

УДК 612.017.1.28:704.4.85.

### НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМОЛЬНОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ СТОЛБНЯЧНОГО ТОКСИНА (обзор литературы)

**Кашпур Н.В., Волянська Н.П., Чернявский В.И.,  
Волянский А.Ю., Мартынов А.В.,  
Институт микробиологии и иммунологии им. И.И.  
Мечникова, АМН Украины**

Столбняк достаточно широко распространен во многих странах мира, является нерешенной проблемой современного здравоохранения, биологии и медицины. Неослабевающее внимание к нему объясняется многими причинами, среди которых главная - очень высокая летальность [1].

Патогенез заболевания изучен недостаточно. Не существует лечебных средств, способных нейтрализовать фиксированный тетанотоксин, восстановить нарушения, связанные с его влиянием на активность нервной системы, что в свою очередь обуславливает во многом симптоматический характер существующих методов лечения этой инфекции. Для профилактики и лечения столбняка используют противостолбнячную сыворотку и донорский противостолбнячный иммуноглобулин. Несмотря на прогресс, достигнутый за последние годы в трудном деле лечения столбняка, летальность достигает 40% даже в лучших, специализированных учреждениях мира, накопивших большой опыт в этой области [1,2].

В развивающихся странах эта болезнь остается одной из 10 основных причин смертности населения. Учитывая невозможность элиминации столбнячной палочки из окружающей среды, вакцинация является единственным эффективным способом предупреждения столбняка. В бывшем СССР массовая иммунизация против столбняка среди детей началась в 50-е годы, а с 1961г. производится плановая вакцинация взрослого населения. Ученые всего мира продолжают работать над актуальными вопросами, связанными с глубоким изучением эпидемиологии столбняка, а также дальнейшим совершенствованием средств и мер специфической профилактики [3].

Теоретические и практические аспекты, касающиеся разработки, изготовления и применения анатоксинов, нашли отражение во множестве монографий [4, 5, 6, 7,], однако в большинстве из них изложены общеиммунологические вопросы или частные проблемы, связанные с отдельными токсикоинфекциями. Наиболее полно учение об анатоксинах изложено в монографии Г. Рамона [8], где приведены данные, касающиеся открытия и применения реакции флоккуляции, методов получения высокоактивных токсинов и анатоксинов (дифтерийного, столбнячного).

Современные знания об анатоксинах существенно расширились, появились новые взгляды на природу и свойства токсинов, изменились способы изготовления вакцин. Последнее связано с тем, что современные технологии получения анатоксинов и, в частности, столбнячного, в значительной степени

зависят от целого ряда условий, необходимость соблюдения которых является основой для изготовления безвредных, антигенных и иммуногенных препаратов. Это, в свою очередь, требует знания биологии возбудителя, свойств его токсина, механизмов анатоксинообразования, методов контроля и, наконец, технологического обеспечения.

Основная задача ученых – это повышение совершенности производимых вакцин. С этой целью усовершенствованию подвергается каждый этап промышленного получения, очистки и обезвреживания токсина, а также анализируются токсигенные свойства различных серологических типов столбнячной палочки [8, 9].

Методы приготовления питательных сред для получения столбнячного токсина очень важны для производства, что послужило основанием для многочисленных исследований. Учеными изучалось влияние рН среды на токсинообразование столбнячной палочки, исследовались различные рецепты среды Глузмана, среды Рамона, синтетических сред [8, 10, 11].

Известно, что токсинообразующие микроорганизмы и, в частности, *Clostridium tetani*, растут на питательных средах самого разнообразного состава. Многочисленные рецепты сред широко представлены в специальной литературе. Мы не ставили перед собой задачи дать их полный перечень, а хотели обратить внимание на то, что культивирование продуцентов токсина должно быть основано на использовании ограниченного числа питательных сред, обеспечивающих высокий выход токсина в короткие сроки с дешевым и максимально стандартным сырьем. Наибольшее распространение в производстве анатоксина получили среды, изготовленные на основе кислотных и щелочных гидролизатов белковых соединений, либо гидролизатов, полученных с помощью протеолитических ферментов.

