تأثير لقاح داء الكَلَب الخامل في تراكيز الأضداد لدى بعض الخفافيش السورية

يارا الرمضان*، نهلة إبراهيم، تغريد قدار***، أنور العمر******

ملخص البحث

هدفت هذه الدراسة إلى دراسة تراكيز الاضداد المناعية لدى نوعي الخفافيش آكل الفاكهة *Rousettus aegyptiacus* وآكل الحشرات *Myotis myotis* حسب استجابتها للقاح فيروس داء الكَلَب الخامل. استخدمنا 15 خفاشاً من كل نوع.

قسمت حيوانات التجربة إلى ثلاث مجموعات: المجموعة الأولى هي مجموعة الشاهد، المجموعة الثانية أعطيت جرعتين من لقاح داء الكَلَب الخامل بحجم 100µl خلال الأيام 0,3,7 ثم سحب منها الدم في اليوم العاشر، أما المجموعة الثالثة أعطيت ثلاث جرعات بنفس التركيز وسحب منها الدم في اليوم الرابع عشر، ثم قمنا بقياس تراكيز الأضداد.

بمقارنة تراكيز أضداد النوعين قبل وبعد الجرعات، تبين ارتفاع تراكيز الضدين IgG وIgM عند كلا النوعين ولكن عند النوع *Rousettus aegyptiacus* بشكل أكبر من النوع *Myotis myotis* وذلك بين مجموعتي اليوم العاشر والرابع عشر بعد التجريع.

تبين من خلال الدراسة أن كلا نوعي الخفافيش يملكان آلية الاستجابة المناعية ذاتها لفيروس داء الكَلَب الخامل مع فروقات فقط في تراكيز المتغيرات.

كلمات مفتاحية: *Rousettus aegyptiacus*، *Myotis myotis*، داء الكَلَب، أضداد مناعية.

*) طالبة دراسات عليا (دكتوراه) –قسم علم الحيوان – كلية العلوم –جامعة تشرين –اللاذقية–سورية.

**) أستاذ مساعد –قسم علم الحيوان – كلية العلوم –جامعة تشرين–اللاذقية–سورية..

***) مدرسة – قسم الطب المخبري – كلية الطب البشري– جامعة تشرين.

****) أستاذ، قسم علم الحياة، كلية العلوم، جامعة البعث.

Effect of inactive rabies vaccine on antibody concentrations in some Syrian bats

Yara Al-Ramadan*, Nahla Ebrahem**

Taghred Khaddar*, Anouar Alomar******

Abstract

This study aimed to study the concentrations of antibodies in the two species of bats *Rousetus aegyptiacus and Myotis myotis* according to the immune response to RABV (Rabies virus) vaccine, using 15 bats of each species.

The experimental animals were divided into three groups, the control group, the second group was given two doses of the inactive RABV vaccine of 100µl and then the blood was pulled on the tenth day, the third group was given three doses with the same concentration and blood withdrawal on the fourteenth day, after that, we performed the tests of blood parameters.

Antibodies results of this study showed, an increase of IgG and IgM antibodies in both species, however this increase was higher in *Rousettus aegyptiacus* more than *Myotis myotis* between 10th and 14th day groups after the dose.

The study showed that both bat species had the same immune response mechanism to the inactive rabies vaccine with only

Keywords: *Rousettus aegyptiacus*, *Myotis myotis*, Rabies, Immune antibodies.

***)** PhD student, animal department, faculty of science, Tishreen university, Latakia, Syria.

**) Doctor, animal department, faculty of science, Tishreen university, Latakia, Syria.

***) Associate professor, department of laboratory medicine, faculty of medicine, Tishreen Uni, Lattakia, Syria.

****) Doctor, Department of Biology, Faculty of Science, Albaath University, Homs, Syria.

1. مقدمة:

تعد الخفافيش الثدييات الوحيدة الطائرة في العالم **[1]**، وتوجد في كل قارات العالم باستثناء الأجزاء الأكثر برودة والأكثر عزلة من الأرض، بما في ذلك القطب الشمالي والقطب الجنوبي وبعض الجزر المحيطية المعزولة. تشير التقديرات إلى أن هناك من 900 إلى أكثر من 1200 نوع من الخفافيش في العالم تنتمي لـ 18 فصيلة وحوالي 174 جنساً **[2]**، مما يشكل خمس إجمالي عدد الثدييات على الأرض أي في المرتبة الثانية بعد القوارض. ومع ذلك، فإن هذه الأرقام هي مقاييس نسبية أي أنه يمكن أن يكون هناك المزيد من أنواع الخفافيش في العالم. يوجد أكبر عدد من الخفافيش في المناطق الاستوائية، وتعد أمريكا الوسطى والجنوبية موطناً لما يقارب ثلث أنواع الخفافيش في العالم **[2]**.

