Effect of inactive Rabies virus vaccine on hematological Parameters in species *Roussettus aegyptiotiacus*

Dr. Nahla Ibrahim *
Dr. Anwar Al-Omar**
Yara Ramadan***

(Received 30 / 12 / 2019. Accepted 3 / 6 /2020)

□ ABSTRACT □

The research aimed to study the immune response of species *Roussettus aegyptiacus* (family Pteropodidae) against Rabies virus. We used adult animals randomly: inactive virus with a main dose and two supportive doses in the third and tenth days, after that we compared the total number of red and white blood cells. We studied the formula of white blood cells and the total protein concentration before and during the experiment. The result showsd:

- Significant increase in red blood cell (RBC) counts.
- Significant increase in leukocytes and lymphocytes proportion in tenth day and significant decrease in fourteenth day.
- Significant decrease in Neutrophils and Monocytes percentage ratios after doses compared with control.
- No significant differences between basophiles and eosinophile percentage ratios after the doses.
- Increased of total protein concentration after doses in the day ten of the experiment compared with control.

Keywords: *Roussettus aegyptiacus*, inactive virus, Rabies, immune response.

*Associate Professor - Department of Zoology - Faculty of Science - Tishreen University - Lattakia-Syria
**Professor _ Faculty of Science - Al-Baath University - Homs - Syria..
***Postgraduate Student - Department of Zoology - College of Science - Tishreen University - Lattakia - Syria.
www.alramadanyara@gmail.com

دراسة تأثير لقاح الكلب الخامل على بعض المؤثرات الدموية للخفاش *Roussettus aegyptiacus*

الدكتورة نهلة إبراهيم*
الدكتور أنور العمر**
يارا الرمضان***

(تاريخ الإيداع 30 / 12 / 2019. قبل للنشر في 3 / 6 / 2020)

□ ملخّص □

تم إجراء هذا البحث لدراسة الاستجابة المناعية للخفاش *Roussettus aegyptiacus* الذي ينتمي لفصيلة Pteropodidae اتجاه فيروس داء الكلب، استخدمت الحيوانات البالغة بشكل عشوائي، تم استخدام الفيروس الخامل بجرعة رئيسية وجرعتين داعمتين خلال الأيام 3 و7 وقمنا بمقارنة العدد الكلي لكريات الدم الحمر والبيض، ودراسة الصيغة الدموية وقياس التركيز الكلي للبروتين في بلازما الدم قبل وبعد الجرعات وخلال مراحل التجربة، وتبين:

1- وجود زيادة معنوية في تعداد الكريات الحمر.

2-ارتفاع تعداد الكريات البيض ونسبة الكريات البيض اللمفية في اليوم العاشر، وانخفاضها في اليوم الرابع عشر للتجربة.

3-انخفاض نسب الكريات البيض المعتدلة ووحيدة النوى بعد الجرعات مقارنة بالمجموعة الشاهدة.

4-عدم وجود أية فروقات معنوية بين نسب الكريات البيض الحامضية والأساسية بعد الجرعات.

5-ارتفاع التركيز الكلي للبروتين في اليوم العاشر للتجربة.

الكلمات المفتاحية: *Roussettus aegyptiacus*، داء الكلب، الاستجابة المناعية.

* أستاذ مساعد –قسم علم الحيوان – كلية العلوم –جامعة تشرين–اللاذقية–سورية.
** أستاذ _ كلية العلوم – جامعة البعث – حمص–سورية.
*** طالبة دراسات عليا(ماجستير) –قسم علم الحيوان – كلية العلوم –جامعة تشرين –اللاذقية–سورية.
www.alramadanyara@gmail.com

مقدمة:

يعد خفاش الفاكهة المصري نوعاً واسع الانتشار في سوريا حيث تم رصد العديد من التسجيلات له معظمها مرتبطة بالدراسات في البلدان المجاورة كالأردن ومرتفعات الجولان ووادي نهر اليرموك (Benda *et al*., 2010) وآخر دراسة لهذا الخفاش في سوريا كانت على مستعمرة ضخمة في وادي العاصي (Shehab & Mamkhair, 2004). وهو من الأنواع الإفريقية التي انتشرت شمالاً حتى قبرص وسوريا وتركيا، يتغذى خفاش الفاكهة المصري على الفاكهة ويطير لمسافات طويلة من الكهوف إلى المزارع والحقول، يمكن التعرف عليه بسهولة نظراً لكبر حجمه، شكل الرأس المميز، سلوك التغذية وأيضاً أسلوب الطيران البطيء المشابه لطيران العصافير، يسكن في الكهوف ويغادرها بعد غروب الشمس للتغذي على النباتات والأشجار المثمرة، ويستخدم هذا النوع ترددات منتظمة لتحديد الموقع بالصدى بين 10-60 KHz (Middleton & Nicolaou, 2006).

تشكل الخفافيش حاضنة طبيعية لأكثر من 100 نوع من الفيروسات بعضها مميتٌ للبشر، من بينها فيروس متلازمة الشرق الأوسط التنفسية، فيروس إيبولا، فيروس داء الكلب، تعود هذه المناعة ضد الفيروسات تحديداً لدور الانترفيرونات Interferons التي تعمل كمتممات في الاستجابة المناعية الفطرية لدى الخفافيش، فخلافاً للبشر تمتلك الخفافيش فقط 3 أنواع من الانترفيرونات وهذا يشكل تقريباً ربع العدد الموجود لدى الإنسان، وبعكس الثدييات التي تنشط لديها أجهزة المناعة بعد العدوى فقط، يبقى الانترفيرون ألفا عند الخفافيش فعالاً بشكل دائم حتى في حال عدم التعرض للفيروسات؛ مما يسمح باستجابة فعالة وسريعة ودائمة، في حين أن استمرارية الفعاليات المناعية في أنواع أخرى كالإنسان أو الفئران تسبب السميّة للخلايا والأنسجة (Zhou, 2016).

غالبًا ما تكون فروقات أعداد الكريات البيض غير محددة، إلا أنها تعكس استجابة الكائن الحي لأي تأثير كمختلف العوامل الدموية والمرضية، حيث تتأثر بعوامل مختلفة مثل العمر والجنس والحالة الإنجابية بسبب اختلاف العمليات الاستقلابية للجسم، وكذلك بتغير العوامل الخارجية كالموسم، الوقت من اليوم، البيئة، توافر الطعام وجودته (Paksuz *et al*., 2009).

تمت دراسة الصيغة الدموية CBC وتعداد الكريات البيض WBC للخفافيش بعد حقنها بعدة أنواع من الفيروسات وملاحظة ازدياد عدد الكريات البيض في أنواع مختلفة من الخفافيش خلال الأيام اللاحقة لعملية الحقن مع بقاء أعداد الكريات الحمر والصفيحات الدموية ثابتة (Jones *et al*., 2015).

أجريت دراسة لقيمة الهيماتوكريت وتعداد الكريات البيض في دماء عدة أنواع للخفافيش في الحالة الطبيعية وتحديد أشكال وأحجام الكريات البيض وبينت الدراسة ارتفاع هذه القيم لدى أفراد فصيلة Molossus بشكل عام (Schinnerl *et al*., 2011).

يؤكد Schountz,2014 اختلاف أنماط الأضداد IgGبين الأنواع المختلفة من الخفافيش فمثلاً هناك نمط وحيد من الـ IgG عند خفاش *Carollia perspicillata* بينما يوجد ثلاثة أنماط عند الخفاش *Eptesicus fuscus* وخمسة لدى الخفاش *Myotis lucifugus*(Schountz, 2014).

وتعود مناعة الخفافيش أيضاً إلى أن الخفافيش تطورت على مدى ملايين السنين، وتطورت العديد من الفيروسات معها، بالإضافة إلى دور السبات الشتوي في حفظ هذه الفيروسات (Calisher *et al*., 2006).

العامل المسبب لداء الكلب هو فيروس الكلب Rabies virues الذي ينتمي لجنس الفيروسات الكَلَبِيَّة، فصيلة الفيروسات الربدية Rhabdoviridae. ويوجد نمطين رئيسيين لمرض التهاب الدماغ الفيروسي (داء الكلب) حسب الأعراض السريرية للمرحلة العصبية الحادة هما داء الكلب الكلاسيكي الحاد، وداء الكلب غير الكلاسيكي والذي تنقله الخفافيش غالباً.

يعتبر الكلب الناقل الرئيسي للمرض فيما تعد رتبة الخفاشيات مضيفاً لستة من أصل سبعة أنماط وراثية للفيروسات الكلبية، يحدث الانتقال الفيروسي بشكل رئيسي عن طريق لدغة (عضة) الحيوانات، وبمجرد أن يلامس الفيروس الجروح الطرفية، يتم توجيهه نحو الجهاز العصبي المركزي.

تعد فترة حضانة فيروس الكلب هي الأكثر تفاوتاً بين الأمراض الفيروسية التي تصيب الجهاز العصبي المركزي، الفترة الأكثر شيوعا هي 2-1 أشهر ولكن النطاق الفعلي ما بين أقل من 7 أيام إلى أكثر من 6 سنوات (Hemachudha *et al*., 2002).

أهمية البحث وأهدافه:

تتبع أهمية البحث من دراسة الاستجابة المناعية للخفاش *Roussettus aegyptiacus* لداء الكلب مما سيشكل إضافة مهمة حول هذه الاستجابة، وتحديد قدرته المناعية بما يحقق إمكانية الاستفادة من هذه المعلومات وتطبيقاتها على المستويات البيئية والطبية والوقائية ويهدف هذا البحث إلى دراسة الصيغة الدموية والعد الكلي للكريات البيض والحمر وقياس تركيز البروتين الكلي للنوع المقترح للدراسة قبل وبعد التجريع.

طرائق البحث ومواده:

تم في هذا البحث دراسة تأثير لقاح الكلب الخامل Inactive Rabies vaccine على الخفاش آكل الفاكهة *Roussettus aegyptiacus*، مُنعت الحيوانات بـ 100µm من لقاح الكلب الخامل المخفف بمحلول Phosphate-buffered saline بنسبة 1:9 عن طريق الفم خلال الأيام 0,3,7 وسُحب منها الدم قبل التجريع وفي الأيام العاشر والرابع عشر (Brigges *et al*., 2000) وإجراء العد الكلي للكريات الحمر والبيض والصيغة الدموية وقياس تركيز البروتين الكلي في البلازما والمقارنة مع المجموعة الشاهدة.

1- المواد:

i. حيوانات التجربة:

تم اصطياد الخفافيش باستخدام الشباك من نفس المنطقة لمراعاة تشابه الظروف المعيشية، مغارة الدوار–قرية كفر صنيف–صافيتا–محافظة طرطوس، ووضعت في أقفاص بأبعاد 100*75 cm في قبو كلية العلوم بجامعة تشرين بجو رطب ودرجة حرارة معتدلة، وتم تحديد المتطلبات الغذائية للنوع قبل البدء بالتجربة.

ii. مواد البحث:

1- أقفاص، ميزان حراري، أدوات تشريح.

2- شرائح زجاجية، شركة E.S.L.C الصينية، سواتر زجاجية، مجهر ضوئي.

3- إبر سحب دم، عبوات حفظ الدم DDTA، صبغات جيمزا ورايت.

4- أنابيب زجاجية، مثفلة، بروتين كلي نقي Total protein ذو تركيز 0.695 g/ml، كاشف البيوريت Biuret (reagent) إنتاج شركة BIOSYSTEMS S.A إسبانيا.

5- جهاز مقياس الطيف الضوئي (Spectrophotometer) شركة Shimadzu موديل 1700.

6- لقاح الكلب الخامل (شركة بيوفيتا)، محلول تخفيف Phosphate-buffered saline.

تصميم التجربة:

استخدم 15 خفاش، وزعت بشكل عشوائي إلى 3مجموعات:

المجموعة الأولى (الشاهدة): تضم 5 خفافيش تم سحب الدم منها مباشرة.

المجموعة الثانية: تضم 5 خفافيش، جُرّعت بـ 100µm من لقاح الكلب الخامل في اليوم الأساسي (اليوم صفر) وبجرعتين داعمتين في الأيام 3,7 وتم سحب الدم منها في اليوم العاشر.

المجموعة الثالثة: تضم 5 خفافيش، جُرّعت بـ 100µm من لقاح الكلب الخامل في اليوم الأساسي (اليوم صفر) وبجرعتين داعمتين في الأيام 3,7 وتم سحب الدم منها في اليوم الرابع عشر.

تم سحب الدم من القلب مباشرة وحفظه في أنابيب حفظ الدم (مانعة تخثر) لحين العد، تم استخدام طريقة العد اليدوي للكريات البيض والحمر، والعد التفريقي باستخدام ملون رايت.

تعداد الكريات الدموية الحمر:

تم استخدام الماصة الخاصة بتعداد الكريات الدموية الحمر، تم سحب الدم حتى العلامة 0.5 والإكمال بسائل التمديد (هايم) حتى العلامة 101، يرج السائل جيداً ثم توضع قطرة على عدادة نيوبار ويتم العد تحت المجهر باستخدام التكبير X40.

تعداد الكريات الدموية البيض:

تم سحب الدم باستخدام الماصة الخاصة بتعداد الكريات البيض حتى العلامة 0.5 والإكمال بسائل التمديد (ترك) حتى العلامة 11، ترجّ الماصة ثم توضع قطرة على عدادة نيوبار ويتم العد بعد دقيقة باستخدام التكبير X10.

استخدمت طريقة (Dacie and Lewis,1984).

