

MICHAŁ BARTOSZCZE, STANISŁAW PALEC, KA ZIMIERZ KRUPA
Puławy

Badania inaktywujących właściwości jodoforów, bromeksów i preparatów chlorojodowych wobec wirusa choroby Aujeszky'ego

Spośród preparatów dezynfekcyjnych przedmiotem dużego zainteresowania stały się w ostatnich latach związki będące kompleksowymi połączeniami jodu, chloru lub bromu z odpowiednio dobranymi nośnikami (2—5, 7, 12). Preparaty tego typu wykazując aktywność biobójczą poszczególnych składników, pozbawione są szeregu cech niekorzystnych, jak np. drażniącego zapachu, silnych właściwości korozyjnych itp. Obecność w preparatach substancji powierzchniowo czynnych pozwala na ich głębszą penetrację, dzięki czemu uzyskuje się korzystniejsze działanie dezynfekcyjne naczyń, pomieszczeń, sprzętu, wody oraz innych obiektów. Nieliczne są doniesienia dotyczące aktywności omawianych preparatów wobec wirusów. Wykazano między innymi ich działanie na wirus rzekomego pomoru drobiu, choroby pęcherzykowej świń i pryszczycy (9—11, cyt. 12).

Celem niniejszej pracy było określenie wirusobójczych właściwości wybranych jodoforów, bromeksów i związków chlorojodowych wobec wirusa choroby Aujeszky'ego. Podjęcie badań w tym kierunku wiąże się z nasileniem się choroby Aujeszky'ego w kraju.

Materiał i metody

Do badań użyto następujące preparaty:

- a) jodoformy — Pollena Jod (J_2 akt. = 2,7%), Pollena Jod K (J_2 akt. = 1,0%), Pollena Jod M (J_2 akt. = 1,59%),
b) bromeksy — Bromeks MK (Br_2 akt. = 0,93%), Bromeks K (Br_2 akt. = 1,05%), Bromeks SK (Br_2 akt. = 1,09%),
c) preparaty chlorojodowe — Polchlor (JCl akt. = 0,72%), Polchlor K (JCl akt. = 2,18%), Polchlor M (JCl akt. = 1,04%).

Jodoformy i bromeksy były produkcji Strzemieszyckich Zakładów Chemii Gospodarczej Pollena, a preparaty chlorojodowe otrzymano z Zakładów Środków Higieniczno-Sanitarnych Instytutu Chemii Przemysłowej w Nowym Dworze Mazowieckim. Do badań użyto szczepu AT wirusa choroby Aujeszky'ego o mianie $TCID_{50}$ $10^{5.5}$ /ml w jednowarstwowej hodowli komórek zarodka kurzego. Jednowarstwowe hodowle komórek zarodka kurzego otrzymywano w sposób powszechnie stosowany. Płyn odżywczy wzrostowy stanowił płyn Hanksa z dodatkiem 10% surowicy cielecej, a płyn utrzymujący — płyn Parkera z antybiotykami. Płyny te otrzymano z Wytwórni Surowie i Szczepionek w Lublinie.

Toksyczność preparatów dla komórek hodowli określano w sposób podany w poprzedniej pracy (8).

Aktywność wirusobójczą preparatów badano w obecności płynu utrzymującego, surowicy lub rozdrobionego i wysterylizowanego kału końskiego dodając do zawiesiny wirusa w płynie utrzymującym (10^5 dawek $TCID_{50}$ wirusa) z testowanymi składnikami równą objętość 0,12, 0,25, 0,5, 1,0 i 2,0% roz-

tworów wodnych poszczególnych preparatów. Mieszanie środka dezynfekcyjnego z wirusem przeprowadzono w temperaturze $4^\circ C$ lub $37^\circ C$ i po określonym czasie zakażano nią hodowlę komórek. Dla uniknięcia wpływu pozostałości środków dezynfekcyjnych na komórki hodowli i cząstki zakaźne wirusa, po 1-godzinnej inkubacji w temperaturze $37^\circ C$ płyn z hodowli odlewano i po 3-krotnym przepłukaniu hodowli wprowadzano do niej nowy płyn utrzymujący i ponownie inkubowano w $37^\circ C$.

Codziennie przez okres 5 dni hodowle poddawano obserwacji w kierunku zmian cytopatycznych, a przy ich braku materiałem z zakażonych hodowli wykonywano dodatkowo pasaż ślepy. Za aktywne przyjmowano stężenia preparatu, które całkowicie inaktywowały wirus.

