

JERZY WIŚNIEWSKI

Porównanie działania wirusobójczego środków odkażających na wirus pryszczycy

Zakład Badania Pryszczycy Instytutu Weterynarii w Zduńskiej Woli
Kierownik: prof. dr T. KOBUSIEWICZ

Chociaż od czasu wykrycia wirusa pryszczycy przez Löefflera i Froscha ukazało się wiele prac na temat działania środków odkażających na wymieniony zarazek, zagadnienie to jest stale przedmiotem zainteresowania. W ostatnim dziesięcioleciu szereg autorów (2, 4, 7, 8, 11, 12, 13) podjęło badania nad zastosowaniem nowych, względnie znanych już dawniej środków odkażających. Badania te dotyczyły oceny przydatności środków chemicznych do dezynfekcji zakażonych zagród, obornika, pasz, odzieży itp.

Celem podjętej pracy było określenie *in vitro* działania odkażającego kilkunastu środków chemicznych na wirus pryszczycy, przy użyciu hodowli komórek nerkowych cielęcia.

Material i metody

Wirus. Do badań użyto wirus pryszczycy typu O z dziesiątego pasażu z hodowli komórek nerkowych o mianie $10^{5.0}$ HKID₅₀/ml. Zawiesinę wirusa przechowywano w stanie zamrożonym, w ampulkach w konterze z suchym lodem.

Środki odkażające. Z grupy związków zasadowych badano działanie 2, 1, 0,5 i 0,1% roztworu sody żrącej oraz 5% roztworu sody amoniakalnej. Z kwasów kontrolowano działanie 2, 1, 0,5 i 0,1% roztworu kwasu siarkowego, solnego, fosforowego, mlekowego, cytrynowego oraz octowego. Ze środków odkażających działających utleniająco badano 5 i 0,5% roztwór podchlorynu sodu, 5% roztwór wapna chlorowanego, 5% roztwór chloraminy, 2% roztwór chlorogenu oraz 1,0 i 0,1% roztwór nadmanganianu potasu. Ponadto badano działanie 2% roztworu formolu, 3% roztworu kreoliny oraz 2% roztworu Lizofonu i Biovalu.

Ocena działania wirusobójczego. Zawiesinę wirusa pryszczycy mieszano z roztworami odkażającymi w stosunku 1:1 w temperaturze pokojowej. Przebieg inaktywacji zarazka sprawdzano po upływie 1, 5, 10, 20, 30 i 60 minut, określając ilość nieinaktywowanego wirusa. Badanymi mieszaninami inokulowano po 5 hodowli komórek nerkowych cielęcia. Miano nieinaktywowanego wirusa obliczano po 48 godzinnym przetrzymaniu w cieplarni, na podstawie zmian cytopatycznych według metody Reeda i Muencha wyrażając je w HKID₅₀/ml.

Oznaczenie pH. Mieszaniny środków odkażających i zawiesiny wirusa poddawano pomiarowi pH metodą elektrometryczną.

Wyniki

Spośród środków alkalicznych najsilniejsze właściwości wirusobójcze stwierdzono dla sody żrącej: 2 i 1% roztwór unieczyniał wirus w ciągu 1 minuty, 0,5% po 5 minutach. Jednogodzinne działanie 0,1% roztworu ługu sodowego było niewystarczające do całkowitego unieczynienia wirusa pryszczycy. 5% roztwór sody amoniakalnej unieczyniał wirus w ciągu 1 minuty (tab. 1).

Z kwasów najwyższe właściwości wirusobójcze wykazał kwas siarkowy, który w rozcieńczeniu 2, 1, 0,5 i 0,1% niszczył infekcyjność zarazka w ciągu 1 minuty. Kwas solny w stężeniu 2 i 1% unieczyniał wirus w ciągu 1 minuty, roztwór 0,5% po 5 minutach. Działanie wirusobójcze 0,1% roztworu było niewystarczające do pełnej inaktywacji zarazka. 2 i 1% roz-

Tab. 1. Wyniki działania wirusobójczego alkalicznych środków odkażających na wirus pryszczycy