صيغة الكريات البيض:

اعتمدت طريقة (Dacie and Lewis,1984)، تحضر المسحة الدموية على شريحة زجاجية وبعد أن تجف، تلون بملون رايت، وبعد أن تجف لمدة دقيقتين تعالج بالمحلول الموقي، وتغسل بالماء المقطر ثم يتم عد 100 كرية بيضاء باستخدام العدسة الغاطسة، وتصنف وتحسب النسبة المئوية لكل نوع من الكريات البيض.

قياس التركيز الكلي للبروتين: ثفل الدم بسرعة 4000 دورة/د لمدة 7 دقائق، وبعد فصل البلازما تم قياس تركيز البروتين الكلي بواسطة جهاز مقياس الطيف الضوئي (Spectrophotometer) شركة Shimadzu موديل 1700، باستخدام طريقة المعايرة اللونية بكاشف البيوريت (Biuret reagent) على طول الموجة 545 nm، وفق الطريقة:

1. يوضع في الأنبوب 1ml من كاشف البيوريت ويضبط عليها جهاز مقياس الطيف لحذف امتصاصية الكاشف.
2. يحضر المحلول العياري بإضافة 20ul من البروتين الكلي النقي معروف التركيز إلى 1ml من كاشف البيوريت وتحدد امتصاصية المحلول.
3. يضاف 20ul من العينة إلى 1ml من الكاشف وتترك عشر دقائق (يتناسب تركيز البروتين طرداً مع اللون بين الأزرق والبنفسجي).

4. تقرأ الامتصاصية على طول الموجة 545nm (تتناسب الامتصاصية طرداً مع تركز البروتين في العينة).
يحسب تركيز البروتين من القانون: تركيز البروتين = (امتصاصية العينة/ امتصاصية العياري) * تركيز العياري
اعتمدت طريقة (Lubran and Michael,1978) لقياس تركيز البروتين باستخدام كاشف البيوريت.

2-التحليل الاحصائي:

تم استخدام برنامج SPSS لإجراء التحاليل الإحصائية وتم حساب التباين ANOVA ووضع علامة * في حال وجود فروق معنوية بين المتوسطات، وتم استخدام اختبار Tukey عند مستوى معنوية 5% كما تم استخدام برنامج Excel للرسم البياني.

النتائج والمناقشة:

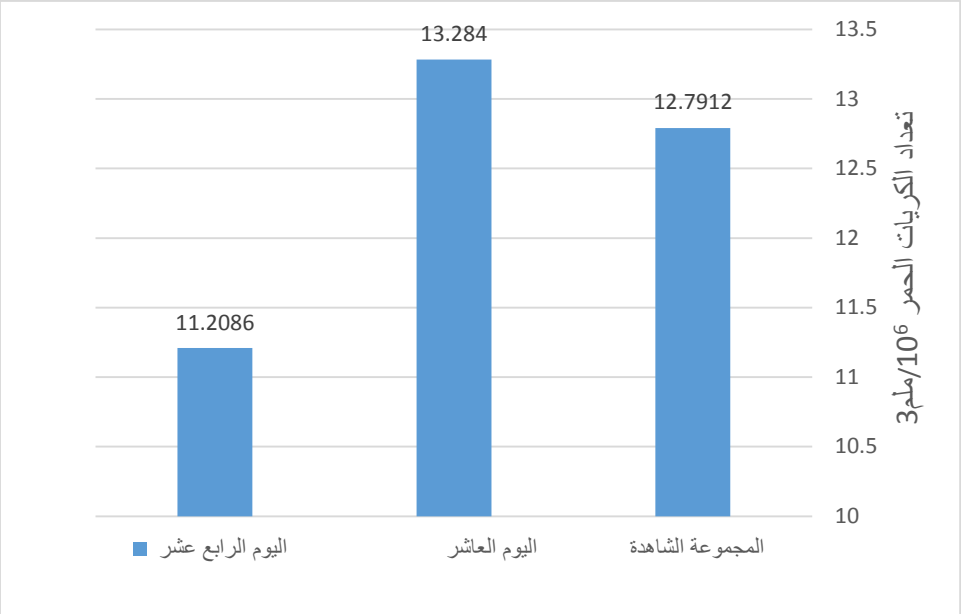
1- الكريات الحمر:

بين تبين لنا من اختبار ANOVA وجود فرق معنوي بين متوسطات المجموعات الثلاث حيث (Sig= 0.008**) وعند إجراء اختبار Tukey لمعرفة معنوية القراءات بين أي مجموعتين تبين لنا وجود فرق معنوي كبير جداً بين نتائج المجموعة الشاهدة ونتائج مجموعة اليوم العاشر(Sig=0.008**) ووجود فرق معنوي بين نتائج المجموعة الشاهدة ونتائج مجموعة اليوم الرابع عشر (Sig=0.039*) في حين تبين عدم وجود فرق معنوي بين نتائج مجموعتي اليوم العاشر واليوم الرابع عشر (Sig=0.666) حيث ازدادت أعداد الكريات الحمر ووصل التعداد إلى 13.2840 مليون كرية حمراء/ملم^3 في اليوم العاشر و12.7912 مليون كرية/ ملم^3 في اليوم الرابع عشر مقارنة مع الشاهد 11.2086 مليون كرية/ ملم^3، الجدول (1) والمخطط (1):

الجدول (1): يبين تأثر تعداد الكريات الحمر لدى للخفاش *Roussettus aegyptiacus*
خلال الأيام العاشر والرابع عشر بعد الحقن بفيروس الكلب الخامل مقارنة بالمجموعة الشاهدة

	مجموعة اليوم الرابع عشر	مجموعة اليوم العاشر	المجموعة الشاهدة	Sig
تعداد الكريات الحمر	12.7912 B	13.2840 B	11.2086 A	0.008**

كل متوسطين لهما حرف مشترك لا يوجد بينهما فرق معنوي وفق اختبار Tukey.