Для производства столбнячного анатоксина предложено целый ряд питательных сред: полусинтетическая казеиновая среда, казеиново-растительная, казеиново-рыбная, мясо-казеиновая и питательные среды из мяса [12, 13, 14, 15].

Многие исследователи указывают на зависимость между силой столбнячного токсина и химическим составом используемой среды. Установлено, что токсины, более высокой силы, можно получить на средах, содержащих большие количества малорасщепленных белков и имеющих низкий аминокислотный коэффициент. Указанное послужило толчком для разработки изготовления сред из гидролизатов, приготовленных при более низкой температуре. Снижение температуры гидролиза позволило увеличить сохранность белков среды и, следовательно, улучшить качество питательного бульона. По мнению авторов, причины улучшения качества среды заключались, с одной стороны, в стимуляции образования токсинов высокомолекулярными составными частями белка, а с другой стороны, - в тормозящем влиянии аминокислот на выработку токсинов [11].

Качество сред и режим культивирования в значительной степени определяет получение высокоактивных токсинов и, в конечном итоге, качество анатоксина. Однако не менее важен и выбор производственных штаммов *S. tetani*. В течение многих лет для изготовления столбнячного анатоксина используют штаммы столбнячной палочки Колле №154, Лондонский №228 и Копенгаген №471. Согласно результатам по сравнительному изучению токсинообразования указанных штаммов при культивировании на казеиново-растительной среде в стекле и реакторах максимум токсинообразования был достигнут при использовании штамма Копенгаген №471. Титр токсина на 7–9 день достигал  $1,1 - 1,3 \cdot 10^6$  Длм/мл и анатоксинсвязывающая активность 22–26 ЕС/мл, что в два раза выше показателей штамма Колле №154, наиболее часто используемого в производственных целях [16].

В литературе представлены результаты, свидетельствующие о влиянии процесса длительной адаптации штамма столбнячной палочки к одной и той же среде [17].

Пассажи производственных штаммов через организм неиммунных кроликов способствовали усилению их токсигенных и иммуногенных свойств, а также анитоксинсвязывающей активности продуцируемых ими токсинов [18, 19]. Так, химическая характеристика нативных столбнячных анатоксинов, полученных из токсинов пассажных штаммов, показала, что препараты, содержащие более значительные количества белка и обладающие меньшим аминокислотным коэффициентом, оказались более полноценными [17, 18].

В своих работах авторы указывают о возможности изготовления нативных столбнячных анатоксинов из штаммов *S. tetani* выделенных из окружающей среды [17]. Полученные серии анатоксинов по иммуногенным свойствам в 80% соответствовали требованиям, предъявляемым к профилактическим препаратам [18].

Однако, в технологии получения столбнячного анатоксина выбор штамма – продуцента и среды культивирования – только начальные этапы для достижения цели – получения безвредного и иммуногенного препарата для профилактики столбнячной инфекции. Важнейшим этапом в технологии получения такого препарата является условия перевода токсина в его антигенный дериват – анатоксин.

Рассматривая механизмы анатоксинаобразования, следует в общих чертах остановиться на природе токсинов, что является основанием при анализе его взаимодействия с детоксицирующими агентами. Бактериальные токсины являются веществами белковой природы с присущими этим соединениям специфическими свойствами: характерной молекулярной массой, аминокислотным составом и наличием в белковой молекуле специфических участков – активных центров.

Что касается *S. tetani*, то известно, что вырабатываемый им высокоактивный экзотоксин (смертельная доза для человека составляет 2нг/кг массы тела) состоит из двух фракций – тетаноспазмина и тетанолизина. Основной компонент токсина – тетаноспазмин представляет собой полипептид, состоящий из двух связанных между собой дисульфидными связями цепей: легкой ( $\alpha$ ) – около 50 кДа и тяжелой ( $\beta$ ) – около 100 кДа. Установлен и аминокислотный состав токсина [18].

Поскольку ученым не удалось связать химический состав токсина с проявлением его специфической активности, пришли к выводу, что это свойство является следствием конфигурации отдельных участков белковой молекулы, порядка чередования аминокислот в полипептидной цепи, наличия полярных группировок. И эта определенная часть молекулы токсина, обладающая уникальной структурой получила название «активный центр».

Пространственная конфигурация и химическая структура активных центров определяет возможность включения молекулы токсина в химические процессы взаимодействия с инактивирующими веществами. В построении активного центра столбнячного токсина существенную роль играет  $\epsilon$ -аминогруппы лизина, а их химическая блокада приводит к его инактивации, сопровождающейся, как правило, нарушением нативной структуры белковой молекулы токсина. Известно, что бактериальные токсины характеризуются выраженной гетерогенностью и эта их особенность имеет большое значение в процессах анатоксинаобразования.

Среди указанных свойств токсинов количественные соотношения токсических и антигенных характеристик имеют существенное значение при выборе исходного материала для приготовления анатоксина. При этом ряд исследователей считает, что между токсичностью исходной культуры, ее антигенностью и соответственно иммуногенностью полученного из нее анатоксина существует прямая зависимость [20, 21]. Вместе с тем, имеются данные, указывающие на то, что очень часто нет прямой зависимости между токсичностью исходных культур и антигенностью, полученных из них анатоксинов. Такие наблюдения были сделаны при исследовании столбнячного токсина и анатоксина [22, 23]. Оказалось, что анитоксинсвязывающая способность (ЕС) гораздо точнее характеризует качество столбнячного токсина, используемого для перевода в анатоксин, чем минимальная летальная доза (Длм) исходной культуры. Surjan M. и Gorzo B. [24], характеризуя около 500 образцов столбнячных токсинов и анатоксинов по анитоксинсвязывающей способности, пришли к заключению, что величины активности столбнячных токсинов (по Длм) не коррелируют с величинами анитоксинсвязывающей способности изготовленных из них анатоксинов. Зубовой З. Ф. [25] было показано, что иммунизирующий эффект ботулинических анатоксинов был одинаков, несмотря на колебания

активности токсина от  $8 \cdot 10^5$  до  $3 \cdot 10^6$  Длм/мл, взятого для обезвреживания.

Более того, существует мнение о различиях структурных элементов молекул бактериальных токсинов, определяющих токсичность и антигенную специфичность. В частности, Бойд Д. [26] считает, что для некоторых токсинов свободные аминокислотные группы ответственны за проявление токсических свойств, но они не имеют никакого значения в проявлении свойств антигенной специфичности. Вместе с тем, известны данные, свидетельствующие о том, что при формализации уже обезвреженных токсинов происходит дальнейшее снижение числа свободных аминокислотных групп, сопровождающееся потерей антигенной специфичности.

Анализируя неоднородность публикуемых данных, касающихся такого несоответствия, А.А. Воробьев в 1965г высказал предположение, состоящее в том, что элементы активного центра, запас энергии которых выше определенного уровня и обладают в силу этого повышенной реакционной способностью – способностью отвечать за токсические свойства, а низкорекреационноспособные, имеющие аналогичную структуру и непрореагировавшие с детоксицирующим агентом, являются носителями антигенных свойств.