Wyniki i omówienie

Przy określaniu toksyczności preparatów dla hodowli komórek stwierdzono, że dodanie badanych stężeń preparatów do hodowli na okres jednej godziny, a następnie ich usunięcie i przepłukanie nie powoduje działania toksycznego na komórki. Przy badaniu minimalnych dawek inaktywujących wirus stwierdzono, że wszystkie preparaty z wyjątkiem Bromeksu MK inaktywowały wirus począwszy od stężenia 0,25% (tab. 1).

Tab. 1. Badanie minimalnych inaktywujących stężeń preparatów dla wirusa choroby Aujeszky'ego (w czasie 30 minut)

Nazwa preparatu	Stężenie preparatów w %				
	0,12	0,25	0,5	1,0	2,0
Pollena Jod	—	+	+	+	+
Pollena Jod M	—	+	+	+	+
Pollena Jod K	—	+	+	+	+
Bromeks K	—	+	+	+	+
Bromeks MK	—	—	+	+	+
Bromeks SK	—	+	+	+	+
Polchlor	—	+	+	+	+
Polchlor K	—	+	+	+	+
Polchlor M	—	+	+	+	+

Objaśnienia: — brak działania inaktywującego, + inaktywacja wirusa.

Wpływ surowicy na inaktywujące działanie testowych związków na wirus ilustrują tab. 2 i 3. Wykazano, że w obecności białka nastąpił znaczny spadek wirusobójczej aktywności preparatów, wyrażony najbardziej w przypadku Polleny Jod M, Polleny Jod, Polchloru i Polchloru M. Najwyższą aktywnością wirusobójczą odznaczały się w tych warunkach Pollena Jod K oraz Bromeks SK, których 2% stężenia inaktywowały wirus przy 40% koncentracji białka. Nie wykazano różnic w wirusobójczym działaniu preparatów w czasie 15 i 45 minut.

Tab. 2. Wpływ surowicy na inaktywujące działanie preparatów wobec wirusa choroby Aujeszky'ego

Nazwa preparatu	Stężenie %	Czas działania	Ilość dodanej surowicy w %			
			10	20	30	40
Pollena Jod M	0,25	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	0,5	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	1,0	15	+	-	-	-
		45	+	-	-	-
2,0	15	+	+	-	-	
	45	+	+	-	-	
Pollena Jod K	0,25	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	0,5	15	+	+	-	-
		45	+	+	-	-
	1,0	15	+	+	+	-
		45	+	+	+	-
2,0	15	+	+	+	+	
	45	+	+	+	+	
Pollena Jod	0,25	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	0,5	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	1,0	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
2,0	15	+	+	+	-	
	45	+	+	+	-	
Bromeks K	0,25	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	0,5	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	1,0	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
2,0	15	+	+	+	+	
	45	+	+	+	+	
Bromeks SK	0,25	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	0,5	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	1,0	15	+	+	+	-
		45	+	+	+	-
2,0	15	+	+	+	+	
	45	+	+	+	+	

Biorąc pod uwagę uzyskane dane, do dalszych badań wybrano Pollenę Jod K oraz Bromeks SK. Wyniki badania wpływu temperatury na aktywność wirusobójczą wybranych preparatów (w obecności surowicy) przedstawiono w tab. 4. W temperaturze 4°C, 0,5% roztwory Polleny Jod K nie wykazywały działania wirusobójczego w obecności 20% surowicy, a 1% roztwory Bromeksu SK nie działały na wirus przy 30% stężeniu surowicy. W pozostałych przypadkach nie wykazano różnic w aktywności wirusobójczej w temperaturze 4°C i 37°C. Wyniki badania działania wirusobójczego Polleny i Bromeksu SK na zarazek w kale ilustruje tab. 5. Stwierdzono, że dodanie kału w ilości 10—40% znosiło aktywność wirusobójczą 0,25% roztworu Polleny Jod K, natomiast nie wpływało na aktywność Bromeksu SK.