Środek odkażający	Roztwór	pH	Miano nieinaktywowanego wirusa (czas w minutach)					
			1	5	10	20	30	60
Soda żrąca	2%	12,0	—	—	—	—	—	—
	1%	12,0	—	—	—	—	—	—
	0,5%	11,7	2,0*	—	—	—	—	—
	0,1%	10,3	8,0	6,0	5,33	4,83	4,0	3,33
Soda amoniakalna	5%	10,8	—	—	—	—	—	—
Podchloryn sodu	5%	10,7	—	—	—	—	—	—
	0,5%	9,2	—	—	—	—	—	—
Wapno chlorowane	5%	12,2	—	—	—	—	—	—
Chloramina	5%	8,6	6,33	2,5	—	—	—	—
Chlorogen	2%	10,6	3,23	3,83	—	—	—	—
Nadmanganian potasu	1%	8,0	—	—	—	—	—	—
	0,1%	8,1	4,5	3,5	3,0	2,83	2,66	2,66
Kreolina	3%	9,0	6,66	6,23	6,33	5,66	5,50	5,50
Lizofon	2%	8,6	8,0	8,0	7,5	7,23	5,63	5,20
Bioval	2%	8,5	8,5	8,5	8,5	8,0	8,5	8,0

— Brak wirusa.

* Wykładnik potęgi o podstawie 10.

twór kwasu fosforowego unieczynniał wirus w ciągu 1 minuty, 0,5% po 5, 0,1% po 10 minutach. Kwas mlekowy w koncentracji 2, 1 i 0,5% wykazał pełne działanie inaktywujące po 1 minucie. Po zastosowaniu roztworu 0,1% stwierdzono ślady niezinaktywowanego wirusa jeszcze po 60 minutach działania. Kwas cytrynowy odznaczał się bardzo silnym działaniem wirusobójczym. Zawiesina wirusa poddana działaniu 2, 1, 0,5 a nawet 0,1% roztworu kwasu cytrynowego straciła infekcyjność już po 1 minucie działania. Wynik ten potwierdzony był w kilku próbach. 2% roztwór 10% kwasu octowego inaktywował wirus po 5, roztwór 1% po 10 minutach. Kwas octowy w rozcieńczeniu 0,1% działał zbyt słabo i nie niszczył całkowicie wirusa (tab. 2).

Z pozostałych przebadanych środków odkażających kreolina w rozcieńczeniu 3% wykazała bardzo słabe właściwości wirusobójcze. Po 60 minutach wirus utracił około 10% początkowej infekcyjności. Roztwór Lizoformu w stężeniu 2% wywoływał bardzo słabe działanie wirusobójcze, zbliżone do kreoliny. Całkowity brak właściwości wirusobójczych wykazał Bi-oval (tab. 1).

O m ó w i e n i e

Z przeprowadzonych badań wynika, że istnieje szereg środków odkażających, które mogą być z powodzeniem zastosowane do odkażania przy zwalczaniu pryszczycy.

Powszechnie stosowana soda żrąca jest bardzo skutecznym środkiem odkażającym. Jej za-

Tab. 2. Wyniki działania wirusobójczego kwasów na wirus pryszczycy

Środek odkażający	Roztwór	pH	Miano niezinaktywowanego wirusa (czas w minutach)					
			1	5	10	20	30	60
Kwas siarkowy	2%	2,0	—	—	—	—	—	—
	1%	2,0	—	—	—	—	—	—
	0,5%	2,0	—	—	—	—	—	—
	0,1%	2,9	—	—	—	—	—	—
Kwas solny	2%	2,3	—	—	—	—	—	—
	1%	2,3	—	—	—	—	—	—
	0,5%	3,4	2,67	—	—	—	—	—
	0,1%	6,8	7,60	7,0	5,75	5,43	5,23	5,0
Kwas fosforowy	2%	2,1	—	—	—	—	—	—
	1%	2,6	—	—	—	—	—	—
	0,5%	3,0	3,33	—	—	—	—	—
	0,1%	5,6	7,50	3,48	—	—	—	—
Kwas mlekowy	2%	3,5	—	—	—	—	—	—
	1%	3,9	—	—	—	—	—	—
	0,5%	4,4	—	—	—	—	—	—
	0,1%	6,5	2,0	1,33	1,0	1,66	1,22	1,22
Kwas cytrynowy	2%	2,9	—	—	—	—	—	—
	1%	3,5	—	—	—	—	—	—
	0,5%	4,5	—	—	—	—	—	—
	0,1%	5,8	—	—	—	—	—	—
Kwas octowy	2%	3,7	1,68	—	—	—	—	—
	1%	5,5	5,50	3,0	—	—	—	—
	0,5%	8,0	7,26	6,0	5,67	5,0	5,0	5,0

