

## تأثير الأشعة فوق البنفسجية والأمواج فوق الصوتية على فيروس

مرض النيوكاسل

مزاحم ياسين العطار

فرع الأحياء المجهرية ، كلية الطب البيطري ، جامعة الموصل.

الموصل - العراق

(الاستلام: ٣١ كانون الثاني، ٢٠٠٧؛ القبول: ١٩ نيسان، ٢٠٠٧)

### الخلاصة

تم دراسة تأثير الأشعة فوق البنفسجية على فايروس مرض النيوكاسل الضار واللقاحي وقد أشارت النتائج إلى حصول انخفاض في معيار الفيروس الضاري بمقدار  $1.5 \text{ Log}_{10}$  عند استخدام الطول الموجي ٢٥٤ نانوميتر و  $(1.2 \text{ Log}_{10})$  عند الطول الموجي ٣٦٦ نانوميتر بينما كان الفايروس اللقاحي أقل تأثراً. كما درس تأثير الأشعة فوق البنفسجية على قابلية التلازن الدموي لنفس الفايروسات حيث انخفض معيار التلازن بمقدار  $2 \text{ Log}_{10}$  للفيروس الضاري في كلا الطولين الموجيين بينما لم تتأثر قابلية التلازن للفايروس اللقاحي عند الطول الموجي ٣٦٦ نانوميتر. وقد درس تأثير الأمواج فوق الصوتية على حيوية نفس الفايروسات حيث انخفض معيار الفايروس الضاري بمقدار  $2.5 \text{ Log}_{10}$  ،  $3.5 \text{ Log}_{10}$  عند استخدام الترددات ١٤ ، ٢٢ ما يكرون على التوالي بينما كان هذا التأثير أقل وضوحاً في الفايروس اللقاحي ، فيما فقد كلا الفايروسين الضاري واللقاحي قابليتهما للتلازن الدموي بشكل كامل عند استخدام التردد ٢٢ ما يكرون لمدة دقيقة واحدة .

### EFFECT OF ULTRAVIOLET AND ULTRASOUND ON NEWCASTLE DISEASE VIRUS

M. Y. AL-Attar

Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine,  
University of Mosul, Mosul - Iraq

### ABSTRACT

The effect of ultraviolet irradiation on Newcastle disease virus (virulent and vaccinal strains) was studied. Results showed decrease the titer of virulent strain

about 1.5 Log 10 and 1.2 Log 10 at 254 and 366 nm respectively such effect was less on vaccinal strain. Haemagglutination (HA) activity of the same viruses was also studied and showed that HA titer of virulent NDV was decreased 1Log2 when treated at 254 nm and 366 nm, but vaccinal NDV was not affected at 366 nm. The effect of ultrasound on viability of same viruses showed that the titer of virulent NDV was decreased 2.5 Log 10 and 3.5 Log 10 when treated with ultrasound at the frequency 14 Amplitude (AM) and 22 (AM) respectively but the vaccinal NDV was less affected. Both viruses were lost their HA activity completely at 22 (AM) for one minute.

### المقدمة

يعتبر ضوء الشمس هو المصدر الأساس الأولي للأشعة للفوق البنفسجية في الطبيعة وان الطول الموجي لهذه الأشعة يتراوح بين 1- 380 نانوميتر (1) وان لطول موجي الأكثر فعالية لتثبيط الفيروسات هو 260 نانوميتر (2) وفي مجال الدراسات المختبرية البايولوجية تستخدم مصادر الضوء التي تنبعث منها أشعة كهرومغناطيسية بطول موجي اقصر من الضوء المرئي يتراوح بين 180- 380 نانوميتر وتختلف درجة تأثير هذه الأشعة حسب نوع الأحياء المجهرية المستخدمة فقد لوحظ ان فيروس داء الكلب يكون حساس جدا للطول الموجي 180 نانوميتر بينما الجراثيم والميكوبلازما تكون حساسة للطول الموجي 200 نانوميتر وقد وجد أن كثير من الفيروسات ذات حساسية للتأثير القاتل للأشعة فوق البنفسجية في الطول الموجي 254 نانوميتر (3) لذلك فقد استخدم هذا الطول الموجي في العديد من الدراسات البايولوجية بأن هذا الطول الموجي لا يصل إلى سطح الأرض ضمن الأشعة فوق البنفسجية بفضل طبقة الأوزون (4).

إن آلية عمل الأشعة فوق البنفسجية على الأحياء المجهرية يكون من خلال ما تحدثه هذه الأشعة من تلف للحامض النووي DNA للخلايا بشكل عام بسبب تكوينها كيان البيريمدين (cyclobutane pyrimidine dimers) (5) وتكون هذه الكيان مع قاعدة النايامين بشكل خاص (6) وقد وجد أن حساسية الفيروسات التي حامضها النووي من نوع DNA ناسون أكثر تأثرا من الفيروسات ذات الحامض النووي RNA عند تعرضها للأشعة فوق البنفسجية (7). وقد وجد أن فيروس النيوكاسل يتحطم عند تعرضه للأشعة فوق البنفسجية خلال فترة محدودة بالرغم من كون حامضه النووي من نوع RNA (8).

أما تأثير الأمواج فوق الصوتية فقد درست تأثيراتها على فيروس النيوكاسل بترددات مختلفة وأوقات تعريض متغيرة وقد وجد أن التردد ٢٦ مايكرون في فترة ٣٠ ثانية أدى إلى فقدان قابلية الفيروس على إحداث التلازن الدموي بشكل كامل، بينما انخفض معيار التلازن الدموي بمقدار 2 Log عند استخدام تردد ١٠ مايكرون لمدة دقيقة واحدة وقد ثبتت نتائج هذه الدراسة مع نوع العتر الفيروسي المستخدمة (٩). لذلك فقد أجريت هذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير الأشعة فوق البنفسجية والأمواج فوق الصوتية على فيروس النيوكاسل بنوعيه الضاري واللقاحي كمرحلة أولى وصولاً إلى إمكانية الاستعادة من هذه الوسائل المؤثرة على الفيروس للحصول على فيروس ذو صفات تمكن من الاستعادة منها كبنرات لقاحية مستقلة.

### المواد وطرائق العمل

أولاً: الفيروسات المستخدمة:

١. فيروس النيوكاسل الضاري (عزلة محلية) تم الحصول عليه من مختبر

الفيروسات، كلية الطب البيطري - جامعة الموصل.

٢. فيروس النيوكاسل عترة لقاحية (شركة سيفا الفرنسية).

ثانياً: تأثير الأشعة فوق البنفسجية: تم استخدام مصدر ضوئي مختبري خاص لإنتاج

الأشعة فوق البنفسجية بنوعين من الطول الموجي أحدهما ٢٥٤ نانوميتر والأخر

٣٦٦ نانوميتر وعرض لهما كلا الفيروسين وبمسافة ١٠ سم لمدة ساعة كاملة حسب

الطريقة التي ذكرها (٤)، بينما تركت نماذج السيطرة في نفس الظروف باستثناء عدم

تعريضها للأشعة فوق البنفسجية.

ثالثاً: تأثير الأمواج فوق الصوتية: تم استخدام جهاز خاص لإصدار الأمواج فوق الصوتية

من نوع (Soniprep 150, MSE .CO .England) واستخدم للتردد (AM) :

Amplitude microns (AM) ، ٢٢ ولمدة دقيقة واحدة لكلا الفيروسين

وحسب الطريقة التي ذكرها (٩).

رابعاً: الاختبارات المستخدمة للكشف عن تأثير الأشعة فوق البنفسجية والأمواج فوق

الصوتية على الفيروسات.

١- قياس المعيار الحجمي للفيروسات في أجنة بيض الدجاج المخصب ( خمسة أجنة لابل

تخفيف ) قبل وبعد معاملته بالأشعة فوق البنفسجية والأمواج فوق الصوتية حسب

الطريقة التي ذكرها (١٠).

٢- استخدام اختبار التلازن الدموي المباشر لكريات لحم الحمراء للدواجن للكشف عن تأثير فعالية الفايروسات لتلازن تلك الكريات قبل وبعد معاملتها بالأشعة فوق البنفسجية والأمواج فوق الصوتية حسب الطريقة التي ذكرها (١٠).

### النتائج

١- نتائج تأثير الأشعة فوق البنفسجية على الفيروس:

لوحظ تأثير الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي ٢٥٤ نانوميتر الطول الموجي ٣٦٦ نانوميتر حيث انخفض معيار فيروس النيوكاسل الضاري بمقدار  $1.5 \text{ Log}$  10، على التوالي بينما كان هذا التأثير اقل وضوحاً مع الفايروس النيوكاسل اللقاحي حيث انخفض المعيار بمقدار  $1 \text{ Log}$  10،  $0.6 \text{ Log}$  10 على التوالي أيضاً بالمقارنة مع مجموعة السيطرة باستخدام قياس معيار الفايروس في أجب بيض للدجاج المخصب (خمسة أجنة لكل تخفيف) جدول (١). أما فعالية التلازن الدموي للفايروسات فقد تئثرت بفعل الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي ٢٥٤ نانوميتر، ٣٦٦ نانوميتر حيث انخفض معيار التلازن لفايروس النيوكاسل الضاري بمقدار  $1 \text{ Log}$  لكلا الطولين الموجيين بينما معيار فيروس النيوكاسل اللقاحي بمقدار  $2 \text{ Log}$  عند الطول الموجي ٢٥٤ نانوميتر فيما لم يتغير المعيار عند الطول للموجي ٣٦٦ نانوميتر جدول (٢).