تشكل الخفافيش في سورية ما يعادل 20% من الثدييات السورية والتي يبلغ عددها 125 نوعاً **[1]**، ومن خلال الدراسة المرجعية للخفاشيات السورية، تبين ندرة الدراسات التخصصية وخاصة من ناحية الدراسات المورفولوجية والتشريحية والوراثية، وخاصة تلك الدراسات التي تتناول بيئة وحماية فاونا الخفافيش في سورية **[3]**.

-الناحية المناعية لدى الخفافيش:

تشكل الخفافيش حاضنة طبيعية لأكثر من 100 نوع من الفيروسات بعضها مميتٌ للبشر، من بينها فيروس متلازمة الشرق الأوسط التنفسية، وفيروس إيبولا، وفيروس داء الكَلَب. تعود هذه المناعة ضد الفيروسات تحديداً لدور الإنترفيرونات Interferons التي تعمل كمتممات في الاستجابة المناعية الفطرية لدى الخفافيش، فخلافاً للبشر تمتلك الخفافيش فقط 3 أنواع من الإنترفيرونات، وبعكس الثدييات التي تنشط لديها أجهزة المناعة بعد العدوى، يبقى الإنترفيرون 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 الأنواع الأخرى كالإنسان أو الفئران تسبب السميّة للخلايا والأنسجة**[4]** .

بالرغم من الأهمية الكبيرة للخفافيش إلا أنها تتميز بسمعة سيئة لأنها المستودع الرئيس للعديد من العوامل الممرضة خاصة الفيروسات التي تنتقل إلى الإنسان بطرق مباشرة أو غير مباشرة وتسبب له أمراضاً [3,5].

تعد العلاقة بين الخفافيش والأمراض المعدية معقدة إذ تؤوي الخفافيش فيروسات ممرضة لفترات طويلة دون دليل ظاهري على الإصابة بها، وقد يعزى ذلك إلى أن الخفافيش تطورت على مدى ملايين السنين، وتطورت معها العديد من الفيروسات، إضافة إلى دور السبات الشتوي في حفظ هذه الفيروسات. ويعتقد هيو كلارك أن «فهم قدرة الخفافيش على إيواء الفيروسات الممرضة دون الإصابة بها يمكن أن تؤدي إلى فهم آليات إمراضيه ذات علاقة في الرعاية الصحية البشرية» **[5]**.

تمتاز الاستجابة المناعية الطبيعية والمكتسبة عند الخفافيش باختلافات مهمة نوعية أو كمية عن الاستجابة عند القوارض وبقية الثدييات ومع ذلك فإن هناك فروقاً في الاستجابات المناعية ضد الأخماج الفيروسية بين أنواع الخفافيش وذلك بحسب ردود الفعل المختلفة تجاه الكواشف المناعية في أمصال هذه الأنواع **[5]**.

تشير الدراسات إلى وجود العديد من التشابهات في الاستجابة المناعية بين الخفافيش وبقية الثدييات التي تلي الخفافيش في السلم التطوري، فعلى سبيل المثال تمت دراسة البالعات، والخلايا البائية والتائية والأضداد IgG, IgA وIgM في مصل الخفاش آكل الفاكهة الكبير *Artibeus lituratu* [5].

تؤدي الخلايا المناعية المتخصصة (البالعات والعدلات والخلايا القاتلة) أدواراً أساسية في استجابة الخفاش كثوي لخمج ما والاحتواء المبكر له، إضافة إلى إنتاج كمية كبيرة من الأضداد IgG والتي تتطلب بدورها توسط الخلايا التائية المساعدة.

أشارت الدراسات إلى أن تحصين الخفافيش بـ 25mg من الألبومين البقري أدى إلى تشكل نوعين من الأضداد IgM و IgA وأن تعداد أنواع الكريات البيض لأنواع مختلفة من الخفافيش أظهر نسباً مرتفعة من اللمفاويات في جميع الأنواع المدروسة مقارنةً بالحمضات والأسسات التي كانت بنسب أقل **[6]**.

-داء الكَلَب:

يعد داء الكَلَب أحد الأمراض الأكثر خطورةً وانتشاراً عبر الخفافيش، وفيروس داء الكَلَب هو فيروس مميت ينتقل إلى الأشخاص من لعاب الحيوانات المصابة عن طريق العض ليستهدف الدماغَ والجهاز العصبي حيث يتطور بدايةً في الخلايا العضلية بمنطقة العض لينتقل لاحقاً إلى الخلايا العصبية **[5]**.

العامل المسبب لداء الكَلَب هو فيروس داء الكَلَب Rabies virues الذي ينتمي إلى جنس الفيروسات الكَلَبيَّة، عائلة الفيروسات الربدية Rhabdoviridae. تمتلك جزيئات فيروس داء الكَلَب تركيباً نقطياً حوالي 75 نانومتر × 200 نانومتر، مع قفيصة حلزونية محاطة بغلاف رقيق مرصع بالبروتين **[7]**.

تعد فترة حضانة داء الكَلَب الفترة الأكثر تفاوتاً بين الأمراض الفيروسية التي تصيب الجهاز العصبي المركزي، وتبلغ غالباً من شهر إلى شهرين ولكن النطاق الفعلي بين 7 أيام إلى 6 سنوات **[8]**، وتم تسجيل أول حالة من الوفيات البشرية، بسبب داء الكَلَب المنتقل عبر الخفافيش في عام 1951م **[9]**.

2-6- الغلوبولينات المناعية (الأجسام المضادة- الأضداد Antibodies):

تعد الأضداد IgG وIgM و IgD وIgA و IgE من أهم مكونات المناعة الخلطية النوعية:

أنواع الأضداد:

- الضد (IgG): وهو أكثر أنواع الأضداد شيوعاً في بلازما الدم، إذ يمثل حوالي 70 إلى 75% من نسبة الضد البشري، يزيل السموم من الجسم، وينتقل من الأم إلى الجنين في الرحم عبر المشيمة، ويؤدي وظيفته في حماية الطفل بعد الولادة إلى أن ينشط جهاز المناعة خاصته. يرتفع مستوى هذه الأضداد بعد وقت متأخر نسبياً من الإصابة حيث توفر حماية مستمرة بعد الشفاء.
- الضد (IgM): يوجد في الدم ويمثل حوالي 10% من الضد البشري مستوى هذه الأضداد يبدأ بالارتفاع بعد عدّة أيام من الإصابة، ثم يبدأ بالانخفاض بعد عدّة أسابيع حتى أشهر أي أنه يوفر حماية للمدى الفوري بعد الإصابة الأولى.
- الضد (IgA): يوجد في مصل الدم والغشاء المخاطي المبطن للأنف واللعاب وحليب الأم، والمفرزات المعوية، ويمثل حوالي 10 إلى 15% من الضد البشري.
- الضد (IgE): يوجد بكمياتٍ ضئيلةٍ لا تتعدى نسبتها 0.001% وتكمن وظيفته الأساسية في حماية الجسم من الطفيليات، أمّا في الحالات التي يندر فيها حدوث العدوى الطفيلية، فيدخل في تفاعلات الحساسية (Allergic Reactions) بصفةٍ أساسية.

- الضد (IgD): يمثل أقل من 1% من الأضداد البشرية، وهو غير معلوم الوظيفة على وجه التحديد، ولكن يُعتقد أنه يحفز إنتاج الأضداد في الخلايا البيضاء البائية B cells [10.11.12.13].

أجريت دراسة لأنواع الأضداد الثلاثة IgG، IgAو IgM لدى الخفافيش ومقارنتها مع أنواع الغلوبولينات البشرية باستخدام تقنية الرحلان الكهربائي (SDS-PAGE) بعد أن قسمت الخفافيش إلى ثلاث مجموعات فتبين احتواء مجموعتين منها على نطاق واحد رئيسي من الرواسب المقابلة لحركة IgM وIgG البشري تحت ظروف متطابقة، كما احتوت المجموعة الثالثة على نطاق رئيس ثالث يظهر في نفس موضع lgA البشري تحت نفس الشروط [14].

كما تطابقت النطاقات الرئيسة للمجموعة الأخيرة مع مكونات السلسلتين الثقيلة والخفيفة لكل من IgG و IgM البشري. وأثبتت هذه الدراسة أن الأوزان الجزيئية لسلاسل أضداد للخفافيش بلغت (52000 D/H, 22000D/L) للضد(IgG) و (90000 D/H, 22000 D/L) لـ (IgM) حيث (H :السلسة الثقيلة وL: السلسة الخفيفة)، وأكدت هذه الدراسة زيادة تراكيز الأضداد بشكل ملحوظ في الخفافيش المصابة بالفطريات **[14]**.

تختلف أنماط الضد IgG بين الأنواع المختلفة من الخفافيش فمثلاً هناك نمط وحيد من الـ IgG عند خفاش *Carollia perspicillata* بينما يوجد ثلاثة أنماط إسوية عند النوع *Eptesicus fuscus* وخمسة أنماط إسوية لدى النوع *Myotis lucifugus* **[15].**

تضمنت دراسة **[16]** ثلاث مجموعات من الخفافيش الأولى تمت إصابتها بلقاح Marburg (MARV) تجريبياً والثانية أصيبت بالفيروس بشكل طبيعي بالعدوى من

المجموعة الأولى والثالثة مجموعة شاهدة بقيت بحالتها الطبيعية، وعند دراسة مستويات الأضداد النوعية IgG للفيروس MARV للخفافيش في المجموعتين تبين أنها بلغت ذروتها ثم انخفضت بسرعة في غضون 3 أشهر وبدون وجود فروقات ذات دلالة إحصائية بين نتائج المجموعتين، وبعد إحداث العدوى مرة أخرى؛ تبين أن انخفاض مستويات الأضداد النوعية MARV IgG بعد الإصابة الأولية غير مرتبطة مع فقدان مناعة وقائية طويلة الأمد ضد الإصابة بالفيروس وتكاثره.

على النقيض من دراسة **[17]** على عدوى فيروس داء الكَلَب المتكررة للخفافيش البنية الكبيرة (Eptesicus fuscus) التي وجدت أن استجابة الأضداد النوعية للفيروس بعد العدوى الأولية لم تكن قادرة على حماية جميع الخفافيش من الإصابة مرة أخرى ولوحظ معدل نفوق متماثل للخفافيش عند الإصابتين الأولى والثانية، ولكن لوحظ انخفاض معدل الوفيات بعد الإصابة الثالثة والأخيرة بالفيروس، على الرغم أن الجرعة الفيروسية كانت عالية.

كانت مستويات الأضداد النوعية لـ RABV بعد العدوى سريعة الزوال بين الأفراد المصابين، وانخفضت إلى ما دون مستويات الكشف في العديد من الخفافيش المصابة بالعدوى اللاحقة. تشير هذه النتائج إلى أن العدوى المتكررة على المدى الطويل للخفافيش قد تمنح ذاكرة مناعية كبيرة وتقلل من قابلية الإصابة بفيروس RABV **[17]**.

2. هدف البحث وأهميته:

تنبع أهمية البحث من دراسة الاستجابة المناعية بين أنواع الخفافيش ضد مستضد محدد، مما سيشكل إضافة مهمة حول الغلوبولينات المناعية لهذه الخفافيش، بما يحقق إمكانية الاستفادة من هذه المعلومات وتطبيقاتها على المستويين الطبي والبيئي، والإسهام

في إنتاج الأمصال المضادة لبعض الأمراض الفيروسية التي تصيب البشر وتنقلها الخفافيش. كما تعد هذه الدراسة إضافة جديدة إلى بيانات التنوع الحيوي في سورية.

الجزء العملي:

مُنِّعت الحيوانات بـ 100µl من لقاح داء الكَلَب الخامل المخفف بمحلول (PBS) Phosphate-buffered saline بنسبة 1:10 عن طريق الفم خلال الأيام 0,3,7 كما هو مبين في الشكل (1)، وسُحب منها الدم قبل التجريع وفي اليومين العاشر والرابع عشر.