Z grupy środków odkażających zawierających czynny chlor najsilniejsze działanie wirusobójcze wykazały podchloryn sodu i wapno chlorowane. 5 i 0,5% roztwór podchlorynu sodu unieczynniał wirus w ciągu 1 minuty. Identyczne właściwości wirusobójcze stwierdzono dla 5% roztworu wapna chlorowanego. 5% roztwór chloraminy i 2% roztwór chlorogenu działały wirusobójczo po 10 minutach (tab. 1). Nadmanganian potasu działał skutecznie w stężeniu 1% po 1 minucie, natomiast roztwór 0,1% nie inaktywował wirusa nawet po 60 minutach.

Przy użyciu stosowanej metody nie można było ustalić działania inaktywującego 2% roztworu formolu, ponieważ wywoływał on uszkodzenie hodowli komórek nerkowych jeszcze w rozcieńczeniu 1:1000.

letą jest szybkie i pewne unieczynnianie wirusa, natomiast wadą bardzo silne działanie żrące w następstwie którego, przy częstym stosowaniu, dochodzi do niszczenia malowanych przedmiotów, sprzętu laboratoryjnego, a nawet murów. Z tego względu niektóre laboratoria (14) zastąpiły ług sodowy 5% roztworem węglanu sodu stosowanym dwukrotnie na gorąco. W niektórych krajach, przy dezynfekcji środków transportu, zastąpiono sodę żrącą 2% wodnym roztworem formaldehydu. We Francji do odkażania stosuje się 0,8% roztwór sody żrącej (6). Nasza instrukcja w sprawie zwalczania pryszczycy poleca stosowanie 1% roztworu sody żrącej do odkażania ludzi i zwierząt, 2% do odkażania sprzętów i pomieszczeń w zakażonych zagrodach (5). W badaniu własnym, roztwór 1%

uniczynniał wirus w ciągu 1 minuty, roztwór 0,5% po 5 minutach. Dane te są zbieżne z wynikami badań przeprowadzonych kilka lat temu przez Lucama i wsp. (8) oraz Fellowesa (3). W warunkach dezynfekcji w terenie, gdzie w odkażanym podłożu jest dużo substancji organicznych i trudniejszy kontakt środka odkażającego z zarazkiem, działanie wirusobójcze omawianych roztworów może być słabsze. Z tego względu w praktyce stosuje się wyższe stężenie środka odkażającego, chociaż nie jest wykluczone, że przy zastosowaniu wielokrotnej dezynfekcji mechanicznej, wystarczająco działałoby 1% ług sodowy.

Na szczególną uwagę zasługują wyniki badania środków odkażających z grupy kwasów. Najwyższe właściwości wirusobójcze stwierdzono dla kwasu siarkowego. Kwas siarkowy jeszcze w rozcieńczeniu 0,1% uniczynniał wirus pryszczycy w ciągu 1 minuty. Kwas siarkowy może znaleźć zastosowanie do dezynfekcji nawozu szczególnie w tych przypadkach gdy zachodzi potrzeba szybkiego wykorzystania zakażonego obornika w okresie upraw polowych, gdy nie ma czasu na odkażanie biotermicznie, które trwa 6—15 dni (14). Gorskiej i Gizatullin stwierdzili, że inaktywacja wirusa w nawozie zakwaszonym do pH 5,0 przy użyciu 5% roztworu kwasu siarkowego w ilości 40 l na 1 m³ zachodziła znacznie szybciej jak w nawozie poddanym działaniu 5% roztworu ługu sodowego. W nawozie zakwaszonym wirus ginął po 3 godzinach, podczas gdy w nawozie zalkalizowanym sodą miano wirusa obniżyło się tylko o 2 log (4). Ponadto zakwaszony nawóz nie tracił wartości gospodarczej, a nawet łatwiej ulegał mineralizacji. Szybsze unieszkodliwienie wirusa przy użyciu kwasu jest spowodowane wielką wrażliwością zarazka pryszczycy na zakwaszenie. Wirus w środowisku o pH 3—4 ginie natchmiast (1).

Również pozostałe kwasy: solny, fosforowy, mlekowy, octowy, a w szczególności kwas cytrynowy wykazały silne działanie wirusobójcze. Ze względu na brak właściwości żrących, roztwór kwasu cytrynowego, poza zastosowaniem do uniczynniania wirusa na powierzchni tusz mięsnych z chorego bydła (10), może służyć do dezynfekcji w laboratoriach (13) bądź w terenie w okresie epizootii, gdzie zachodzi potrzeba częstego odkażania rąk. Przy braku sody żrącej, w nagłych przypadkach rozpoznania pryszczycy w terenie, skutecznym środkiem odkażającym dla personelu może być także 5% roztwór kwasu octowego, dostępny w każdym gospodarstwie domowym.

Bardzo silnym działaniem wirusobójczym cechowały się związki pochodzenia chlorowego, w szczególności podchloryn sodu i wapno chlorowane. Oba preparaty w stężeniu 5% niszczyły wirus w ciągu 1 minuty. Ze względu na silny i nieprzyjemny zapach preparaty chlorowe mają ograniczone zastosowanie do dezynfekcji

ścieków. Właściwości odkażające podchlorynu sodu zależą od zawartości substancji organicznych w środowisku. Sellers wykazał (13), że inaktywacja wirusa pryszczycy przez podchloryn sodu była uzależniona od obecności substancji organicznych w odkażanym środowisku. Dodanie 10% surowicy bydłowej wymagało ośmiokrotnie wyższego stężenia środka odkażającego. Przeciwnie, działanie inaktywujące kwasów i zasad niezależnie od odkażanego środowiska: wody, surowicy, kału, nawozu czy mleka, przy tej samej wartości pH, było niezmiennie.

Bardzo szybką inaktywację stwierdzoną w przeprowadzonych badaniach, można tłumaczyć bezpośrednim kontaktem środka odkażającego z zawiesiną wirusa. Chociaż uniczynnienie wirusa zamkniętego w komórce bądź w tkance w środowisku naturalnym będzie przebiegało znacznie wolniej i wymagało wyższego stężenia środka odkażającego, to na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować o przydatności przebadanych środków dezynfekcyjnych w praktyce.

Wnioski

1. W razie braku sody kaustycznej istnieje szereg środków odkażających, które mogą znaleźć praktyczne zastosowanie przy dezynfekcji zagród zakażonych wirusem pryszczycy.
2. Z badanych środków odkażających, poza sodą żrącą, najsilniejsze działanie na wirus pryszczycy wywierały: kwas siarkowy i cytrynowy, podchloryn sodu, kwas mlekowy, solny, fosforowy, soda amoniakalna i wapno chlorowane.
3. Roztwór kwasu cytrynowego można polecić do odkażania rąk, ze względu na jego silne właściwości wirusobójcze i brak działania żrącego.
4. W przypadku braku innych środków odkażających do dezynfekcji rąk może być zastosowany 5% roztwór kwasu octowego.
5. Kreolina, Lizoform i Bioval nie nadają się do odkażania z uwagi na słabe działanie na wirus pryszczycy.

Piśmiennictwo

1. Bachrach H., Breese S., Callis J., Hess W., Patty R.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 95, 147, 1957.
 2. Dimopoulos G.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 83, 706, 1960.
 3. Fellowes O.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 83, 595, 1960.
 4. Gorskiej B., Gizatullin H.: Veterinarija, Moskwa, 44, 98, 1968.
 5. Instrukcja w sprawie zwalczania pryszczycy, PWRiL, 1966.
 6. Joubert L., Maćkowiak C.: La Fièvre Aphteuse Expansion Scientifique Française, 1968.
 7. Krasnoszczekow W., Ustenko W.: Trudy Vses. Inst. Vet. Sanit. 18, 143, 1962.
 8. Lucam F., Dannacher G., Fedida M.: Bull. Off. int. Epizoot. 61, 1589, 1964.
 9. Nauryzbajew I.: Tudy Vses. Inst. Vet. Sanit. 29, 485, 1967.
 10. Niggli J.: Schweizer Arch. Tierheilk. 98, 393, 1956.
 11. Poljakow A., Nauryzbajew I.: Vest. sel.-choz. Nauki Mosk. 2, 98, 1968.
 12. Rozow A.: Trudy Vses. Inst. Vet. Sanit. 26, 229, 1966.
 13. Sellers R.: Vet. Rec. 83, 504, 1968.
 14. Wittmann G.: Schweizer Arch. Tierheilk. 109, 313, 1967.
- Adres autora: dr Jerzy Wiśniewski, Zduńska Wola, ul. Wodna 7.