

КРАТКИЕ НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

Б. Г. Аветикян, А. М. Мовсесян

О влиянии лизоцима на фиксированный вирус
бешенства

В 1909 году П. Н. Лашенковым в белке куриного яйца было обнаружено мощное микробоцидное вещество, предохраняющее белок от загнивания. Спустя много лет этот же микробоцидный агент был „открыт“ Флемингом и Аллисоном, которые, описав некоторые свойства, назвали его лизоцимом. В дальнейшем лизоцим был подробно изучен в ряде советских лабораторий и нашел применение в клинической практике и в пищевой промышленности.

Почти во всех исследованиях, относящихся к проблеме лизоцима, в качестве испытуемых объектов применялись различные бактерии. Этими исследованиями были освещены многочисленные вопросы, касающиеся лизоцима и был выяснен его „бактериологический спектр“. Мало изучался вопрос о действии лизоцима на микробов иного происхождения, в частности, вопрос о действии лизоцима на вирусы.

Нас заинтересовал вопрос о возможном вирулицидном влиянии лизоцима на вирус бешенства. Практическое значение этого вопроса очевидно.

В качестве источника лизоцима нами был использован белок свежих куриных яиц. В наших опытах применялись различные разведения смеси белка из 2—3 куриных яиц; для разведения применялся 0,5% раствор хлористого натрия. Активность растворов устанавливалась путем испытания их действия на культуру сапрофатного крупного кокка, отличавшегося высокой чувствительностью в отношении лизоцима. Культура этого кокка была отобрана нами из числа многих колоний, выросших на агаровой пластинке в результате воздушно-пылевого загрязнения.

Так как мы должны были пользоваться вирусом бешенства, сохранившимся в клетках мозга кроликов, было необходимо выяснить, не инактивируется ли лизоцим куриного яйца в присутствии мозгового вещества. Подобную инактивацию можно было предположить, так как имеются указания, что лецитин задерживает феномен лизоцима. Для проверки были поставлены предварительные опыты, в которых смесь различных разведений яичного белка с взвесью мозговой ткани кроликов выдерживалась в термостате (37°C) и при комнатной температуре (18—20°C); время экспозиции смесей также варьировалось.

Максимальным сроком выдержки смеси был суточный. После выдержки смесь центрифугировалась. Полученная недостаточная жидкость испытывалась в отношении ее литического действия на культуру тест-бактерии. Было поставлено 16 подобных опытов, в результате которых было установлено, что даже при суточной экспозиции, нормальная ткань кроличьего мозга не влияет на бактериологическую способность белка куриных яиц. Во всех без исключения опытах надосадочная жидкость, полученная после центрифугирования смеси, имела исходный бактериолитический титр.

Для испытания действия лизоцима на вирус бешенства был использован одесский штамм фиксированного вируса. Опыты наши были поставлены следующим образом. Кролик, зараженный субдурально фиксированным вирусом, вскрывался в агонии на шестой день после заражения. Из мозга животного приготавливалась 10% взвесь в 0,5% растворе хлористого натрия; взвесь фильтровалась через марлевый фильтр. Для каждого опыта приготавливались разведения яичного белка 1:25, 1:50 или 1:50 и 1:100. Для разведения белка также применялся 0,5% солевой раствор.

К отмеренному объему взвеси мозга добавлялся десятикратный объем соответствующего разведения яичного белка. Смесь эта выдерживалась в течение определенного времени в термостате, а затем при комнатной температуре. Время экспозиции варьировалось. После подобной выдержки смесь подвергалась двадцатиминутному центрифугированию при 200 оборотах в минуту. Прозрачная недостаточная жидкость отсасывалась и испытывалась в отношении лизоцимной активности. Центрифугат в количестве 0,2 мл применялся для субдурального заражения кроликов, с целью определить активность фиксированного вируса.

Всего было поставлено 8 опытов, результаты которых приведены в таблице.

Заражения кроликов фиксированным вирусом после воздействия лизоцима

№ кролика	Разведение яичного белка	Длительность экспозиции смеси при		Литическая активность надосадочной жидкости	Результат заражения	Диагноз
		37°	18—20°			
1	1:50	1 ч.	47 ч.	+++	Смертность на 6-й день	Бешенство
2	1:100	1 ч.	47 ч.	+++	то же	то же
3	1:25	3 ч.	45 ч.	+++	то же	то же
	1:50	3 ч.	45 ч.	+++	то же	то же
5	1:25	24 ч.	—	++	то же	то же
6					Смерт. на 3-й день	Инфектур. заболевл.
7	1:50	24 ч.	—	++	Смерт. на 6-й день	Бешенство
8	1:25	3 ч.	69 ч.	+++	то же	то же
	1:50	3 ч.	69 ч.	+++		

Первые два кролика были заражены смесью вирусного мозга с разделением яичного белка 1:50 (кролик № 1) и 1:100 (кролик № 2).

Смеси эти были выдержаны 1 час при температуре термостата и 47 часов при комнатной температуре. Как можно видеть на таблице, надосадочная жидкость имела трехкрестовую (максимальную) активность в отношении чувствительного кокка. Одновременно можно видеть, что осадки из тех же пробирок, состоящие из детрита, содержащего вирус мозга, после введения в количестве 0,2 мл под твердую мозговую оболочку нормальных кроликов, вызывали у последних заболевание экспериментальным бешенством, от которого они погибали на 6-й день заражения.