الشكل (1): تجريع الخفافيش بلقاح داء الكَلَب الخامل

حيوانات التجربة:

تم اصطياد الخفافيش باستخدام الشِباك، مغارة الدوار–قرية كفر صنيف–صافيتا–محافظة طرطوس، ووضعت في أقفاص بأبعاد 100x75 cm وتم تحديد المتطلبات الغذائية للنوع قبل البدء بالتجربة.

تم إجراء البحث في مخابر كلية العلوم– جامعة تشرين– اللاذقية.

مواد البحث:

1- أقفاص، ميزان حراري، أدوات تشريح.

2- إبر سحب دم، عبوات حفظ الدم DDTA.

3- أنابيب زجاجية، مثفلة.

4- جهاز مقياس الطيف الضوئي (Spectrophotometer) شركة Shimadzu موديل 1700 الشكل (2).

5- لقاح داء الكَلَب الخامل (شركة zoetis) ، محلول تخفيف Phosphate- pH=7.4 buffered saline.

الشكل (2): جهاز مقياس الطيف الضوئي (Spectrophotometer) شركة Shimadzu موديل 1700

قياس تراكيز الأضداد:

حددت تراكيز الأضداد باستخدام جهاز Autolyser (جهاز التحليل الكيميائي الأوتوماتيكي)، وقرئت تراكيز كل من الضدين IgM و IgA عند طول موجة 340nm والضد IgG عند طول موجة 546nm حسب تعليمات الشركة المصنعة للجهاز والكواشف. حيث يعتمد مبدأ عمل الجهاز على قياس تركيز المادة بتحديد نسبة العكارة بعد إجراء التفاعل اللوني بين المادة والكاشف المناسب حيث تتم قراءة تركيز العينة عند طول موجة ودرجة امتصاصية محددتين **[18]**.

تصميم التجربة:

استخدمنا 15 خفاشاً لكل نوع وزعت عشوائياً إلى 3 مجموعات:

- المجموعة الأولى (الشاهد): تضم 5 خفافيش، سحب الدم منها مباشرة.
- المجموعة الثانية: تضم 5 خفافيش، جُرّعت بـ 100µl من لقاح داء الكَلَب الخامل في اليوم الأساسي (اليوم صفر) وبجرعتين داعمتين في اليومين 3 و 7 وسحب الدم منها في اليوم العاشر.
- المجموعة الثالثة: تضم 5 خفافيش، جُرّعت بـ 100µl من لقاح داء الكَلَب الخامل في اليوم الأساسي (اليوم صفر) وبجرعتين داعمتين في اليومين 3 و 7 وسحب الدم منها في اليوم الرابع عشر.

التحليل الاحصائي:

استخدام برنامج SPSS لإجراء التحاليل الإحصائية وحسب التباين ANOVA، (One way anova، Two way anova) ووضعت علامة * في

حال وجود فروق معنوية بين المتوسطات، واستخدم اختبارTukey عند مستوى معنوية 5% كما استخدم برنامج Excel للرسم البياني.

3. النتائج والمناقشة:

تركيز الضد IgG:

النوع *Rousettus aegyptiacus*:

تبين لنا من اختبار ANOVA وجود فرق معنوي كبير بين متوسطات المجموعات الثلاث حيث (P= 0.000**<0.05) وعند إجراء اختبار Tukey لمعرفة معنوية القراءات بين أي مجموعتين، تبين وجود فرق معنوي كبير بين نتائج مجموعة الشاهد ونتائج كل من مجموعتي اليوم العاشر(P=0.000**<0.05) والرابع عشر (P=0.000*<0.05) وعدم وجود فرق معنوي بين مجموعة اليوم العاشر ومجموعة اليوم الرابع عشر (P=0.092>0.05) حيث ارتفع متوسط تركيز الضد IgG ووصل إلى 527.6 mg/dl في اليوم العاشر و 446 mg/dl في اليوم الرابع عشر في حين كان المتوسط في مجموعة الشاهد253 mg/dl .