٢- نتائج تأثير الذبذبات فوق الصوتية على الفيروس: لوحظ تأثير الذبذبات فوق الصوتية على حيوية فيروس النيوكاسل الضاري حيث انخفض معياره بمقدار  $2.5 \text{ Log}$  10،  $3.5 \text{ Log}$  10 عند استخدام الترددات 14AM، 22AM على التوالي بينما كان هذا التأثير اقل في حالة فيروس النيوكاسل اللقاحي حيث انخفض معيار الفايروس بمقدار  $2 \text{ Log}$  10،  $3 \text{ Log}$  10 عند استخدام الترددات 14AM، 22AM لمدة دقيقة واحدة على التوالي، جدول (٣).

أما فعالية التلازن الدموي للفايروسات فقد كان للذبذبات فوق الصوتية تأثير واضح على كلا الفيروسين الضاري واللقاحي حيث فقدت هذه الفيروسات قابليتها على التلازن بشكل كامل عند استخدام التردد 22AM لمدة دقيقة واحدة بينما انخفض معيار التلازن بمقدار  $4 \text{ Log}$  10 عند استخدام التردد 14AM لمدة دقيقة واحدة لكلا الفيروسين الضاري واللقاحي، جدول (٤).

جدول ١: تأثير الأشعة فوق البنفسجية على المعيار الحجمي للفيروس

المعيار الحجمي للفايروس EID <sub>50</sub> /0.1 ml			نوع الفيروس
الطول الموجي ٣٦٦ نانوميتر	الطول الموجي ٢٥٤ نانوميتر	السيطرة	
10 <sup>-3.3</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6.5</sup>	فيروس النبيوكاسل الضاري
10 <sup>-6.9</sup>	10 <sup>6.5</sup>	10 <sup>7.5</sup>	فيروس النبيوكاسل اللقاحي

جدول ٢: تأثير الأشعة فوق البنفسجية على خاصية التلازن الدموي

معيار التلازن الدموي HA Log2			نوع الفيروس
الطول الموجي ٣٦٦ نانوميتر	الطول الموجي ٢٥٤ نانوميتر	السيطرة	
6	6	7	فيروس النبيوكاسل الضاري
8	7	8	فيروس النبيوكاسل اللقاحي

جدول 3: تأثير الذبذبات فوق الصوتية على المعيار الحجمي للفايروس

المعيار الحجمي للفايروس $FD_{50}/0.1 \text{ ml}$			نوع الفيروس
التردد 22AM	التردد 14 AM	السيطرة	
$10^1$	$10^4$	$10^{6.5}$	فيروس النبيوكاسل الضاري
$10^{4.5}$	$10^{5.5}$	$10^{7.5}$	فيروس النبيوكاسل التقاضي

جدول 4: تأثير الذبذبات فوق الصوتية على خاصية التلازن الدموي

معيار التلازن الدموي $HA \text{ Log}_2$			نوع الفيروس
التردد 22AM	التردد 14AM	السيطرة	
0	3	7	فيروس النبيوكاسل الضاري
0	4	8	فيروس النبيوكاسل التقاضي

