

MEDYCYNĄ WETERYNARYJNA

ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZDZISŁAW LARSKI, JERZY SZAFIARSKI, JAN SZURMAN

Inaktywujące działanie riwanolu na szczep Lansing wirusa poliomyelitis

(Doniesienie wstępne)

Z Pracowni Badań nad Chorobą Cieszyńską Inst. Wet. — Gumna i z Wojewódzkiego Zakładu Higieny Weterynaryjnej — Katowice

Pozytywne wyniki uzyskane przy oczyszczaniu wirusa choroby cieszyńskiej świń przy użyciu riwanolu (4) nasunęły nam myśl zastosowania tej metody do oczyszczania szczepu Lansing wirusa poliomyelitu. Jednak już wstępne doświadczenia wykazały inaktywujące działanie riwanolu na wirus i dalsze próby miały na celu bliższe określenie tej własności.

Dane piśmiennictwa, dotyczące działania pochodnych akrydyny na wirusy podają Matthews i Smith (2). Między innymi cytowana jest praca Browna dotycząca hamującego działania proflawiny na wirus MEF-1 Lansing w hodowli tkankowej. W dostępnej nam literaturze nie znaleźliśmy prac omawiających działanie riwanolu na wirusy poliomyelitu.

Materiał i metodyka

Do doświadczeń używano szczep Lansing (otrzymany z Zakładu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu).

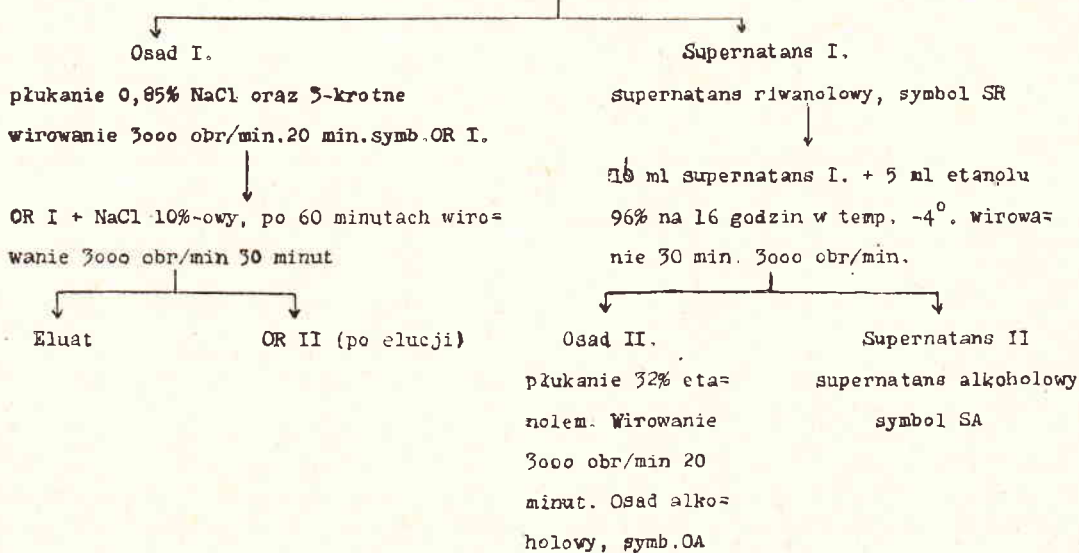
Oczyszczanie wirusa przeprowadzono w analogiczny sposób jak wirusa zakaźnego porażenia świń. Zabiegi te przedstawia schemat Nr 1.

Doświadczenia

Zakładając podobieństwo między wirusem Lansing a wirusem choroby cieszyńskiej wstępne doświadczenie miało na celu wykazanie obecności badanego wirusa w eluacie osadu riwanolowego. W tym celu zakażono domózkowo 7 grup myszy wzrastającymi rozcieńczeniami tego

Schemat Nr.1

45%-owa zawiesina mózgu - delipidowanie eterem
2,5 ml zawiesiny delipidowanej + 8,75 ml
0,4% riwanolu, czas działania 60 minut.
Wirowanie 30 min. 3000 obr/min.



materiału. Wynik był ujemny, kontrola wirusa wyjściowego wykazała jego miano równe $10^{-5,5}$ (tabelka I).

Tabela I

Rozc. wirusa	10-1	10-2	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7
Eluat osadu riwanol.	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Wirus wyjściowy	6/6	6/6	6/6	4/6	3/6	3/6	0/6

Legenda: licznik oznacza liczbę porażonych, mianownik liczbę użytych myszy.

W następnym doświadczeniu badano zakaźność poszczególnych frakcji otrzymanych w procesie oczyszczania. Nieoczekiwanie i tutaj wyniki zakażenia były ujemne (tabela II). Padły w ciągu 24 godzin wszystkie myszy którym wprowadzono supernatans riwanolowy w rozcieńczeniu 10^{-1} (działanie toksyczne?).