النوع *Myotis myotis*:

تبين لنا من اختبار ANOVA وجود فرق معنوي كبير جداً بين متوسطات المجموعات الثلاث حيث (P= 0.000***< 0.05) وعند إجراء اختبار Tukey لمعرفة معنوية القراءات بين أي مجموعتين، تبين وجود فرق معنوي كبير جداً بين نتائج مجموعة الشاهد ونتائج مجموعة اليوم العاشر(P=0.000**<0.05) ووجود فرق معنوي بين نتائج مجموعة الشاهد ونتائج مجموعة اليوم الرابع عشر (P=0.010*<0.05) وعدم وجود فرق معنوي بين مجموعة اليوم العاشر ومجموعة اليوم الرابع عشر (P=0.165>0.05) حيث ارتفع متوسط تركيز الضد IgG ووصل إلى 372 mg/dl في اليوم العاشر و

318 mg/dl في اليوم الرابع عشر في حين كان المتوسط في مجموعة الشاهد 219.2 mg/dl الجدول (1) والشكل (3).

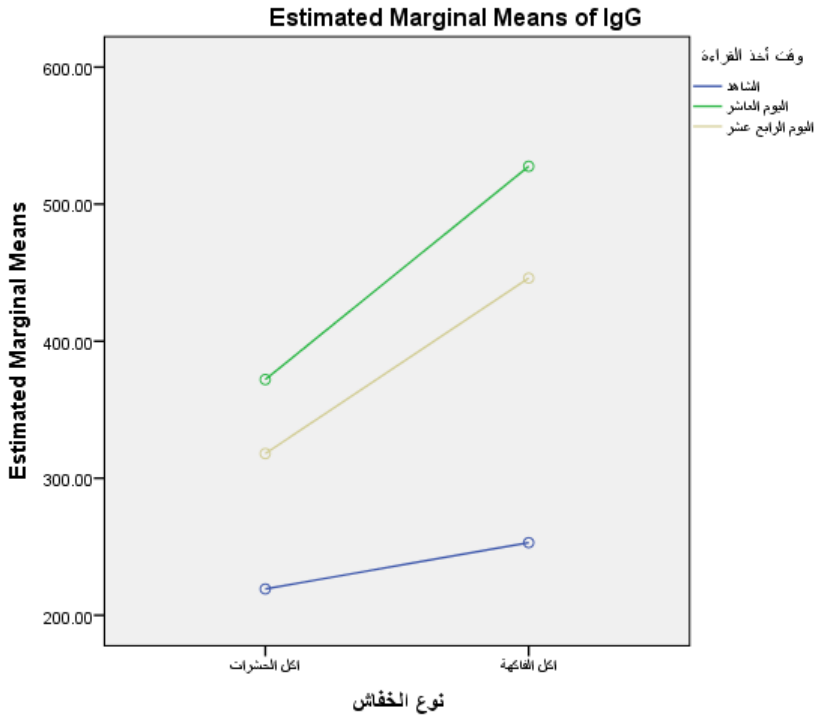
الجدول (1): تغير تركيز الضد IgG لدى النوعين *Rousettus aegyptiacus* و *Myotis myotis* خلال اليومين العاشر والرابع عشر بعد الحقن بلقاح داء الكَلَب الخامل مقارنة بمجموعة الشاهد

نوع الخفاش	P	مجموعة الشاهد	مجموعة اليوم العاشر	مجموعة اليوم الرابع عشر	تركيز الضد IgG mg/dl
Rousettus aegyptiacus	0.001**	253 A	527.6 B	446 B	
Myotis myotis	0.000***	219.2 A	372 B	318 B	

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

الشكل (3) :تغير تركيز الضد IgG لدى النوعين *Rousettus aegyptiacus* و *Myotis myotis* خلال اليومين العاشر والرابع عشر بعد الحقن بلقاح داء الكَلَب الخامل مقارنة بمجموعة الشاهد

وعند إجراء تحليل التباين الثنائي Two way ANOVA من أجل دراسة تأثير اللقاح على كلا النوعين خلال مراحل التجربة تبين وجود فرق معنوي كبير جداً بين النوعين خلال جميع مراحل التجربة (p= 0.00***<0.05) ويبين المخطط البياني الشكل (4) أن أكبر ارتفاع لمتوسطات تراكيز الضد IgG كان بين مجموعة الشاهد ومجموعة اليوم العاشر للنوع آكل الفاكهة وأقل ارتفاع كان بين مجموعة اليوم العاشر ومجموعة اليوم الرابع عشر للنوع آكل الحشرات.