Установление факта о способности некоторых химически модифицированных бактериальных токсинов вызывать иммунизационный эффект внесло существенный вклад в теорию и практику производства профилактических препаратов [27]. Особое место занимают данные, полученные Е. Roux и G. Volland еще в 1893 году. Они иммунизировали лабораторных животных столбнячным токсином, ослабленным галлоидными препаратами. Eisler и Lowenstein (1912г) показали, что выдерживание столбнячного токсина при повышенной температуре в присутствии 0,1 – 0,3 % формалина приводит к образованию безвредного производного токсина, которое при введении лабораторным животным защищает их при заражении культурой столбнячной палочки. Однако, только после сообщения Ramon G. в 1924 году о получении им безвредного и антигенного деривата дифтерийного токсина, названного «анатоксином» и обладающего свойствами «...нетоксичности, термостабильности и необратимости», метод формальной детоксикации получил настоящее признание. Glenny A. [27] показал, что столбнячный токсин, обработанный формальдегидом, после обезвреживания обладал исходными антигенными свойствами и получил название «токсоид». В дальнейшем принцип получения безвредных и антигенных препаратов при обработке токсина формальдегидом (при соблюдении других необходимых условий) был подтвержден в работах других исследователей.

Если сам факт детоксицирующего действия формальдегида на бактериальные токсины не вызывает сомнений, то механизмы формального анатоксинообразования остаются предметом дискуссий. В настоящее время процесс формальной детоксикации рассматривается как необратимое изменение структуры активного центра токсина в

результате реакции входящих в его состав функциональных групп с формальдегидом. Формальдегид относится к соединениям с высокой реакционной способностью, в котором функциональная карбонильная группа  $=C=O$  связана с двумя атомами водорода. Для понимания механизма формального анатоксинообразования следует иметь в виду, что центрами взаимодействия формальдегида с белками являются их свободные функциональные группы, причем характер этого взаимодействия существенно зависит от условий реакции (концентрация реагентов, температура, pH и др.). Известно, что основной особенностью химизма реакции формальдегида с белками является двустадийность процесса. На первом этапе происходит обратимое связывание с образованием гидроксиметилсоединений, а при дальнейшем протекании процесса этот комплекс, в зависимости от условий, может диссоциировать, либо вступать в процессы конденсации, которые, в свою очередь, обусловлены «сшиванием» белковых молекул или их части метиленовыми мостиками. Следует отметить, что процессы формального анатоксинообразования являются частным случаем общего явления взаимодействия формальдегида с белками. Вместе с тем, определяющим моментом процесса анатоксинообразования является блокирование формальдегидом свободных аминокислотных групп, входящих в состав активного центра. Известно также, что формальдегид при взаимодействии с белками реагирует лишь с незаряженными аминокислотными группами, относительная часть которых в молекуле возрастает при щелочных значениях pH. Именно с этим, по-видимому, связана скорость обезвреживания токсина при повышении значения pH за счет большого числа аминокислотных групп, входящих в состав активного центра, способных к взаимодействию с формальдегидом [28].

Повышение температуры при обезвреживании токсина связано с увеличением числа и реакционной способности аминокислотных групп, взаимодействующих с формальдегидом. Было показано [29], что при повышении температуры и pH в процессе формализации ботулинических токсинов реакция необратимого связывания аминокислотных групп протекает быстрее и количество непрореагировавших групп становится меньшим.

Говоря о формальном анатоксинообразовании, следует указать, что концентрация формалина существенно влияет на характер этого процесса. Для нативных токсинов, в том числе и столбнячного, была установлена оптимальная концентрация формалина – 0,3 – 0,8 %. Однако, влияние количества добавляемого формалина оказывает менее существенное влияние на процесс анатоксинообразования по сравнению с изменением параметров температуры и pH. Smith M. L. [30], суммируя данные литературы и результаты собственных наблюдений, показал, что при повышении концентрации добавляемого к столбнячному токсину формальдегида (до 1%) увеличивается потеря антигенности, хотя достижение безвредности наступает быстрее. По-видимому,

концентрация добавляемого формальдегида все же не является решающим фактором, поскольку часть его, как правило, остается свободной. Так, по данным Cheyroux M. [31] из 6,05г формальдегида, добавленного к 1л нативного столбнячного токсина, в процессе обезвреживания связывается около 4г, примерно 25% взятого количества остается свободным. Однако, при повышении значений температуры и pH происходит увеличение количества связанного формальдегида. Не исключено, что соотношение свободного и связанного формальдегида определяется характером реагирующих при конкретных условиях функциональных групп токсина.