المخطط(1): يبين تأثر تعداد الكريات الحمر لدى الخفاش *Roussettus aegyptiacus*
خلال الأيام العاشر والرابع عشر بعد الحقن بفيروس الكلب الخامل مقارنة بالمجموعة الشاهدة

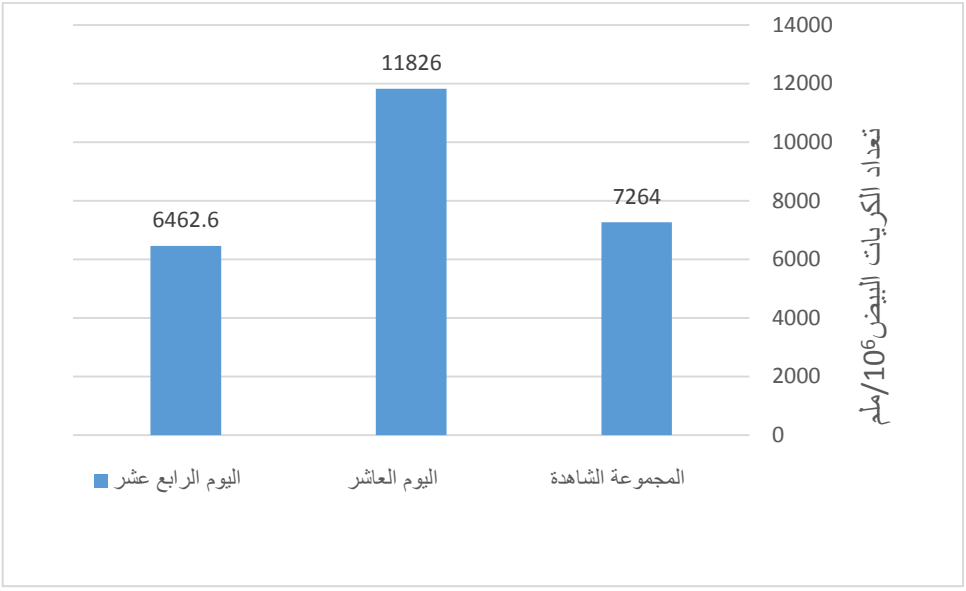
2- تعداد الكريات البيض:

تبين لنا من اختبار ANOVA وجود فرق معنوي بين متوسطات المجموعات الثلاث حيث (Sig= 0.001**) وعند إجراء اختبار Tukey لمعرفة معنوية القراءات بين أي مجموعتين تبين وجود فرق معنوي بين نتائج المجموعة الشاهدة ونتائج اليوم العاشر (Sig=0.002**) وعدم وجود فرق معنوي بين نتائج المجموعة الشاهدة ونتائج مجموعة اليوم الربع عشر (Sig=0.778) بينما أظهرت النتائج وجود فرق معنوي بين مجموعة اليوم العاشر ومجموعة اليوم الرابع عشر (Sig=0.006**) حيث ارتفع تعداد الكريات البيض ووصل إلى 11826 كرية/ ملم^3 في اليوم العاشر وانخفضت حتى وصلت في اليوم الرابع عشر إلى 7264 كرية/ ملم^3 في حين كان المتوسط في المجموعة الشاهدة 6462.6 كرية/ ملم^3، الجدول (2) والمخطط (2):

الجدول (2): يبين تأثر تعداد الكريات البيض لدى الخفاش *Roussettus aegyptiacus*
خلال الأيام العاشر والرابع عشر بعد الحقن بفيروس الكلب الخامل مقارنة بالمجموعة الشاهدة

	مجموعة اليوم الرابع عشر	مجموعة اليوم العاشر	المجموعة الشاهدة	Sig
تعداد الكريات البيض	7264 A	11826 B	6462.6 A	0.001**

كل متوسطين لهما حرف مشترك لا يوجد بينهما فرق معنوي وفق اختبار Tukey.



المخطط (2): يبين تأثر تعداد الكريات البيض لدى الخفاش *Roussettus aegyptiacus*
خلال الأيام العاشر والرابع عشر بعد الحقن بفيروس الكلب الخامل مقارنة بالمجموعة الشاهدة

وهذا يتفق مع دراسة Jones وآخرون حيث تمت دراسة تعداد الكريات الدموية الحمر والبيض للخفافيش بعد حقنها بعدة أنواع من الفيروسات وملاحظة ازدياد عدد الكريات البيض في أنواع مختلفة من الخفافيش خلال الأيام اللاحقة لعملية الحقن ويختلف معه في بقاء أعداد الكريات الحمر ثابتة ونفسر ذلك بازدياد أعداد الكريات الحمر بشكل متلازم مع تنشيط إنتاج كريات الدم الحمر من نقي العظم بعد التجريع بفيروس الكلب (Wynne *et al.*, 2013).

كما توافقت نتائجنا مع نتائج (Westhuyzen,1988) في القيم الطبيعية لأعداد الكرات البيض والحمر للخفاش *Roussettus aegyptiacus*.

أما فيما يتعلق بنسب أنواع الكريات البيض (الصيغة الدموية):

أ- **الكريات البيض اللمفية:**

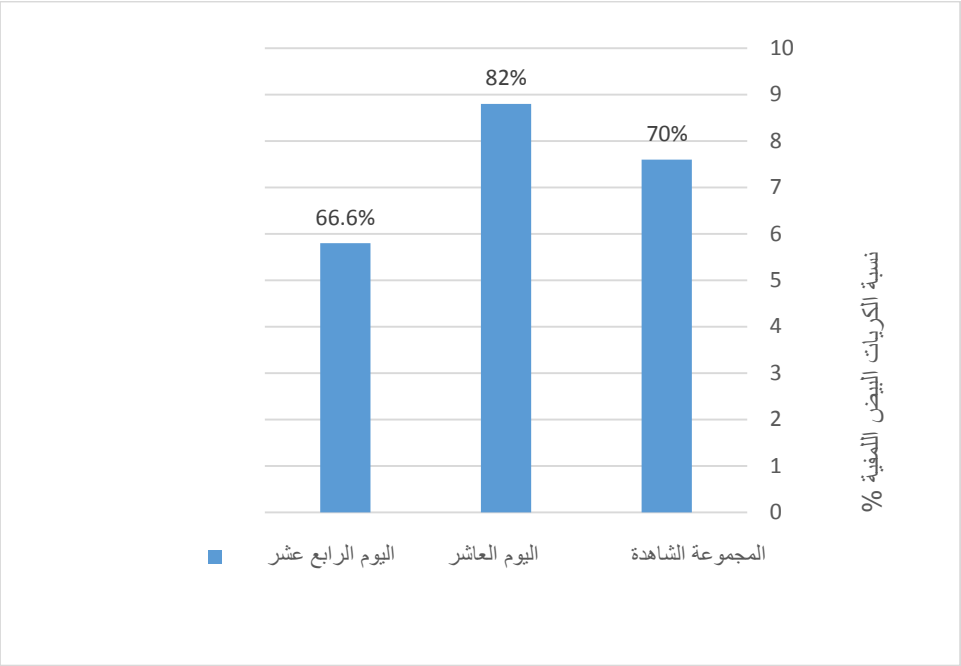
تبين لنا من اختبار ANOVA وجود فرق معنوي كبير جداً بين متوسطات المجموعات الثلاث حيث (Sig= 0.000***) وعند إجراء اختبار Tukey لمعرفة معنوية القراءات بين أي مجموعتين تبين وجود فرق معنوي جداً بين نتائج المجموعة الشاهدة ونتائج اليوم العاشر (Sig=0.000***) ووجود فرق معنوي بين نتائج مجموعة اليوم العاشر ونتائج مجموعة اليوم الرابع عشر (Sig=0.002**)، بينما أظهرت عدم وجود فرق معنوي بين نتائج المجموعة الشاهدة ونتائج مجموعة اليوم الرابع عشر (Sig=0.438) حيث بلغت نسبة الكريات البيض اللمفية في اليوم العاشر 82% وانخفضت حتى 70% مقارنة بالمجموعة الشاهدة 66.6%، الجدول (3) والمخطط (3) والصورة (1).

الجدول (3): يبين تأثر تعداد الكريات البيض اللمفية لدى الخفاش *Roussettus aegyptiacus*
خلال الأيام العاشر والرابع عشر بعد الحقن بفيروس الكلب الخامل مقارنة بالمجموعة الشاهدة

نسب الكريات البيض اللمفية	مجموعة اليوم الرابع عشر	مجموعة اليوم العاشر	المجموعة الشاهدة	Sig
	70%	82%	66.6%	0.000***

	A	B	A	

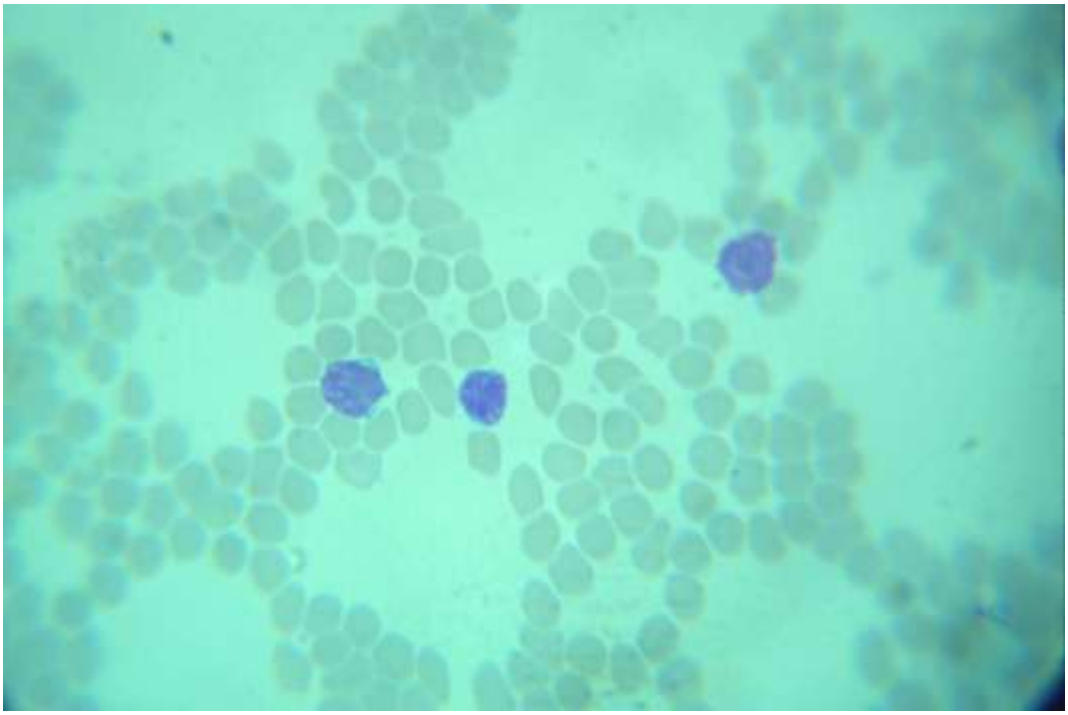
كل متوسطين لهما حرف مشترك لا يوجد بينهما فرق معنوي وفق اختبار Tukey.



المخطط (3): يبين تأثر نسبة الكريات البيض اللمفية لدى الخفاش *Roussettus aegyptiacus* خلال الأيام العاشر والرابع عشر بعد الحقن بفيروس الكلب الخامل مقارنة بالمجموعة الشاهدة

إذ تؤدي استجابة الجهاز المناعي إلى تحفيز انتاج ونضج الخلايا اللمفية وتحولها إلى خلايا بلازمية لإنتاج الأجسام المضادة مما يؤدي الى زيادة عددها وتتوافق دراستنا مع دراسة Chakravarty وSarkar حيث أظهرت دراستهما نسباً مرتفعة من اللمفاويات لدى أنواع مختلفة من الخفافيش بعد تحصينها بـ 25mg من الألبومين البقري مقارنةً بالخلايا البيض القاعدية والحامضية التي كانت بنسب أقل (Chakravarty & Sarkar , 1994).

كما تتقاطع هذه النتيجة مع دراسة (Turmelle *et al*., 2010) حيث أثبتت حدوث تورم وحدوث تجمع وتراكم للكريات البيض واللمفية في أنسجة الخفاش *Tadarida brasiliensis* المحقونة بمحلول بولي هيدروكسيل الكانوتيس (PHA).



الصورة (1): الكريات البيض اللمفية في اليوم العاشر للتجربة X100

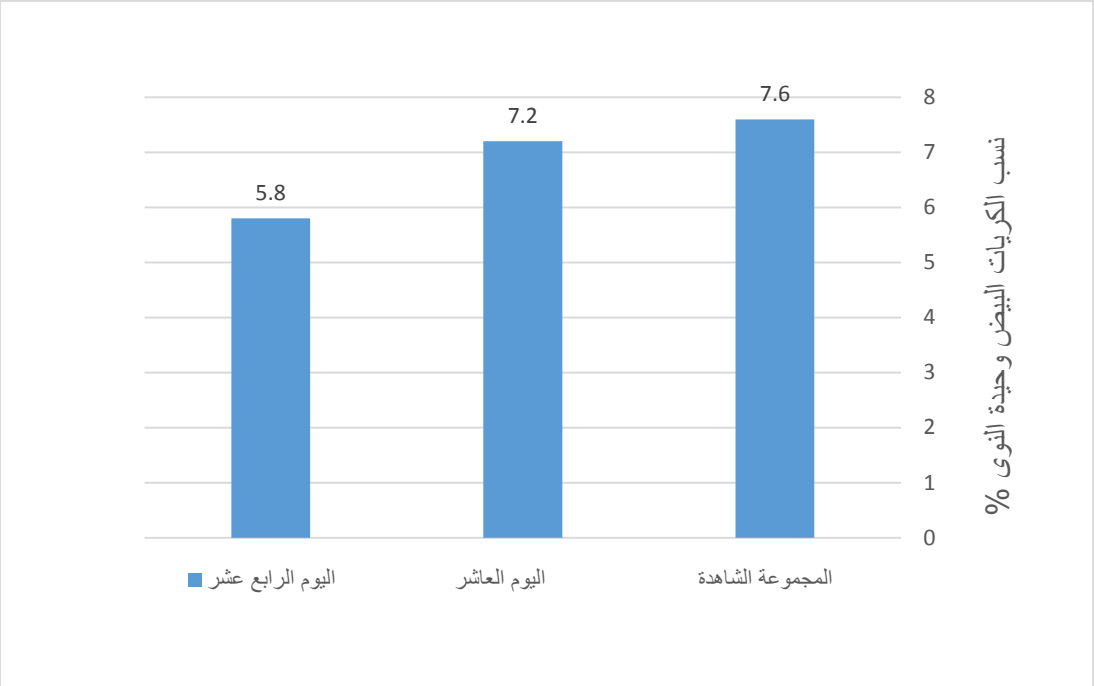
ب- الكريات البيض وحيدة النوى:

تبين لنا من اختبار ANOVA وجود فرق معنوي بين متوسطات المجموعات الثلاث حيث بلغت قيمة (Sig= 0.042*) وعند إجراء اختبار Tukeyتبين وجود فرق معنوي بين نتائج المجموعة الشاهدة ونتائج اليوم الرابع عشر (Sig=0.043*)، بينما لم يظهر فرق معنوي بين نتائج المجموعة الشاهدة ونتائج اليوم العاشر (Sig=0.816)، كما لم يظهر فرق معوي بين نتائج اليوم العاشر ونتائج اليوم الرابع عشر (Sig=0.123)، ويظهر الجدول 4 نسب الكريات البيض وحيدة النوى خلال مراحل التجربة حيث بلغت 7.2% في اليوم العاشر و 5.8% خلال اليوم الرابع عشر مقارنة مع المجموعة الشاهدة 7.6، الجدول (4) والمخطط(4).

الجدول (4): يبين تأثر نسب الكريات وحيدة النوى لدى الخفاش *Roussettus aegyptiacus* خلال الأيام العاشر والرابع عشر بعد الحقن بفيروس الكلب الخامل مقارنة بالمجموعة الشاهدة

نسب الكريات البيض وحيدة النوى	مجموعة اليوم الرابع عشر	مجموعة اليوم العاشر	المجموعة الشاهدة	Sig
	5.8% B	7.2% A	7.6% A	0.042**

كل المتوسطات لا يوجد بينها فرق معنوي وفق اختبارTukey.



المخطط (4): يبين تأثر نسب الكريات وحيدة النوى لدى الخفاش *Roussettus aegyptiacus*
خلال الأيام العاشر والرابع عشر بعد الحقن بفيروس الكلب الخامل مقارنة بالمجموعة الشاهدة

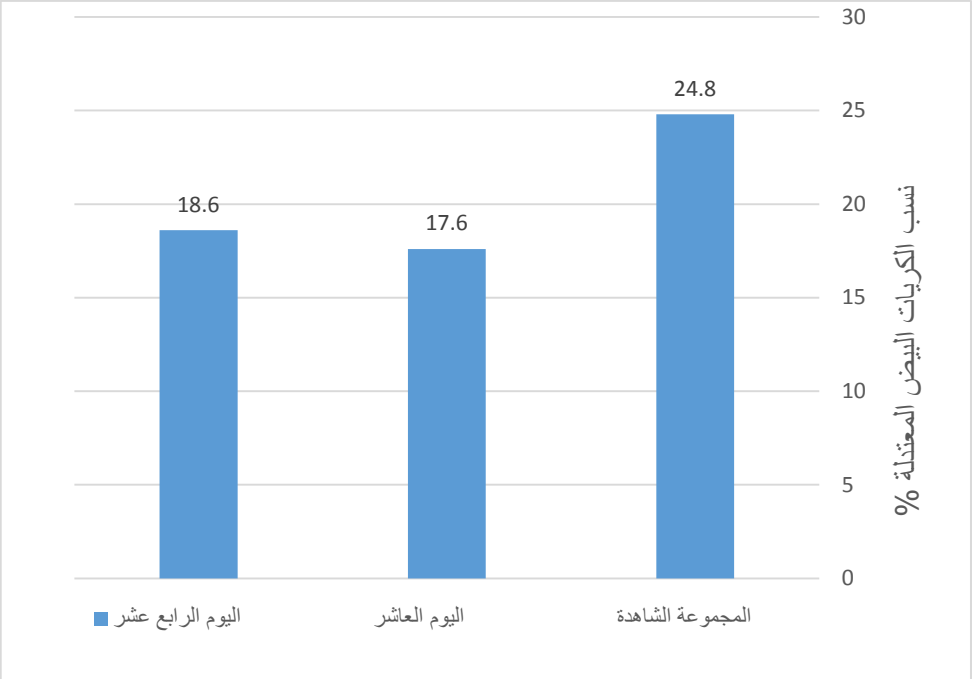
ت- الكريات البيض المعتدلة:

تبين لنا من اختبار ANOVA عدم وجود فرق معنوي بين متوسطات المجموعات الثلاث حيث (Sig= 0.012*) كما أظهر اختبار Tukey وجود فرق معنوي بين نتائج المجموعة الشاهدة ونتائج اليوم العاشر (Sig=0.15*) ووجود فرق معنوي بين نتائج المجموعة الشاهدة ونتائج مجموعة اليوم الرابع عشر (Sig=0.035*)، كما تبين عدم جود فرق معنوي بين نتائج مجموعة اليوم العاشر ونتائج مجموعة اليوم الرابع عشر (Sig=0.889) حيث انخفضت نسبة الكريات البيض المعتدلة في اليوم العاشر إلى 17.6% ثم وصلت إلى 18.6% في اليوم الرابع عشر مقارنة بالمجموعة الشاهدة 24.8%، الجدول (5) والمخطط (5).

الجدول (5): يبين تأثر نسب الكريات البيض المعتدلة لدى الخفاش *Roussettus aegyptiacus*
خلال الأيام العاشر والرابع عشر بعد الحقن بفيروس الكلب الخامل مقارنة بالمجموعة الشاهدة

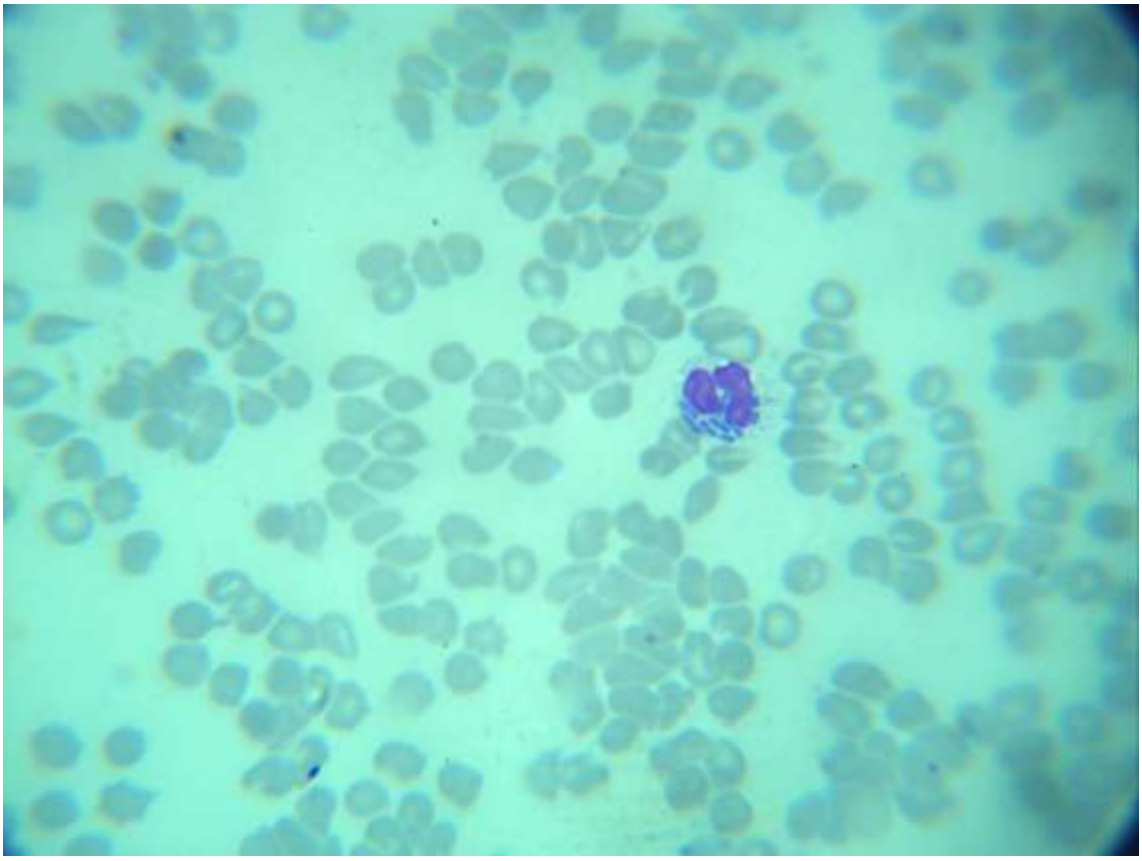
	مجموعة اليوم الرابع عشر	مجموعة اليوم العاشر	المجموعة الشاهدة	Sig
نسبة الكريات البيض المعتدلة	18.6% B	17.6% B	24.8% A	0. 0.012*

كل متوسطين لهما حرف مشترك لا يوجد بينهما فرق معنوي وفق اختبار Tukey.



المخطط (5): يبين تأثر نسب الكريات البيض المعتدلة لدى الخفاش *Roussettus aegyptiacus* خلال الأيام العاشر والرابع عشر بعد الحقن بفيروس الكلب الخامل مقارنة بالمجموعة الشاهدة

ويفسر ذلك بارتفاع نسبة الكريات البيض المعتدلة في الأيام الأولى للالتهاب وانخفاضها في الأيام اللاحقة للإصابة نتيجة الاستجابة المناعية للإصابة الفيروسية اذ تؤدي استجابة الجهاز المناعي حيث تشارك الخلايا المتعادلة والخلايا وحيدة النوى في المناعة الخلوية حيث تقوم ببلعمة والتهام وتحليل الخلايا المصابة وبذلك تقل نسبة هذه الخلايا وتتوافق هذه النتيجة مع (Leliefeld *et al*., 2015) ومع نتيجة (جمعة والعاني،2015)، كرية معتدلة تظهر فيها الجيوب (الفجوات البالعة) والتي تحتوي غالباً على خلايا مصابة يتم تحليلها بأنزيمات الخلية.



الصورة(2): كرية معتدلة تظهر فيها الفجوات الهاضمة X100

الكريات البيض الحامضية والأساسية:

لم تظهر أية فروقات معنوية بين نسب الكريات البيض الحامضية والأساسية بين المجموعات الثلاث وهذا يتوافق مع نتيجة (جمعة والعاني،2015)، في حين أثبتت دراسة (Turmelle *et al*., 2010) وجود كبير للكريات البيض الحامضية والأساسية في أنسجة الجلد للخفاش *Tadarida brasiliensis* المحقون بمحلول PHA ولكن ليس في النسيج الدموي.

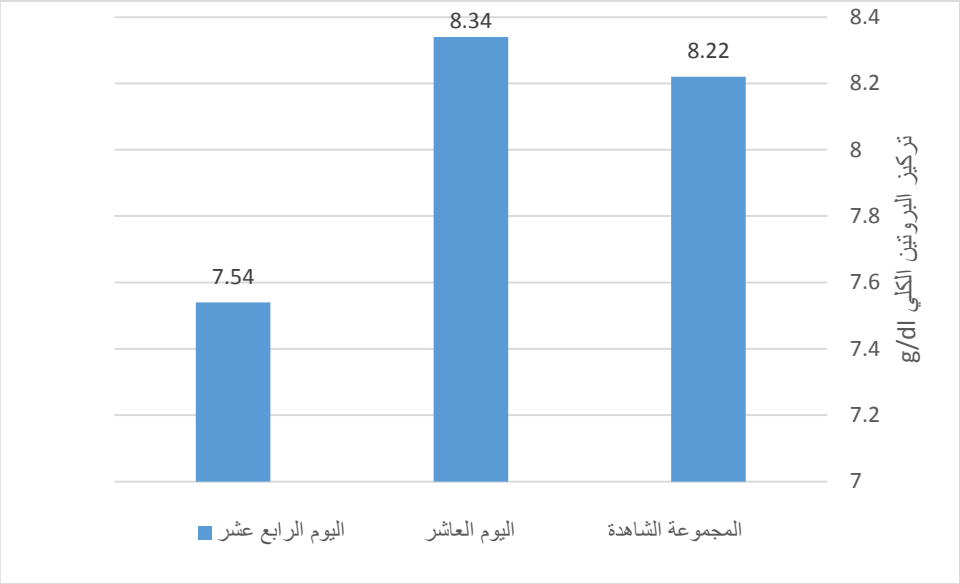
قياس التركيز الكلي للبروتين:

تبين لنا من اختبار ANOVA وجود فرق معنوي بين المجموعات الثلاث حيث (Sig=0.008**) وعند إجراء اختبار Tukey تبين وجود فرق معنوي بين نتائج مجموعة الشاهد ونتائج مجموعة اليوم العاشر (Sig=0.011*) وبين نتائج مجموعة الشاهد ونتائج مجموعة اليوم الرابع عشر (Sig=0.027*)، بينما أظهرت عدم وجود فرق معنوي بين نتائج مجموعة اليوم العاشر ونتائج مجموعة اليوم الرابع عشر (Sig=0.858) حيث بلغ متوسط تركيز البروتين الكلي أعلى قيمة له في اليوم العاشر g/dl 8.340 وفي اليوم الرابع عشر g/dl 8.220 مقارنة بالمجموعة الشاهدة g/dl 7.540.

الجدول(6): يبين تغير تركيز البروتين الكلي الخفاش *Roussettus aegyptiacus*
خلال الأيام العاشر والرابع عشر بعد الحقن بفيروس الكلب الخامل مقارنة بالمجموعة الشاهدة

تركيز البروتين الكلي g/dl	مجموعة اليوم الرابع عشر	مجموعة اليوم العاشر	المجموعة الشاهدة	Sig
	8.220 B	8.340 B	7.540 A	0.008**

كل متوسطين لهما حرف مشترك لا يوجد بينهما فرق معنوي وفق اختبار Tukey.



المخطط(6): يبين تغير تركيز البروتين الكلي للخفاش*Roussettus aegyptiacus*
خلال الأيام العاشر والرابع عشر بعد الحقن بفيروس الكلب الخامل مقارنة بالمجموعة الشاهدة

ويلاحظ ارتفاع تركيز البروتين الكلي في الدم بالتزامن مع ارتفاع نسبة الكريات البيض اللمفية المحرِّضة بفعل الفيروس والتي تنتج الانترفيرون غاما الذي يرفع إنتاج الأجسام المضادة (التي تعتبر السبب الرئيسي لارتفاع تركيز البروتين) عن طرق تنشيط إنتاج الليمفوكينات التي تحرض الخلايا اللمفية B (بيلوني،2007).

الاستنتاجات والتوصيات:

نستنتج من معطيات البحث ما يلي:

1- وجود زيادة معنوية في تعداد الكريات الحمر للخفاش *Roussettus aegyptiacus* وفي تعداد الكريات البيض ونسبة الكريات البيض اللمفية وارتفاع التركيز الكلي للبروتين في اليوم العاشر للتجربة.

2- انخفاض نسب الكريات البيض المعتدلة ووحيدة النوى بعد الجرعات مقارنة بالمجموعة الشاهدة.

3- عدم وجود أية فروقات معنوية بين نسب الكريات البيض الحامضية والأساسية بعد الجرعات.

4- نوصي بدراسات مشابهة لبقية أنواع الخفافيش السورية ودراسة استجابتها المناعية وموروثاتها المسؤولة عن هذه المناعة والتي قد تكون مفتاحاً لمقاومة العديد من الأمراض.

المراجع العربية:

بيلوني، جورج. *علم المناعة*، منشورات جامعة تشرين، اللاذقية، 2007.

العاني، محمد; جمعة، احمد. *تأثير الاصابة بمرض التهاب الكبد الفايروسي نوع B في بعض المتغيرات الدمية لدى المرضى في محافظة الانبار*، مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة، 2015، 9.1: 14-19.

المراجع الأجنبية:

BENDA, P; Lucan, R. K; Obuch, J; Reiter, A.; Andreas, M; Backor, P; ... & Amr, Z. S. *Bats (Mammalia: Chiroptera) of the Eastern Mediterranean and Middle East.* Acta Societatis Zoologicae Bohemicae, 74(3-4), (2010). 185-353.

BRIGGS, D. J; Banzhoff, A; Nicolay, U; Sirikwin, S; Dumavibhat, B; Tongswas, S; Wasi, C. *Antibody response of patients after postexposure rabies vaccination with small intradermal doses of purified chick embryo cell vaccine or purified Vero cell rabies vaccine*, *Bulletin of The World Health Organization*, *78*(5), (2000), 693–698.

CALISHER, C. H; Childs, J. E; Field, H. E; Holmes, K. V; Schountz. *Bats: Important Reservoir Hosts of Emerging Viruses*, Clinical Microbiology Reviews, 19(3), (2006), 531–545.

CHAKRAVARTY, A; Sarkar, S. *Immunofluorescence analysis of immunoglobulin bearing lymphocytes in the indian fruit bat: pteropus giganteus*, Lymphology, 27(2), (1994), 97–104.

DACIE J.V; Lewis S.M. *Practical haemoyology*. 6th .Edinburgh, Churchill, 1984.

HEMACHUDHA, T; Laothamatas, J; Rupprecht, C. E. *Human rabies: a disease of complex neuropathogenetic mechanisms and diagnostic challenges*, Lancet Neurology, 1(2), (2002), 101–109.

JONES, M.E.B; Schuh, A.J; Amman, B.R; Sealy, T.k ; Zaki, Sh.R; Nichol, S.T; Towner, J.S. *Experimental Inoculation of Egyptian Rousette Bats (Rousettus aegyptiacus) with Viruses of the Ebolavirus and Marburgvirus Genera*. Viruses, (2015), 7(7), 3420-3442.

LELIEFELD; Pieter. HC; Koenderman; Leo; Pillay; Janesh. *How neutrophils shape adaptive immune responses*, Frontiers in immunology, 2015, 6: 471.

LUBRAN, Michael M. *The measurement of total serum proteins by the Biuret method*. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 1978, 8.2: 106-110.

MIDDLETON, N. E; & Nicolaou, H. (2006). An Introduction to the bats of Cyprus. Echoes Ecology Ltd. Scotland.

PAKSUZ, S; Paksuz.P.E; Ozkan.B. *WHITE BLOOD CELL (WBC) COUNT OF DIFFERENT BAT (CHIROPTERA) SPECIES*, Trak ya Univ J Sci,(2009), 10(1), 55-59.

PYERS, E. Bat *'super immunity' could help protect people*, EurekAlert, 2016.

SCHINNERL. M; Aydinonat.d; Schwarzenberger.F; ***Hematological Survey of Common Neotropical Bat Species from Costa Rica*** Christian C. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 42(3), (2011), 382-391.

SCHOUNTZ, T. *Immunology of Bats and Their Viruses: Challenges and Opportunities*, Viruses, 6(12), (2014), 4880–4901.

SHEHAB, A. H; Mamkhair, I. H. *First record of the Egyptian fruit bat, Rousettus aegyptiacus, from Syria*. *Zoology in the Middle East*, *33*(1), (2004*)* 73-78.

TURMELLE, A. S; Amy S; Ellison, J. A; Mendonça, M. T; McCracken, G. F *Histological assessment of cellular immune response to the phytohemagglutinin skin test in Brazilian free-tailed bats (Tadarida brasiliensis).* Journal of Comparative Physiology B, 2010, 180.8: 1155-1164.

WESTHUYZEN, J. V. D. *Haematology and iron status of the Egyptian fruit bat, Rousettus aegyptiacus*, Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 90(1), (1988), 117–120.

WYNNE, J. W; Di Rubbo, A.; Shiell, B. J; Beddome, G; Cowled, C; Peck, G. R; Michalski, W. *Purification and characterisation of immunoglobulins from the Australian black flying fox (Pteropus alecto) using anti-fab affinity chromatography reveals the low abundance of IgA. PloS one*, 2013, 8.1: e52930.

ZHOU, P; Tachedjian, M; Wynne. J. W; Boyd. V; Cui, J, Smith; Mendenhall, I. H. *Contraction of the type I IFN locus and unusual constitutive expression of IFN-α in bats*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2016, 113.10: 2696-2701.