

کاربرد سیستم فرمانتورهای ساخت ایران برای تولید واکسنهای باکتریایی در مؤسسه تحقیقاتی رازی

از: دکتر محمود اردهالی

عضو هیئت علمی مؤسسه رازی

فرمانتور یا راکتور مادر در بیوتکنولوژی

فرمانتور (Fermenter) عبارتست از دستگاهی که در آن محیط کشت غذایی توسط باکتری یا ویروس خاصی پس از مراحل تخمیر به محصول تبدیل میگردد. فرمانتور در اندازه‌های کوچک آزمایشگاهی تا حجم‌های

بیوتکنولوژی یا صنایع زیستی عبارتست از مجموعه فنونی که با یاری گرفتن از جانداران تک سلولی بویژه باکتریها و ویروس‌ها محصولات متنوع مورد نیاز علوم پزشکی و کشاورزی را تولید می‌نماید.

از بنیادی‌ترین علوم مورد نیاز بیوتکنولوژی میتوان میکروبیولوژی، بیوشیمی، مهندسی شیمی، مهندسی الکترونیک و مهندسی ژنتیک را نام برد. بهمین دلیل اغلب شرکت‌ها و مؤسسات علمی و پژوهشی و تولیدی در دنیا با استفاده از کارشناسان فوق‌الذکر برای تهیه و تولید محصولات پزشکی و کشاورزی از طیف وسیع بیوتکنولوژی استفاده می‌نمایند. مؤسسه تحقیقاتی سرم و واکسن سازی رازی با همکاری سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران برای اولین بار در ایران در ساخت فرمانتورهای تهیه و تولید واکسنهای دامی پیشگام بوده و در حال حاضر پروژه‌های وسیعی را برای ساخت فرمانتورهای تهیه و تولید واکسن در مؤسسه رازی حصارک و بخش رازی مشهد در دست اقدام دارد و امید است با پرورش استعدادهاى هیئت علمی خود در رشته‌های باکتریولوژی، ویروولوژی، بیوشیمی و مهندسی ژنتیک بتواند گامهای بلندی در پیشبرد بیوتکنولوژی در ایران بردارد.

تحقیقاتی رازی در سال ۱۳۶۸ باتمام رسید و در آبانماه ۱۳۶۸ این سیستم توسط جناب آقای دکتر حبیبی معاون اول ریاست جمهوری اسلامی افتتاح و مورد بهره‌برداری قرار گرفت.

شایسته است که مختصری در مورد جزئیات این سیستم اتوماتیک توضیح داده شود:

۱- فرمانتور (Fermenter): شامل ۳ دستگاه تانک است. دو دستگاه بظرفیت ۱۲۰۰ لیتر که حجم مفید کاری آن حدود یکهزار لیتر میباشد، و یکدستگاه تانک تحقیقاتی بظرفیت یکصد و پنجاه لیتر است. جنس این تانک از ورق استیل ضد زنگ ۳۱۶ بوده و دو جداره میباشد که جریان آب در جدار تانک موجب گرم و سرد شدن محتویات داخل آن می‌گردد.

۲- پروانه (Stirrer): که یکی از اجزاء مهم فرمانتور برای به حداکثر رساندن فعالیت باکتری میباشد و نقش همگن نمودن محیط کشت واکسن را دارد. چرخش هم‌زن یا پروانه بوسیله یکدستگاه موتور الکتریکی انجام میشود که در بالای پروانه قرارگرفته و حرکت پروانه در داخل فرمانتور بوسیله سرعت‌سنج قابل کنترل میباشد.

۳- دستگاه کنترل دمای فرمانتور: برای کنترل شرایط داخلی فرمانتور دماسنجی در بدنه فرمانتور نصب گردیده است که با نشان دادن درجه حرارت، دمای محیط کشت را بطور اتوماتیک کنترل می‌نماید. بدین ترتیب در اثر کاهش دمای محیط کشت، بخار بداخل فرمانتور تزریق و در صورت افزایش گرما با عبور آب سرد در داخل ژاکت، حرارت محیط کشت ۳۷ درجه سانتیگراد ثابت میگردد. تمام مراحل ذکر شده بطور اتوماتیک انجام می‌شود.

۴- دستگاه ضد کف (antifoam): باکتریها در هنگام رشد، تولید مقداری گازهای مختلف در محیط کشت می‌نمایند که حد زیاد آن موجب اختلال در کار دستگاه گردیده و در صورتیکه مقدار کف بیش از حد حجم دستگاه گردد از اطراف نفوذ نموده و موجب آلودگی محیط میگردد. در این فرمانتورها سوند مخصوص کف‌سنج در داخل فرمانتور تعبیه گردیده که در صورت بالا آمدن کف از اندازه‌های طبیعی، سطح کف با سوند تماس حاصل نموده و بطور اتوماتیک ضد کف (Silicon) وارد محیط کشت گردیده که مقدار کف را کاهش میدهد.

