrusov // Electronic Journal of Natural Sciences, Jan 2009. – Vol. 2009. – Issue 1. – P. 35-49.

## Додаток А

Традиційна принципово-технологічна схема отримання Біфітену





## Додаток Б

### Удосконалена технологічна схема отримання Біфітену