Следует учесть, что количество связанного формальдегида в анатоксине может зависеть не только от свойств токсина, но и от содержания аминного азота в питательной среде, используемой для получения токсина [31]. Приведенные данные позволяют заключить, что прочность взаимодействия формальдегида с функциональными группами токсина может варьировать в довольно широких пределах.

Исходя из изложенного, можно прийти к заключению, что процесс получения анатоксинов, как химических производных бактериальных токсинов, определяется взаимодействием функциональных групп токсина и детоксигирующего агента, который на первых этапах реагирует с наиболее реакционноспособными группировками активных центров токсина, что сопровождается, с одной стороны, потерей токсичности, а с другой – сохранением антигенности.

Сложность и многогранность процесса анатоксинообразования послужили причиной возникновения целого ряда гипотез, пытавшихся объяснить механизм этого явления. В историческом аспекте процессы анатоксинообразования рассматривались как спонтанный переход токсина в анатоксин, где формальдегид играет роль катализатора. Либо формальдегиду отводится роль восстановителя, а образование безвредного и антигенного препарата, как процесс перехода окисленной формы в восстановленную. В одной из гипотез, предложенной в 30-е годы, было высказано предположение о том, что сам процесс формольного анатоксинообразования сводится к полимеризации токсина, а одним из вариантов этой гипотезы было представление, согласно которому на первом этапе формальдегид образует обратимое соединение с балластными веществами, находящимися в системе. А затем этот комплекс взаимодействует с токсином, что приводит к снижению его токсичности [31]. Все эти предположения не нашли подтверждения в дальнейшем.

Что касается современных представлений о механизмах анатоксинообразования, то наибольшее значение придается процессу взаимодействия функциональных групп активных центров токсина с формальдегидом [30, 31]. При этом допускается, что энергетическая гетерогенность активных центров токсина определяется функциональными

группировками с различной энергией активации, вследствие чего антигенная специфичность обусловлена непрореагировавшими группировками, энергия активации которых ниже функциональных групп, ответственных за токсичность.

Таким образом, отсутствие единой точки зрения на природу и механизмы процесса анатоксинообразования оставляет место для дискуссий, а между тем разработка рациональных схем формольной детоксикации, обеспечивающих максимальное сохранение антигенных и иммуногенных свойств препаратов при их биологической безвредности, является определяющим в технологии получения и контроля качества анатоксинов.

Требования к качеству препаратов бактериального происхождения, применяемых для лечебных и профилактических целей, неуклонно повышаются. Эти препараты должны быть высокоэффективны и стабильны [32, 33, 34]. Однако, общеизвестным фактом является изменение свойств препаратов, происходящее после их выпуска под влиянием разнообразных причин. Среди бактериальных сывороточных препаратов противостолбнячные сыворотки обнаруживают наибольшую склонность к значительному и быстрому изменению своих свойств. Вследствие неустойчивости титра некоторых противостолбнячных сывороток возникает опасность расхождения между количеством анатоксина, указанным на этикетке ампулы, и действительным его содержанием в 1 мл сыворотки к моменту применения последней [35, 36].

В производство противостолбнячных сывороток был введен, в качестве обязательного, метод предварительного выдерживания образцов, подготовленных к выпуску серий сыворотки, при 37 °С. Данный метод основывался на предположении, что снижение титра анатоксина соответствует падению титра сыворотки препарата в течение двухлетнего срока использования [37, 38].

Метод выдерживания образцов определяет запас анатоксина, который следует давать каждой выпускаемой серии противостолбнячной сыворотки. Однако, недостаток метода заключается в несоответствии, в некоторых случаях, результатов стабилизации титра образцов с действительной стабилизацией титра анатоксина в течение 2 лет после выпуска.