۵- دستگاه سنجش PH: (PH Control): باکتریهای بیهواری در هنگام رشد مقداری اسیدهای

بزرگ صنعتی برای تولید انبوه محصول (mass pro-duction) ساخته میشود. جنس فرمانتور می‌تواند از شیشه (در انواع کوچک آزمایشگاهی) تا ورقهای ضد زنگ استیل که گاهی در فرمانتورهای بزرگ صنعتی تا صد هزار لیتر بالغ میگردد، متغیر باشد.

از سال ۱۹۴۵ میلادی مقالاتی در مجلات علمی دنیا منتشر گردید که به شرح ساختمان و نحوه عمل فرمانتور پرداخته ولی با گذشت زمان ساختمان و کارائی فرمانتورها تغییرات بسیار زیادی نموده بطوریکه در حال حاضر فرمانتورهای کامپیوتری ساخته میگردد که در صنایع دارویی و تهیه و تولید واکسنهای مختلف بکار رفته و نقش مهمی در اقتصاد بازی می‌کنند. بطور کلی هردستگاه فرمانتور از دو قسمت تشکیل یافته:

۱- تانک یا Vessel و ضمامم مربوطه از قبیل پروانه (Stirrer یا Mixer)، سوندهای کنترل حرارت، PH و antifoam، اکسیژن محلول که در داخل فرمانتور و یا بدنه فرمانتورهای بزرگ نصب میگردد. هرفمانتور دارای مخازن بزرگ و یا کوچک برای ذخیره سود، اسید و ضد کف میباشد که در اطراف فرمانتور تعبیه گردیده است.

۲- جعبه کنترل (Panel Controle) که در حقیقت مغز فرماندهی فرمانتور میباشد که فرامین مختلف تنظیم شده را بوسیله دستگاههایی که در آن تعبیه گردیده بطور اتوماتیک به فرمانتور منتقل می‌نماید. این دستگاهها شامل تنظیم PH، تنظیم کف، تنظیم دما و تنظیم اکسیژن میباشد. بعضی از فرمانتورها دارای تابلوی سینوپتیک (Synoptic) میباشد که تمام فعالیت‌های انجام شده در فرمانتور بوسیله لامپ‌های کوچک الوان در روی صفحه سفید بطور اتوماتیک نشان داده میشود و مسیر عملیات فرمانتور را مشخص می‌نماید.

ساخت فرمانتور در ایران

بعد از پیروزی انقلاب اسلامی و تأسیس سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران، مؤسسه تحقیقاتی رازی برای ساخت فرمانتورهای تهیه و تولید واکسنهای مورد نیاز خود قراردادی را با این سازمان منعقد نمود که با کوشش‌های فراوان، پروژه ساخت سیستم فرمانتورهای تولید واکسن توسط پژوهشگران سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران و همکاری مؤسسه

پروپینیک، استیک و بوتیریک ترشح نموده که موجب سقوط PH محیط کشت میگردند و در نتیجه رشد باکتری را متوقف نموده و مقداری از مواد غذایی محیط کشت بلااستفاده میگردد. در ساخت این فرماتورها دستگاههایی تعبیه شده که PH محیط کشت را بطور اتوماتیک تنظیم می نماید. هنگامیکه PH محیط کشت در فاز اسیدی قرار گیرد با استفاده از سوند PH (ساخت اینگولد سوتیس) که در بدنه فرماتور تعبیه شده سود بوسیله شیر اتوماتیک از مخزن مربوطه (مخزن پنجاه لیتری) وارد فرماتور گردیده و با رسیدن PH به حد مطلوب عمل متوقف میگردد و بدین ترتیب PH محیط کشت با حساسیت زیاد کنترل میگردد.

ضمانت فرماتور: تجهیزات مشروحه زیر برای کار فرماتورها ساخته شده است.