W celu określenia mechanizmu działania riwanolu zakażono ponownie po 28 dniach obserwacji część myszy (w tabeli II, grupy te obwiedzone są tłustą linią), wirusem wyjściowym używając dawki 316 LD₅₀. Uzyskane wyniki (tabela III) świadczą o pewnej odporności tych zwierząt. Wyraża się ona zarówno obniżeniem procentu śmiertelności jak i przedłużeniem okresu inkubacji u tych sztuk, które zakażeniu uległy. Najlepsze działanie uodparniające wykazał osad alkoholowy (OA) i supernatans alkoholowy (SA). Stanowiąc to może dowód obecności wirusa inaktywowanego w wymienionych frakcjach.

Tabela II

Rozcieńczenie Frakcja	10-1	10-2	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7
	Wirus wyjściowy	6/6 (6,6,6,6,6,7)	6/6 (6,6,6,7,7,7)	6/6 (6,6,6,6,7,7)	6/6 (6,6,6,6,6,7)	4/6 (7,7,7,7)	2/6 (7,8)
D (delipidowany)	6/6 (6,6,6,6,7,7)	6/6 (6,6,6,6,7,7)	6/6 (6,6,6,7,7,7)	6/6 (6,6,7,7,7,7)	1/6 (8)	0/6 —	0/6 —
SR (supernatans riwanolowy)	?	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
OR (osad riwanolowy)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
OA (osad alkoholowy)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
SA (supernatans alkoholowy)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6

Legenda: liczby w nawiasach oznaczają okresy inkubacji; ? — myszy padły w ciągu 24 godzin po zakażeniu.

W celu określenia antygenowego efektu po wprowadzeniu pozamózgowym wirusa poddanego działaniu riwanolu, przygotowano osad alkoholowy (OA) w takiej ilości, aby każda mysz otrzymała jego ilość uzyskaną z 1 g mózgu. Zaszczepiono dootrzewnowo 42 myszy podaną ilością osadu w 1 ml płynu fizjologicznego jednorazowo.

Tabela III

Frakcja	Rozcieńczenia frakcji użyte do zakażenia				
	10-1	10-2	10-3	10-4	10-5
	Wyniki II zakażenia dawką 300 LD ₅₀ wirusa				
SR	n	0/6	3/6 (13,13,15)	6/6 (9,9,9,9,9,13)	6/6 (7,7,7,7,8,9)
OR	0/6	2/6 (13,15)	2/6 (14,15)	3/6 (9,10,12)	6/6 (7,7,8,8,9,10)
OA	0/6	0/6	0/6	2/6 (12,13)	6/6 (9,9,9,10,10,11)
SA	0/6	0/6	0/6	4/6 (8,8,8,13)	6/6 (7,7,7,8,9,10)

Legenda: n — zwierzęta zginęły po I zakażeniu.

Po 30 dniach badano stopień wrażliwości tych myszy oraz myszy kontrolnych przez określenie LD₅₀ wirusa.

Wyniki podano w tabeli IV

Tabela IV

Rozc. wirusa	Wynik zakażenia	
	myszy szczepionych	myszy kontrolnych
10-1	6/6	6/6
10-2	5/6	6/6
10-3	2/6	5/6
10-4	0/6	3/6
10-5	0/6	0/6
10-6	0/6	0/6
LD ₅₀	10-2,6	10-3,8

Różnica wartości LD₅₀ określonych na myszach szczepionych i kontrolnych wynosi 1,2 log.

Celem następnego doświadczenia było badanie wpływu dootrzewnowego podawania riwanolu na przebieg zakażenia szczepem Lansing u myszy. W tym celu określono uprzednio dawki riwanolu nieszkodliwe dla tych zwierząt.

Stwierdzono, że podanie w 6 dniach łącznie 3,5 ml riwanolu 1:1000 (1. dzień 1 ml, w następnych po 0,5 ml) dootrzewnowo znoszą myszy całkiem dobrze (działania tego środka przy dłuższym podawaniu nie badano).

Trzy grupy myszy po 20 sztuk zakażono domózgowo dawką 100 LD₅₀ po czym zaczynając od następnego dnia po zakażeniu aż do wystąpienia objawów chorobowych myszom grupy A podawano riwanol w dawkach wyżej podanych, myszom grupy B te same ilości płynu fizjologicznego NaCl. Grupa C stanowiła kontrolę.

W grupie A (otrzymującej riwanol) padło 13 sztuk co stanowi 60%, w grupie B (otrzymującej płyn fizjologiczny) padło 19 sztuk tj. 95%, a w grupie C (kontrolnej) wszystkie. Korzystne działanie podawania riwanolu wyrażało się również przedłużeniem okresu inkubacji (średnio o 24 h) oraz słabszym nasileniem objawów klinicznych. Różnica wskaźników śmiertelności w grupie A i B jest statystycznie znamienne.

O m ó w i e n i e

Próby zastosowania riwanolu do oczyszczania szczepu Lansing w warunkach opracowanych dla wirusa choroby cieszyńskiej wykazały nieprzydatność tej metody z uwagi na inaktywujące działanie tego związku na wirus. Domózgowym zakażeniem nie udało się wykazać wirusa w żadnej z frakcji. Wyniki reinfekcji dawką 316 LD₅₀ świadczą o różnej ich wartości antygenowej. Najlepsze działanie uodparniające wykazał osad alkoholowy. Niewyjaśnioną pozostała kwestia dlaczego supernatans riwanolowy dał słabszy efekt odpornościowy niż obie frakcje otrzymane z niego po działaniu alkoholu.

Porównując działanie riwanolu w analogicznych warunkach na wirus choroby cieszyńskiej świń (4) i na szczep Lansing stwierdzić można odmienne ich zachowanie się. Wirus choroby cieszyńskiej ulega prawie całkowicie strąceniu przez riwanol bez utraty zjadliwości; dla szczepu Lansing wykazano pośrednio, że gros jego mieści się w supernatansie w stanie nieaktywnym.

Odmienne zachowanie się tych dwu wirusów stwierdzono również w odniesieniu do protaminy. Patočka (3) wykazał obecność wirusa choroby cieszyńskiej w równych ilościach w osadzie i supernatansie, natomiast szczep Lansing wg Warren'a, Weil'a, Russ'a i Jeffries'a (cyt. wg 3) pozostaje w płynie nad osadem.

Dootrzewnowe wprowadzenie myszom osadu alkoholowego w ilości otrzymanej z 1 g mózgu wyraziło się wzrostem odporności na zakażenie. Różnica między LD₅₀ określonym na myszach szczepionych i kontrolnych wynosiła 1,2 log.

Badano wpływ dootrzewnowego podawania riwanolu w okresie inkubacji na przebieg zakażenia u myszy. Wybrano tę drogę wprowadzania riwanolu opierając się na wynikach pracy Ely'ego i Batt'a (1), którzy stwierdzili, że dootrzewnowe podawanie akryflawiny prowadzi

do nagromadzenia się jej między innymi także w mózgu.

Stwierdzono korzystne działanie riwanolu wyrażające się przedłużeniem się okresu inkubacji, łagodniejszymi objawami klinicznymi oraz mniejszą śmiertelnością w grupie otrzymującej riwanol. Różnice były statystycznie znamienne.

P i ś m i e n n i c t w o

1) Ely J. O., Batt W. G. — Jour. Franklin Inst. 261, 561—572, 1956 ref. Chem. Zentrbl. 128 (15) 3843 1957, 2) Matthews R. E. F., Smith J. D. — The Chemotherapy of viruses. Advances in Virus Research. A. P. New York Vol. III p. 49-148 1955, 3) Patočka Fr., Kubečka V., Slavík K., Boháč J. — Vestník ČAZ 25 (10) 461—475 1951, 4) Szurman J., Larski Z. — Med. Wet. 13 (3) 139—142, 1957.

3. ЛЯРСКИ, Е. ШАФЛЯРСКИ, Я. ШУРМАН

ИНАКТИВИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ РИВАНОЛА НА ВИРУС ПОЛИОМИЕЛИТА ШТАММА ЛАНСИНГ

1. При попытках очистки штамма „Лансинг“ при помощи риванола обнаружено инактивирующее действие этого препарата.

2. Это свойство существенно отличает вышеназванный вирус от вируса тешенской болезни свиней (Encephalomyelitis enzootica suum), которого вирулентность не снижается под влиянием риванола.

3. Отдельные фракции, выделенные во время очистки штамма Лансинг, оказывают при домозговой инъекции неодинаковую степень антигенности.

4. Внутрибрюшинная иммунизация мышей фракцией имеющей самую лучшую антигенность высказалась в повышении иммунитета против последующего заражения.

5. Внутрибрюшинное впрыскивание риванола зараженным мышам во время инкубации вызывает продолжение инкубационного периода, смягчение клинических симптомов и статистически характерное снижение смертности.

Z. LARSKI, J. SZAFIARSKI, J. SZURMAN

THE INACTIVATING EFFECT OF RIVANOL FOR LANSING'S STRAIN OF POLIOMYELITIS VIRUS

Summary

1. During the attempts to purify the Lansing's strain of poliomyelitis virus, the inactivating effect of rivanol has been found.

2. This fact enabled to differentiate the poliomyelitis virus from Teschner disease virus (encephalomyelitis enzootica suum virus), as rivanol did not diminish the virulence of the latter.

3. The individual fractions obtained during the purification of Lansing's strain revealed the different antigenic values, when injected intraperitoneally to mice.

4. Intraperitoneal hyperimmunization of mice with fraction which had the highest antigenic value, resulted in increase of immunity for subsequent infection.

5. Intraperitoneal injections of rivanol to mice being in incubation period of disease, resulted in prolongation of time incubation, appeasement of clinical signs of disease and statistically significant decrease of mortality.