Метод ферментативного гидролиза с целью получения высококачественных концентрированных сывороток в производственных условиях был разработан Бейлинсоном А.В. с сотрудниками [39]. Вследствие большого преимущества метода “Диаферм-3” перед другими он широко внедрен в массовое производство институтов вакцин и сывороток. Однако, из опыта работы производственных лабораторий известно, что применяемый метод имеет ряд существенных недостатков, одним из которых является появление в очищенных и концентрированных сыворотках пирогенных веществ. Проводилось большое количество исследований по очистке антигенов от

балластных белков, для чего широко использовалась гидроксид алюминия. Введение в производство метода обработки пирогенных сывороток “Диаферм-3” гидратом окиси алюминия в 1956г. значительно снизило реактогенные свойства препарата [40].

Чем больше сыворотки подвергаются обработке гидратом окиси алюминия, тем ниже становится процентное содержание белка в них, которое связано с удалением в первую очередь балластных белков. Несмотря на некоторое снижение антитоксина в сыворотках, наблюдается повышение нагрузки антитоксической единицы (АЕ) на 0,1г белка. Снижение процентного содержания белка с увеличением нагрузки АЕ на 0,1г белков свидетельствует о повышении качества антитоксических сывороток [41]. К сожалению, ученые не пришли к единому стандарту изготовления противостолбнячных вакцин, которые соответствовали бы всем требованиям и не причиняли вреда.

Нельзя признать исчерпанным вопрос профилактики столбнячной инфекции. Существующая схема экстренного предупреждения болезни весьма громоздка. Введение противостолбнячной сыворотки чревато неуклонно возрастающей опасностью развития тяжелых аллергических реакций. Заблаговременная плановая иммунизация по применяемым схемам не может во всех случаях предупредить развитие заболевания. Таким образом, все стороны этой многогранной проблемы нуждаются в дальнейшем исследовании и разработке.

#### Литература

1. Синяк К.М., Жарко Т.Р., Вернер О.М. Пособие по медицинскому иммунологическим препаратам.-Киев: Здоровье. 1992.-360 с.
2. Выдрин А. О. Токсин и анатоксин столбняка.–Москва: Здоровье. 2004.-№ 6.–С. 45-60.
3. Воронков А.Н. Вивчення імунізуючих властивостей правцевих анатоксинів, приготованих на гідролізатних середовищах // Інфекційні хвороби. - Киев: Здоровье. - 2003.-№ 4.-С. 62-66.
4. Моргунов И.Н. Бактериальные токсины и анатоксины.-Киев: Здоровье. 1959.- 384 с.
5. Матвеев К.И. Эпидемиология и профилактика столбняка.–Москва: Здоровье. 1960.–338 с.
6. Выгодников Г.В., Зелявническая С.А., Волкова З.М. и др. Анаэробные инфекции.–Москва: Здоровье. 1962.–181 с.
7. Здродовский П.Ф. Проблемы инфекции и иммунитет.–Москва: Здоровье. 1961.–365 с.
8. Рамон Г. Сорок лет исследовательской работы.–Москва: Здоровье. 1962.–459 с.
9. Никитин Ю.В. Подбор питательных сред для выращивания производственных штаммов *S.tetani*. // Физиол. журн. – 1997. – Т. 35, № 5. – С. 11-15.
10. Зорина Л.К. Заменители пептона Рамона при производстве столбнячного анатоксина // Бюлл. по обмену опытом. - 1944. - № 6. - С. 56-72.