- ۱- مخزن سود از جنس استیل (پنجاه لیتری).
- ۲- مخزن کف از جنس استیل (پنجاه لیتری).
- ۳- تانکهای تعبیه آب گرم و سرد کردن فرماتور.
- ۴- گاز اسکوبر شونده و خارج کننده گازهای بدبو ناشی از کشت باکتری در فرماتور.
- ۵- تانکهای چرخدار یکجداره و قابل استریل مجهز به بهم زن در حجم ۲۵۰ لیتری.
- ۶- تانک استیل برای تقسیم واکسن قابل اتوکلاو و دارای همزن در حجم پانصد لیتر.
- ۷- تانک استیل یک جداره دارای همزن برای تهیه محیط کشت، که بوسیله هوای فشرده محیط کشت را در داخل فرماتورها هدایت می نماید. حجم این تانک حدود چهارصد لیتر میباشد.
- ۸- سه جعبه کنترل (Panel controle): که در حقیقت مغز فرماندهی فرماتور میباشد. دستگاههای تعبیه شده در آن الکترونیکی بوده و شامل دستگاههای زیر میباشد:

- الف- تنظیم درجه حرارت برای استریل نمودن محیط کشت با دستگاه حرارت سنج.
- ب- درجه حرارت برای کشت باکتری با دستگاه حرارت سنج.
- ج- تنظیم PH محیط کشت واکسن با دستگاه PH متر.

د- تنظیم کف محیط کشت با دستگاه کف سنج.
ه- ثبت یا Recorder - که منحنی درجه حرارت محیط کشت و هم چنین PH محیط کشت را ضبط می نماید.

و- کنترل اکسیژن محلول مورد نیاز کشت باکتری. شایان ذکر است که شرح مطالب فوق بزبان ساده نتایج زحمات بیش از هشت سال پژوهشگران علوم باکتریولوژی، میکروبیولوژی صنعتی، بیوشیمی، مهندسی شیمی، کامپیوتر و الکترونیک سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران و محققین مؤسسه تحقیقاتی سرم و واکسن سازی رازی، و مهندسیین متخصص شرکت دیسال بوده که در طراحی و ساخت دستگاههای فوق الذکر کوششهای فراوان شبانه روزی نمودند و دانش تکنولوژی ساخت فرماتور را در ایران بدست آوردند.

در اینجا باید این گفته پروفیسور عبدالسلام دارنده جایزه نوبل را بخاطر آورد «بیوتکنولوژی، صنعت فراگیر

آینده کره ما خواهد بود و دور ماندن از این غافله یعنی دور ماندن از تمام توانمندیهای که وجود چنین صنعتی میتواند منشاء آنها باشد».

تهیه و تولید واکسن های باکتریائی بیهواری :

درخواست واکسنهای مختلف برضد بیماریهای ناشی از باکتریهای بیهواری در دامها هر ساله رو با افزایش است بطوریکه در سال جاری (۱۳۷۰) به حدود ۸۰- ۷۵ میلیون دز رسیده است. با عنایت باینکه دز تزریقی این واکسنها مخصوصاً واکسن چندتائی آنتروتوکسمی سه سانتیمتر مکعب میباشد بنابراین حجم فوق العاده سنگینی میباشد. تهیه و تولید چنین حجم سنگین واکسن که مورد درخواست سازمان دامپزشکی کشور وابسته به وزارت جهاد سازندگی میباشد مسئله ساده ای نبوده و نیاز به تکنولوژی مدرن که بیو راکتور میباشد دارد.

واکسنهای ضد بیماریهای ناشی از باکتریهای بیهواری بشرح زیر میباشد:

- ۱- واکسن ضد اسهال عفونی بره های نوزاد
 - ۲- واکسن ضد آنتروتوکسمی گوسفند های جوان
 - ۳- واکسن ضد آنتروتوکسمی بره و گوسفند های بالغ
 - ۴- واکسن ضد قانقرایای عفونی کبد گوسفند
 - ۵- واکسن ضد براکسی گوسفند
 - ۶- واکسن ضد شاربن علامتی گاو و گوساله
- برای تهیه و تولید واکسنهای فوق الذکر سه عامل مهم بشرح زیر مورد نظر میباشد:

۱- سوش تهیه واکسن: تهیه سوشهای باکتریائی زهرا به ز و غیره کار آسانی نیست و دست یابی باین سوشها برای تهیه و تولید واکسن مورد نظر به ۳ صورت مطرح است:

- الف: بعضی از سوشهای باکتریائی یا ویروسی برای تهیه و تولید واکسن بوسیله مراجع بین المللی مانند WHO در اختیار مؤسسات تهیه و تولید واکسن قرار میگیرد که تعداد آنها انگشت شمار است.
- ب: اغلب سوشهای تهیه واکسن میبایستی بوسیله مؤسسه تولیدکننده واکسن در طول سالهای متمادی از بین عوامل بیماری زا جدا شده انتخاب گردد.
- ج: بعضی از مؤسسات خارجی سوشهای مخصوص برای تهیه و تولید واکسن را در مقابل دریافت پول در اختیار میگذارند.