الشكل (4) تغيرات متوسطات تراكيز الضد IgG لدى النوعين *Rousettus aegyptiacus* و *Myotis myotis* خلال مراحل التجربة

توافقت نتائج دراستنا مع نتائج دراسة **[19]** التي أظهرت وجود الضد IgG عند النوع *Rousettus aegyptiacus* بنسب أكبر من بقية أنواع الخفافيش الأخرى.

تركيز الضد IgM:

النوع *Rousettus aegyptiacus*:

تبين لنا من اختبار ANOVA وجود فرق معنوي كبير جداً بين متوسطات المجموعات الثلاث حيث (P= 0.000***< 0.05) وعند إجراء اختبار Tukey لمعرفة معنوية القراءات بين أي مجموعتين، تبين وجود فرق معنوي كبير بين نتائج مجموعة الشاهد ونتائج كل من مجموعتي اليوم العاشر(P=0.000**<0.05) والرابع عشر (P=0.001*<0.05) وعدم وجود فرق معنوي بين مجموعة اليوم العاشر ومجموعة اليوم الرابع عشر (P=0.287>0.05) إذ ارتفع متوسط تركيز الضد IgM ووصل إلى 75.6 mg/dl في اليوم العاشر و 66.4 mg/dl في اليوم الرابع عشر في حين كان المتوسط في مجموعة الشاهد36.1 mg/dl.

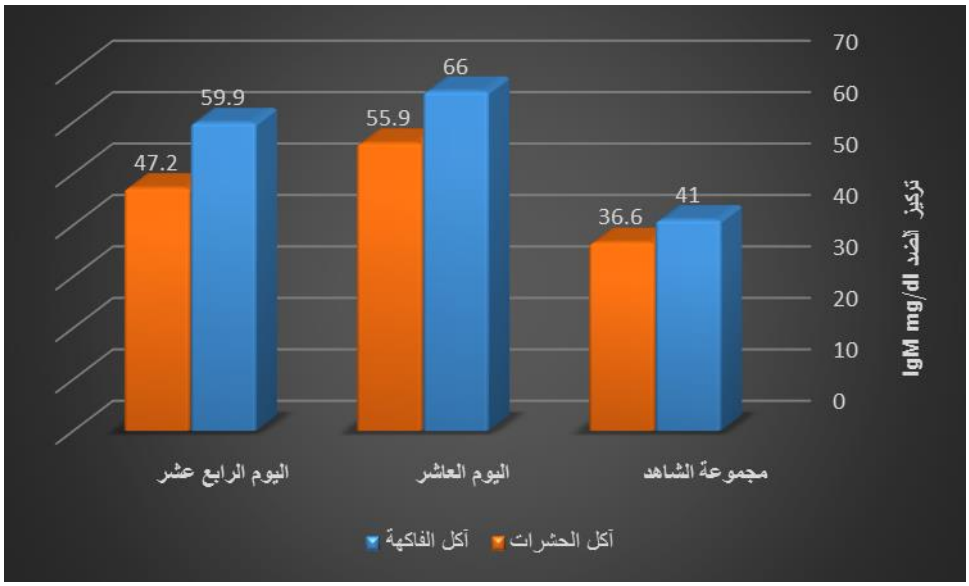
النوع *Myotis myotis*:

تبين لنا من اختبار ANOVA وجود فرق معنوي كبير بين متوسطات المجموعات الثلاث حيث (P= 0.001**< 0.05) وعند إجراء اختبار Tukey لمعرفة معنوية القراءات بين أي مجموعتين، تبين وجود فرق معنوي كبير بين نتائج مجموعة الشاهد ونتائج مجموعة اليوم العاشر(P=0.001**<0.05) ووجود فرق معنوي بين نتائج مجموعة الشاهد ونتائج مجموعة اليوم الرابع عشر (P=0.036*<0.05) وعدم وجود فرق معنوي بين مجموعة اليوم العاشر ومجموعة اليوم الرابع عشر (P=0.092>0.05) إذ ارتفع متوسط تركيز الضد IgM ووصل إلى 55.9 mg/dl في اليوم العاشر و 47.2 mg/dl في اليوم الرابع عشر في حين كان المتوسط في مجموعة الشاهد36.6 mg/dl الجدول (2) والشكل (5).