11. Воронкова А.И. Изучение иммунизирующих свойств столбнячных анатоксинов, приготовленных на гидролизатных средах // ЖМЭИ. - 1947. - № 6. – С. 145 - 160.
12. Mueller J., Miller P. Variable factors influencing the production of tetanus toxin // J. Bact. – 1954. - № 6. – P. 271 – 277.
13. Производственные штаммы и среды: Руководство по микробиологии, клинике и эпидемиологии инфекционных заболеваний. / Виноградова И.Н.–Москва: Здоровье. 1962. – С. 339 – 375.
14. Мельников В.Н. Анаэробные инфекции.–Москва: Здоровье. 1960. – Т. 9. – С. 124 – 131.
15. Виноградова И.Н., Кашинцева Н.С., Палкина Н.А. Материалы по обмену опытом институтов вакцин и сывороток Минздрава СССР.–Москва: Здоровье. 1957. – С. 48 – 53.
16. Курбангалина Ф.Х., Фрейман В.Б., Ненашев В.П. Изучение токсинообразования у столбнячных бацилл штамма № 471.Токсины, анатоксины и антитоксические сыворотки.–Москва: Здоровье. 1969. – С. 74 – 79.
17. Иллютович А.Ю., Брысова Н.В. Изучение биологических свойств палочек столбняка, выделенных из различных регионов Ставропольского края // ЖМЭИ. - 1957. - № 4. – С. 45 - 56.
18. Мительман П.М., Полунова Е.С., Скребцова С.Т. Получение столбнячного токсина и анатоксина // Тр. Укр. Института им. Мечникова. Харьков. – 1940. - № 4. - С. 115 - 129.
19. Барькин В.А., Куликов В., Минервин С., Ключин С. О столбнячном анатоксине и токсине // Тр. 9 съезд бактериологов.–Москва: Здоровье. - 1925.- 415с.
20. Соколов С.К. О токсигенной функции столбнячной палочки в связи с диссоциацией и размножением: Автореферат дисс. канд. мед. наук. - Ленинград, Государственный медицинский институт им. акад. И.П. Павлова, 1981.- 39 с.
21. Матвеев К.И. Столбняк.- Москва: Здоровье. 1952. – 352с.
22. Шумаков Г.В. Получение столбнячных токсинов и методы оценки их качества: Автореферат дисс. канд. мед. наук. - Ленинград, Государственный медицинский институт им. акад. И.П. Павлова, 1949. - 19 с.
23. Scheibel I. Uses and results of active tetanus immunization // Bull. org. mond. Sente. – 1955. – V. 13. – P. 381 – 394.
24. Surjan M., Gorzo B. Vergleichende Werbemessung des tetanus toxins and anatoxins //Z. immunitatsforsch expert Terap. – 1955. – V. 112. - № 4. – P. 325 – 332.
25. Зубова З.Ф. Ботулинические токсины, анатоксины и антитоксины типов А и В: Автореферат дисс. канд. мед. наук. - Киев, Институт эпидемиол. и инфекц. заболеваний им. Л.В. Громашевского, 1981.- 32 с.
26. Бойд Д. Белки в реакция иммунитета.–Москва: Здоровье. 1958. – Т. 3. – С. 477 – 485.

27. Glenny A. Active immunization the system of microorganisms. – London, 1930. – P. 18 – 22.
28. Лемеш В.В., Никитин Ю.В. Изменения молекулярной структуры столбнячного токсина при действии формалина // Укр. биохим. журн. – 2002. – Т. 55, № 2. – С. 209 – 212
29. Матвеев К.И. Ботулизм. – Москва: Здоровье. 1959. – 348с.
30. Smith M.L. Note of complexty of tetanus toxin // Bull. Health Organ. – 1942. – V. 10. - № 2. – P. 104 – 112.
31. Cheyroux M. Toxine tetanique et formol // Ann. Inst. Pasteur. – 1954. – V. 86. - № 3. – P. 356 – 369.
32. Воронков А.Н. Очистка столбнячного анатоксина // Укр. биохим. журн. – 1998. – Т. 18, № 2. – С. 20 – 26.
33. Gergen P.J., Mc Quillan G.M., Kiely M. et al. A population- based serologic survey of immunity to tetanus in the United States // N Engl J Med.- 1995. - V. 332(6). – P. 234 - 245.
34. Wright G.P. The neurotoxins of Clostridium botulinum and Clostridium tetani // Pharmacol. – 1955. – V. 7. – P. 413 - 465.
35. Bizzini, B., Turpin A., and Raynaud M. On the structure of tetanus toxin // Pharmacol. – 1973. – V. 276. – P. 271 - 288.
36. Dawson, D.J. and Mauritzen C.M. Stadies on tetanis toxin and toxoid. Isolation of tetanus toxin using DEAE-cellulose // Australian J. Biol. Sci. – 1967. – V. 20. – P. 253 - 263.
37. Farrer J.J., Yen L.M., Cook T. et al. Tetanus // J Neurol Neurosurg Psychiatry. - 2000. – V. 69. – P. 29 - 301.
38. Thwaites C.L. Tetanus // Practical Neurology. - 2002. – V. 2(3). – P. 130- 7.
39. Бейлинсон А.В. Высокоочищение и концентрирование сыворотки “Диаферм -3” // Бюлл. По обмену опытом. - 1947. - № 5 (23). – С. 1-7.
40. Никитин Ю.В. Высокоочищение и концентрирование сыворотки “Диаферм -3” // Биологический вестник. – 1999. – Т. 2, № 2. – С. 16-20.
41. Барабин В.А., Сутник Д.А. Столбняк. – Киев: Наукова думка, 1997. – 420 с.

УДК 612.017.1.28:704.4.85.

#### **НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМОЛЬНОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ СТОЛБНЯЧНОГО ТОКСИНА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).**

**Кашпур Н.В., Волянская Н.П., Чернявский В.И., Волянский А.Ю., Мартынов А.В.**

Столбняк достаточно широко распространен во многих странах мира. Неослабевающее внимание к нему объясняется многими причинами, среди которых главная - очень высокая летальность. Вакцинация является единственным эффективным способом предупреждения столбняка. Основная задача – это повышение иммуногенности производимых вакцин. С этой целью усовершенствованию подвергается каждый этап промышленного получения, очистки и

обезвреживания токсина. Большое значение имеет качество питательной среды и условия культивирования.

**Ключевые слова:** столбняк, токсин, анатоксин, обезвреживание.

УДК 612.017.1.28:704.4.85.

#### **ДЕЯКІ МЕХАНІЗМИ ФОРМОЛЬНОЇ ДЕТОКСИКАЦІЇ ПРАВЦЕВОГО ТОКСИНУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).**

**Кашпур Н.В., Воляньска Н.П., Чернявський В.И., Воляньський А.Ю., Мартинов А.В.**

Правець достатньо широко поширений в багатьох країнах світу. Неослабна увага до нього пояснюється багатьма причинами, серед яких головна, - дуже висока летальність. Вакцинація є єдиним ефективним способом попередження правця. Основне завдання - це підвищення імунітету вироблених вакцин. З цією метою удосконаленню піддається кожен етап промислового отримання, очищення і знешкодження токсину. Велике значення має якість живильного середовища і умови культивування.

**Ключові слова:** правець, токсин, анатоксин, знешкодження .

УДК 612.017.1.28:704.4.85.

#### **SOME MECHANISMS OF FORMOL DETOKSICATION OF TETANIC TOXIN (REVIEW OF LITERATURE).**

**Kashpur N.V., Chernajvsky V. I., Volyansky N.P., Volyansky A. Yu, Martynov A.V.**

A tetanus is widely enough widespread in many countries of the world. Unflagging interest to him is explained many reasons among which main is ever-higher lethality. A vaccination is the unique effective method of warning of tetanus. A basic task is an increase of adjuvanticity of producible vaccines. Every stage of industrial receipt, cleaning and defusing of toxin is exposed to the improvement to that end. A large value has quality of nourishing environment and condition of cultivation.

**Keywords:** tetanus, toxin, toxoid, defusing.