В следующем опыте, который был поставлен также на двух кроликах, для заражения была использована смесь яичного белка и взвеси содержащего вирус мозга, которые были приготовлены несколько иначе. В этом случае была повышена концентрация яичного белка (1:25 и 1:50) и, кроме того, был изменен режим выдержки смеси. После смешивания соответствующих количеств данного разведения яичного белка со взвесью кроличьего мозга, содержащего вирус, жидкость была выдержана при 37° в течение трех часов, а последующие 45 часов смесь стояла при комнатной температуре.

Как можно видеть, и в этом случае надосадочная жидкость сохранила свою лизоцимную активность, а осадок сохранил свою вирулентность для кроликов (№ № 3 и 4).

В последующих опытах применялись те же разведения яичного белка, время экспозиции смеси варьировалось. В третьем опыте (кролики № № 5 и 6) смесь была выдержана 24 часа при 36°, а в четвертом опыте (кролики № № 7 и 8) время экспозиции было доведено до 72 часов, из которых 3 часа смесь стояла в термостате при 37°, а 60 часов — при комнатной температуре.

В этих опытах были получены данные, сходные с данными первых двух опытов: надосадочная жидкость содержала активный лизоцим, а осадок оставался вирулентным и во всех случаях вызывал у зараженных животных экспериментальное бешенство, от которого они погибали на шестые сутки. Исключения составил кролик № 6, который пал спустя 2 дня после субдурального введения осадка. В этом же случае было отмечено и некоторое снижение лизоцимной активности надосадочной жидкости. Возможно, что здесь имелась инфекция, возникшая в результате загрязнения смеси лизоцим-вирус посторонней флорой, при длительной (72 часа) выдержке. Однако бактериологическое исследование павшего кролика не дало положительного результата, а самая смесь не была исследована. Основываясь на картине заболевания кролика № 6, можно предполагать, что причиной его смерти явилась какая-то интеркуррентная инфекция.

Таким образом, на поставленный нами вопрос был получен отрицательный ответ. Лизоцим не влияет сколь-нибудь заметно на вирус бешенства.

Ереванский институт
эпидемиологии и микробиологии

Поступило 24 XI 1955 г.

Բ. Գ. Ավետիսյան, Ա. Մ. Մովսիսյան

ԼԻԶՈՑԻՍԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԿԱՏԱՂՈՒԹՅԱՆ ՖԻՔՍՎԱԾ ՎԻՐՈՒՍԻ ՎՐԱ

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Հիգիենիստ պրոֆ. Լաշենկովը 1909 թվականին հավի ձվի սպիտակուցի մեջ հայտնաբերեց շատ զորեղ միկրոօրգանիզմի նյութ, որին հետագայում տրվեց «լիզոցիմ» անունը:

Բազմաթիվ հեղինակներ զբաղվեցին լիզոցիմի հետազոտությամբ և մանրամասնորեն ուսումնասիրեցին նրա ազդեցությունը զանազան բակտերիաների վրա: Սակայն դեռևս լուսարանված չէ այն հարցը, թե ինչպես է լիզոցիմը ազդում ֆիլտրվող վիրուսների վրա:

Կատաղության վիրուսի վրա լիզոցիմի ազդեցությունը պարզելու նպատակով մենք մի շարք փորձեր իրականացրեցինք ճագարները վարակվում էին կատաղության ֆիքսված վիրուսով, որը նախապես ենթարկված էր լիզոցիմի ազդեցությանը:

Աշխատանքի ընթացքում որպես լիզոցիմի աղբյուր օգտագործվել է հավի ձվի սպիտակուցը, որի լիզոցիմային ակտիվությունը նախապես որոշվում էր զգայուն կոկիի կուլտուրան լուծելու փորձի միջոցով: Այս էզանակով ստուգված լիզոցիմի (ձվի սպիտակուցի) տարրեր նոսրացումները (1:100, 1:50, 1:25) մենք ավելացնում էինք կատաղության ֆիքսված վիրուս պարունակող՝ ճագարի ուղեղի սուսպենդիայի վրա և պահում նախ տերմոստատի մեջ (37°), ապա՝ սենյակում (18—20°):

Տարրեր փորձերում փոխվում էին լիզոցիմի լուծույթի կոնցենտրացիաները, ինչպես նաև փոխվում էր լիզոցիմ-վիրուս խառնուրդը պահելու ռեժիմը:

Մի շարք փորձերում խառնուրդը նախքան վարակումը պահվում էր 48 ժամ, այլ փորձերում՝ 72 ժամ: Տերմոստատի մեջ խառնուրդը պահվում էր 1—24 ժամ:

Լիզոցիմով մշակված վիրուսի վարակիչ հատկությունները պարզելու համար խառնուրդի նստվածքից 0,2 մլ մտցվում էր նորմալ ճագարների զանգուղեղի կոշտ թաղանթի տակ: Վարակման բոլոր փորձերը տվեցին դրական արդյունք: Բոլոր դեպքերում էլ ֆիքսված վիրուսը պահպանեց իր վիրուլենտությունը և փորձնական ճագարները սատկեցին էքսպերիմենտալ կատաղությամբ:

Նկարագրված փորձերի արդյունքները ցույց են տալիս, որ լիզոցիմը չի ազդում կատաղության վիրուսի վրա: