Über die Fällbarkeit von Entero-Viren mit Polyphosphorsäure

W. A. K. SCHMIDT, H. PITTLER und W. HÖPKEN

Staatl. Medizinal-Untersuchungsamt in Hannover
(Direktor: Dr. med. habil. R. WOHLRAB)

(Z. Naturforschg. 20 b, 402 [1965]; eingegangen am 19. Dezember 1964)

Kürzlich berichteten wir ausführlich^{1,2} über eine Fällungsmethode, die es gestattet, Polio-Antigenbestandteile zu fraktionieren und große Antigenmengen zeitsparend und schonend zu konzentrieren. Als Fällungsmittel diente eine Polyphosphorsäure vom MG ~340 (Polyphosphorsäure techn., 83% P₂O₅, (HPO₃)_n, Fluka A. G., Schweiz). Die Konzentrations-Versuche wurden nun auch auf andere Typen der Enterovirus-Gruppe ausgedehnt. In der vorliegenden Mitteilung möchten wir darüber berichten.

Untersucht wurden Cocksackie-Virus B1 und B3, Echo-Virus Typ 6 und 11. Gleichzeitig wurde die Fällung von Polio Typ I zum Vergleich durchgeführt.

Die Vermehrung der Cocksackie- und Echo-Viren erfolgte in MS-Zellen, die der Polio-Viren in HeLa-Zellen. Als Erhaltungsmedium diente TCM 199. Die Infektiositäts-Bestimmungen gingen einheitlich in MS-Zellen vor sich. Jede Antigenfraktion wurde zweimal auf verschiedenen Zellchargen tritiert (8 Röhrchenkulturen pro Verdünnungsstufe).

Die für die Fällung vorgesehenen Roh-Antigenmengen (Gewebekultur-Überstand) wurden nach Abzentrifugieren des Zelldetritus (10 Min. 2200 g) im Eisbad auf pH 7,3 eingestellt, mit 0,5 mg Polyphosphorsäure pro ml Antigen versetzt und durch Zusatz verdünnter HCl auf pH 3,5 gebracht (die Polyphosphorsäure wurde als täglich neu bereitete 2-proz. wäßrige Lösung verwendet). Danach wurde 15 Min. im Kühlraum geschüttelt und dann das Sediment niedrigtourig abzentrifugiert (15 Min. 2200 g). Das Sediment wurde in wenigen ml einer NaCl-Lösung (0,88-m. NaCl + 0,04-m. Na₂HPO₄ mit NaOH auf pH 9,0 eingestellt) aufgenommen und mit 1/3-n. NaOH auf neutrale Werte gebracht. Der Überstand wurde ebenso auf pH 7,0 eingestellt. Die Infektiosität des Ausgangsmaterials, des Überstandes und des Sediments wurde bestimmt. Tab. 1 zeigt die Versuchsergebnisse.

Die Infektiositäts-Ausbeute im Sediment war bei den Cocksackie-Virustypen B1 und B3 und bei Echo-Virus Typ 6 ebenso hoch wie beim Polio-Virus. Fast die gesamte Infektiosität lag im Sediment vor. Die Infektiosität des Überstandes betrug kaum 1% der Ausgangs-Infektiosität. Beim Echo-Virus Typ 11 dagegen ließ sich noch etwa 1/10 der Ausgangs-Infektiosität im

Virusart und Fraktion		Menge [ml]	Infektiositätstiter [ID ₅₀ Einh./0,25 ml]	Infektiosität* [%]
Polio I	Ausgangsmaterial	30	10 ^{8,29}	100
	Überstand	30,75	10 ^{5,68}	<1
	Sediment	3 **	10 ^{8,29}	100
	Ausgangsmaterial	50	10 ^{7,72}	100
	Überstand	51,25	10 ^{4,89}	<1
	Sediment	5	10 ^{7,94}	161
Cocksackie B1	Ausgangsmaterial	30	10 ^{7,74}	100
	Überstand	30,75	10 ^{5,88}	1
	Sediment	3	10 ^{7,81}	118
	Ausgangsmaterial	300	10 ^{8,46}	100
	Überstand	307,5	10 ^{6,33}	<1
	Sediment	6	10 ^{8,35}	78
Cocksackie B3	Ausgangsmaterial	50	10 ^{6,21}	100
	Überstand	51,25	10 ^{3,72}	<1
	Sediment	5	10 ^{6,35}	138
	Ausgangsmaterial	300	10 ^{6,32}	100
	Überstand	307,5	10 ^{4,26}	<1
	Sediment	6	10 ^{6,46}	138
Echo 6	Ausgangsmaterial	30	10 ^{5,77}	100
	Überstand	30,75	10 ^{3,67}	<1
	Sediment	3	10 ^{5,73}	91
	Ausgangsmaterial	300	10 ^{6,73}	100
	Überstand	307,5	10 ^{4,89}	1
	Sediment	6	10 ^{6,67}	87
Echo 11	Ausgangsmaterial	50	10 ^{6,89}	100
	Überstand	51,25	10 ^{5,81}	9
	Sediment	5	10 ^{6,77}	77
	Ausgangsmaterial	110	10 ^{7,59}	100
	Überstand	112,75	10 ^{6,67}	12
	Sediment	11	10 ^{7,63}	109

Tab. 1. Infektiosität nach Fällung mit 0,5 mg Polyphosphorsäure pro ml Antigen bei pH 3,5.

* Bezogen auf das Ausgangsmaterial. ** Zur Infektiositäts-Bestimmung wurde ein Teil des gelösten Sedimentes auf das entsprechende Volumen des Ausgangsmaterials gebracht.

Überstand nachweisen. Bei der großen pH-Abhängigkeit der Polyphosphatfällung ist es denkbar, daß die Präzipitation auch dieses Virustyps bei einem anderen, evtl. niedrigeren pH-Wert als dem von 3,5 vollständig verläuft.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen vermuten, daß eine Präzipitation durch Polyphosphorsäure auch bei den anderen, noch nicht untersuchten Entero-Virustypen möglich ist.

Frau E. TIESLER und Fräulein L. HARTJE sei für ausgezeichnete technische Assistenz gedankt.

¹ W. A. K. SCHMIDT, Zbl. Bacteriol., Parasitenkunde, Infektionskrankh. Hyg., I. Abt., Orig. 191, 130 [1963].

² W. A. K. SCHMIDT, Arch. ges. Virusforsch. 14, 508 [1964].