### المناقشة

تعتبر دراسة تأثير الأشعة فوق البنفسجية والذبذبات فوق الصوتية على الفيروسات ذات أهمية كبيرة حيث أن الفيروسات كما هو معروف لا تتأثر بالمضادات الحيوية والمسود الكيميائية لذلك يمكن أن تعطي دراسة المؤثرات الفيزيائية بديلا مناسباً للسيطرة على الفيروسات ومنع انتقالها عبر عمليات نقل الدم والسوائل البيولوجية الأخرى الملوثة بالفيروسات (11) كما يمكن الاستفادة من هذه الدراسة لمتابعة إمكانية استخدام المؤثرات الفيزيائية كعوامل مطهرة تمكن من الحصول على طفرات فيروسية تصلح أن تكون بذرات نقاحية بعد فقدانها للضراوة خصوصا وأن نتائج هذه الدراسة تشير أن العوامل المدروسة لها تأثير ملحوظ على حيوية ونشاط فيروس الضاري أكثر من تأثيرها على الفيروس اللقاحي وهذا يتفق مع ما ذكره (9). وكان للطول الموجي 254 نانوميتر للأشعة فوق البنفسجية تأثير أوضح من الطول الموجي 366 نانوميتر وهذا يتفق مع (12). الذي ذكر أن الطول الموجي كلما كان أقل من 280 نانوميتر كان ذو فعالية تهييضية للفيروس أكثر من الطول الموجي 320 نانوميتر الذي استخدمه في تجريبته. وقد استخدمت طريقة قياس المعيار الحجمي للفيروس لمعرفة تأثير حيوية الفيروس بعد معاملته بالمؤثرات الفيزيائية وتعتبر هذه الطريقة مفضلة للكشف عن تأثير حيوية الفيروس حيث ظهر هذا التأثير بانخفاض المعيار بمقدار تراوح بين  $2 \log 10 - 3.5 \log 10$  وهذا يتفق مع ما ذكره (13) عندما لاحظ أن مقدار الانخفاض في معيار الفيروس المعامل بالأشعة فوق البنفسجية كان  $4 \log 10$ . كما أن تعريض الفيروس للأشعة فوق البنفسجية لمدة ساعة واحدة تثير كافية لإظهار التأثيرات الحيوية على الفيروس وهذا ما ذكره (14) عندما استخدم أنوع مختلفة من الفيروسات وعرضها لمدة ساعة واحدة للأشعة فوق البنفسجية. أما تأثير الذبذبات فوق الصوتية فقد كان أكثر وضوحا على كلا الفيروسين الضاري واللقاحي ويتناسب هذا التأثير طرديا مع زيادة التردد المستخدم. كما أن خاصية السلازن الدموي تأثرت بشكل واضح عندما فقد كلا الفيروسين قابليتهما للسلازن الدموي عند استخدام التردد 22AM مما يدل على تأثير الذبذبات فوق الصوتية على الملزونات الدموية وتحطيمها وهذا يتفق مع ما ذكره (9).

### المصادر

- 1- Ireland W, Sacher R. The angular distribution of solar ultraviolet from cloudless skies. Photochem, Photobiol 1996; 63: 483-486.
- 2- Rautin AM. The physical state of viral nucleic acid and the sensitivity of viruses to ultraviolet light. Biophys J 1965; 5: 257-273.

- 3- Furuse K, Watanabe I. Effect of ultraviolet (UV) irradiation on RNA phages in H2o and D2o. *Virology* 1971; 46: 171-172.
- 4- Lytle C, Sagripanti J. Predicated inactivation of viruses of relevance to biodefense by solar radiation. *J Virol* 2005; 79(22): 14244-14252.
- 5- Mastsumura Y, Ananthaswamy H. Toxic effects of U.V. radiation on the skin. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004; 195(3): 298-308.
- 6- Friedberg EC, Walker GC, Siede W. DNA repair and mutageneses. ASM Press Wash ngtor. DC 1995.
- 7- Vander EB, Cohen JA. The effect of U.V. irradiation on the plaque forming ability of single and double- strand polyoma virus DNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1967; 28: 2.
- 8- Saif Y. Disease of poultry, 11<sup>th</sup> Edition. Iowa State Press, Blackwell Publishing Co 2003; pp: 66.
- ٩- عبد الموجود، عامر عبد الحق احمد. تضعيف عزرات مرض التوبوكامل المعزولة محليا مع دراسة مناعية. رسالة ماجستير- كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، ١٩٩٠.
- 10- Revocazo GC, Burke CN. A manual of basic virological technique .1973. Prentice-Hall, Inc. Englewood cliffs, New jersey: pp: 87.
- 11- Stephan W. Inactivation of hepatitis viruses and HIV in plasma and plasma derivatives by treatment with Beta-propiolactone / U.V. Irradiation. *Curr Stud Hematol Blood Transfus* 1989; 56: 122-127.
- 12- Harts H, Reid K, Harts W. Inactivation of viruses during ultraviolet light treatment of human intravenous immunoglobulin and albumin. *Vox Sang* 1993; 64(2): 82-88.
- 13- Wang J, Mauser A, Chao SF ,Remingtone K, Treckmann R, Kailer K, Pifat D, Hota J. Virus inactivation and protein recovery in a novel ultraviolet-C reactor. *Vox Sang* 2004 ; 4:230-238.
- 14- Chang PS, Chen J, Wang YC. The effect of ultraviolet irradiation ,heat , PH, ozone, salinity and chemical disinfectants on the infectivity of White spot syndrome baculovirus. *Aquaculture* 1998; 166(1-2): 1-17.