Badanie aktywności wirusobójczej wybra-

Tab. 3. Wpływ surowicy na inaktywujące działanie preparatów wobec wirusa choroby Aujeszky'ego

Nazwa preparatów	Stężenie w %	Czas działania	Ilość dodanej surowicy w %			
			10	20	30	40
Polchlor	0,25	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	0,5	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	1,0	15	-	-	-	-
		45	+	+	-	-
2,0	15	+	+	-	-	
	45	+	+	-	-	
Polchlor M	0,25	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	0,5	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	1,0	15	-	-	-	-
		45	+	+	-	-
2,0	15	+	+	-	-	
	45	+	+	-	-	
Polchlor K	0,25	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	0,5	15	-	-	-	-
		45	-	-	-	-
	1,0	15	+	+	-	-
		45	+	+	+	-
2,0	15	+	+	+	-	
	45	+	+	+	-	

nych preparatów z grupy jodoforów, bromeków oraz związków chlorojodowych rozpoczęto od badania ich toksyczności dla komórek hodowli. Podobnie, jak to ustalono poprzednio (8) po usunięciu pozostałości związku z zakażonych hodowli i przepłukiwaniu ich nie obserwowano toksycznego wpływu preparatów na hodowlę komórkową. W badaniach własnych jako modelu użyto wirusa choroby Aujeszky'ego. Wybór ten podyktowany został z jednej strony względami metodycznymi, z drugiej zaś wzrastającym znaczeniem epizootycznym tego zarazka.

Z użytych w badaniach preparatów niektóre z nich, a zwłaszcza jodofory, znalazły już zastosowanie w praktyce weterynaryjnej (3, 4, 12), a pozostałe znajdują się w fazie intensywnych badań. W badaniach własnych wykazano, że w środowisku bezbiałkowym już w 0,25% stężeniu preparaty inaktywowały wirus w czasie 15 minut. Wskazuje to na dość znaczną aktywność wirusobójczą jodoforów, bromeków i związków chlorojodowych. Stężenia te są niższe w porównaniu do minimalnych inaktywujących stężeń wykazanych w poprzedniej pracy (8). Wiąże się to prawdopodobnie z różnicami w aktywności poszczególnych serii preparatów użytych do badań.

Zgodnie z oczekiwaniem stwierdzono, że w środowisku zawierającym białko, aktywność wirusobójcza testowanych preparatów ulega znacznemu osłabieniu, przy czym w najmniejszym stopniu dotyczy to Polleny Jod K i Bromeksu SK. Pozwoliło to na wyselekcjonowa-

Tab. 4. Wpływ temperatury na inaktywujące działanie preparatów wobec wirusa choroby Aujeszky'ego w obecności surowicy

Nazwa preparatu	Temp.	Stężenie w %	Czas działania	Ilość dodanej surowicy w %			
				10	20	30	40
Pollena Jod K	4°C	0,25	15	-	-	-	-
			45	-	-	-	-
		0,5	15	+	-	-	-
			45	+	-	-	-
			15	+	+	+	-
1,0	45	+	+	+	-		
	15	+	+	+	+		
Pollena Jod K	37°C	0,25	15	-	-	-	-
			45	-	-	-	-
		0,5	15	+	+	-	-
			45	+	+	+	-
			15	+	+	+	-
1,0	45	+	+	+	-		
	15	+	+	+	+		
Bromeks SK	4°C	0,25	15	-	-	-	-
			45	-	-	-	-
		0,5	15	-	-	-	-
			45	-	-	-	-
			15	+	+	-	-
1,0	45	+	+	+	-		
	15	+	+	+	+		
Bromeks SK	37°C	0,25	15	-	-	-	-
			45	-	-	-	-
		0,5	15	-	-	-	-
			45	-	-	-	-
			15	+	+	+	-
1,0	45	+	+	+	-		
	15	+	+	+	+		
2,0	45	+	+	+	+		
	15	+	+	+	+		

Tab. 5. Działanie wirusobójcze wybranych preparatów na wirus w kałe

Nazwa preparatu	Stężenie w %	Ilość dodanego nawozu w %			
		10	20	30	40
Pollena Jod K	0,25	-	-	-	-
	0,5	+	+	+	+
	1,0	+	+	+	+
	2,0	+	+	+	+
Bromeks SK	0,25	+	+	+	+
	0,5	+	+	+	+
	1,0	+	+	+	+
	2,0	+	+	+	+

nie dwóch najaktywniejszych preparatów, a mianowicie Polleny Jod K i Bromeksu SK. Obserwowany w badaniach własnych brak różnic w działaniu wirusobójczym preparatów w temperaturze 4°C i 37°C można tłumaczyć tym, że proces inaktywacji wirusów zachodzi dość szybko i jest on w małym stopniu zależny od temperatury.