سوشهای باکتریائی که برای تولید واکسن بکار میروند میبایستی دارای خاصیت زهرا به زائی قوی و غنی بوده که قدرت ایمنی زائی واکسن را بالا ببرند.

۲- محیط کشت واکسن: با توجه باینکه در تهیه و تولید واکسنهای تجارتهی رقابت در بین مؤسسات تولیدی میباشد معمولاً فرمولهای تهیه واکسنهای خود را منتشر و یا در اختیار سایر مؤسسات قرار نمیدهند و برای هر مؤسسه تولید واکسن ضروری است که با پژوهش و تحقیقات، محیط کشت مناسب برای تهیه و تولید واکسن ها را خود تهیه نماید و یا از طریق رابطه و همکاری از سایر مؤسسات بدست آورده و یا دانش فنی آنها را خریداری نماید.

۳- شرایط کشت: یکی از مسائل مهم برای تهیه و تولید واکسنهای باکتریائی در حجم زیاد (Mass)

(production) که توانمندیهای کشور را برآورده نماید شرایط کشت واکسنها میباشد. تهیه واکسن به مقدار کم در شیشه بروش کلاسیک امکان پذیر بوده ولی در صورتیکه حجم واکسنهای درخواستی بمقدار زیاد افزایش یابد، استفاده از این روش عملی نبوده و با مشکلات عدیده زیر برخورد می نماید:

- ۱- استریل نمودن محیطهای کشت واکسن در شیشه های متعدد مشکل بوده و حالت یکنواختی (Uniformity) حاصل نمیگردد.
 - ۲- حمل و نقل تعداد زیادی شیشه های محتوی محیط کشت از اتوکلاو به گرمخانه مشکل و احتمال شکستگی و ایجاد خطر برای کارکنان متصور است.
 - ۳- دقت در تهیه و تولید واکسن برای هر شیشه واکسن مشکل گردیده و مثلاً کنترل PH و یا کنترل کف و حرکت محیط کشت (Agitation) و بالاخره نمونه برداری از هر شیشه برای کنترل، کار فوق العاده مشکلی است.
 - ۴- هزینه زیاد برای استخدام تعداد زیادی کارمند بمنظور حمل و نقل شیشه های واکسن و غیره.
- با عنایت بموارد فوق الذکر بهترین روش برای تهیه و تولید واکسن، استفاده از فرماتور یا راکتور مادر در بیوتکنولوژی میباشد. از سال ۱۹۶۰ تاکنون، مؤسسات خارجی سازنده واکسنهای انسانی و دامی مختلف از روش فرماتور استفاده نموده بطوریکه فرماتورهای پیشرفته امروزی که بوسیله کامپیوتر، محیطهای کشت باکتری و ویروس کنترل و تنظیم میشود، جایگزین فرماتورهای اولیه شده اند.

تهیه و تولید واکسن در فرماتورهای ساخت ایران

در حال حاضر بخش تحقیق و تهیه واکسنهای بیهواری مؤسسه تحقیقاتی رازی واکسنهای مشروحه زیر را در فرماتورهای ساخت ایران تهیه و تولید می نماید:

- ۱- واکسن ضد آنتروتوکسمی گوسفند و بز Clostridium Perfringens Type D
- ۲- واکسن ضد آنتروتوکسمی گوسفند های جوان (استرک) Clostridium Perfringens Tyep C
- ۳- واکسن ضد اسهال عفونی بره های نوزاد Clostridium Perfringens Tyep B

روش تولید واکسن:

- ۱- سترون نمودن محیط کشت: ابتدا مواد مورد نیاز برای تهیه واکسن را که مشتمل بر پودر پپتون تجارتهی، نمک و تامپون میباشد به تانک تهیه محیط که حاوی سیصد و پنجاه لیتر آب مقطر میباشد افزوده و پس از حل نمودن مواد در آب مقطر گرم به فرماتور منتقل و سپس حجم محیط کشت با افزودن آب مقطر به ۸۰۰ لیتر میرسد. برای سترون نمودن محیط کشت، بخار بطور اتوماتیک به داخل ژاکت و همچنین بدون محیط کشت داخل فرماتور تزریق گردیده و درجه حرارت محیط کشت به ۱۱۵ درجه سانتیگراد میرسد و بمدت ده دقیقه در این حرارت قرار گرفته و سپس محیط کشت با عبور آب سرد در داخل ژاکت فرماتور خنک گردیده