W warunkach naturalnych środowisko zwierząt zanieczyszczone jest poza białkiem także innymi związkami organicznymi, które wpływać mogą ujemnie na aktywność środków dezynfekcyjnych. W związku z tym do dalszych badań użyto kału. Jednak wbrew przypuszczeniom dodatek kału wpłynął tylko nieznacznie ujemnie na aktywność Polleny Jod K, natomiast nie wpłynął zupełnie na aktywność wirusobójczą Bromeksu SK. Przeprowadzone badania wskazują na znaczną aktywność wirusobójczą testowanych preparatów, co jest zgodne z danymi uzyskanymi przez innych autorów (1, 6, 9—11, cyt. 12), także wobec wirusów. Duża aktywność przeciwwirusowa Polleny Jod K oraz Bromeksu SK stwarza przesłanki do wykorzystania tych preparatów w praktyce weterynaryjnej, przy dezynfekcji obiektów zakażonych wirusem choroby Aujeszky'ego.

Piśmiennictwo

- Böhm J.: Dt. tierärztl. Wschr. 77, 377, 1970.
- Kędzia W.: Dezynfekcja w medycynie i farmacji. PZWL, 1977.
- Kłopotek A.: Przem. chem. 54, 627, 1973.
- Kłopotek A.: Przem. spoż. 33, 285, 1977.
- Krzywicka H.: Post. Mikrobiol. 10, 387, 1971.
- Mahnel H., Kunz W.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 89, 149, 1976.
- Mierzejewski J., Skoczek A., Palec S., Matras J.: Dobór nowoczesnych środków dezynfekcyjnych do odkażania obiektów będących pod nadzorem weterynaryjnym. Puławy, 1976, Biblioteka WONBSWet.
- Palec S.: Działanie nowych preparatów dezynfekcyjnych wobec wirusa choroby Aujeszky'ego i pecherzykowego zapalenia jamy ustnej. Puławy, 1978. Biblioteka WONBSWet.
- Wawrzkiwicz J.: (w) Resistance of microorganism to disinfectants. First International Symposium. Ed.: W. B. Kędzia — Polish Academy of Sciences, Poznań, 1973, 221.
- Weinhold S., Kohler A.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 85, 27, 1972.
- Wiśniewski J., Jankowska J., Baranowski C.: (w) Resistance of microorganism to disinfectants. First International Symposium. Ed.: W. B. Kędzia — Polish Academy of Sciences, Poznań, 1973, 222.
- Zołędzińska J.: Biul. Inst. Przem. Org. 3, 75, 1973.

Adres autora: dr Michał Bartoszcze, ul. Krańcowa 1/19, 24-100 Puławy.

DEVRIESE L. A.: Wrażliwość gronkowców izolowanych od zwierząt domowych na leki antybakteryjne stosowane w stymulacji wzrostu i leczeniu. Badania dziesięcioletnie. (Sensitivity of Staphylococci from farm animal to antibacterial agents used for growth promotion and therapy. A ten year study). Ann. Rech. Vet. 11, 399—408, 1980 (4).

Badania przeprowadzone w Belgii w okresie 1970—1979/80 na 1040 szczepach *Staphylococcus aureus* wyosobnionych od bydła, drobiu i świń i 138 szczepach *S. hyicus* subsp. *hyicus* izolowanych od świń wykazały, że w okresie obserwacji liczba szczepów *S. aureus* wytwarzających penicylinazę zwiększała się w przypadku szczepów izolowanych od drobiu. W całym okresie badań stopniowo obniżała się liczba szczepów opornych na tetracyklinę. Większość szczepów *S. aureus* i *S. hyicus* izolowanych od prosiąt w latach 1973—1975 była oporna na makrolidy i linkomycynę. W latach 1979/80 pojawiły się szczepy oporne na linkomycynę i wrażliwe na makrolidy. Szczepy wrażliwe na bacytracynę izolowano najczęściej od bydła, najrzadziej od drobiu. Jedynie niewielka liczba szczepów była oporna na neomycynę, sulfonamidy, chloramfenikol, cefalosporynę i penicylinę. Wszystkie badane szczepy były wrażliwe na nitrofurany, flawomycynę, karbodox, TMP, rifamycynę oraz kombinacje wirginiamycyny.

G.