الجدول (2): تغير تركيز الضد IgMلدى النوعين *Rousettus aegyptiacus* و *Myotis myotis* خلال اليومين العاشر والرابع عشر بعد الحقن بلقاح داء الكَلَب الخامل مقارنة بمجموعة الشاهد

نوع الخفاش	P	مجموعة الشاهد	مجموعة اليوم العاشر	مجموعة اليوم الرابع عشر	تركيز الضد IgM mg/dl
Rousettus aegyptiacus	0.000***	36.1 A	75.6 A	66.4 B	
Myotis myotis	0.001***	36.6 A	55.9 A	47.2 B	

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

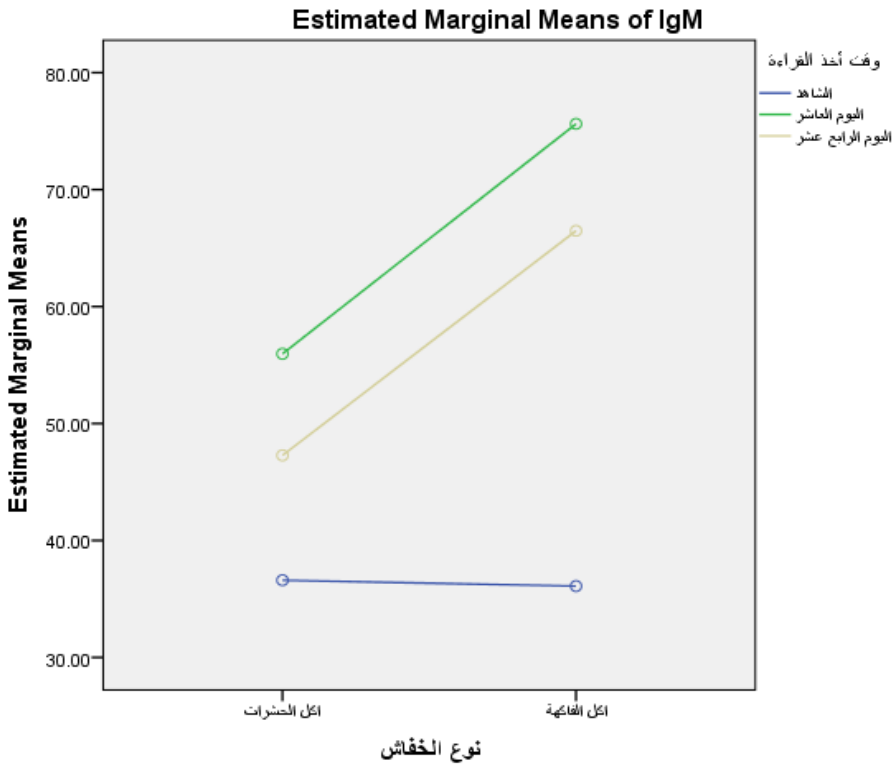


الشكل (5) :تغير تركيز الضد IgM لدى النوعين *Rousettus aegyptiacus* و *Myotis myotis* خلال اليومين العاشر والرابع عشر بعد الحقن بلقاح داء الكَلَب الخامل مقارنة بمجموعة الشاهد

وعند إجراء تحليل التباين الثنائي Two way ANOVA من أجل دراسة تأثير اللقاح على كلا النوعين خلال مراحل التجربة تبين وجود فرق معنوي كبير جداً بين النوعين خلال جميع مراحل التجربة (p= 0.000***<0.05) ويبين المخطط البياني الشكل (6) أن أكبر ارتفاع لمتوسطات تراكيز الضد IgM كان بين مجموعة الشاهد ومجموعة اليوم العاشر للنوع آكل الفاكهة وأقل ارتفاع كان بين مجموعة اليوم العاشر ومجموعة اليوم الرابع عشر للنوع آكل الحشرات.

اتفقت نتائج دراستنا مع نتائج **[6]**، التي بينت أن تحصين الخفافيش بـ 25mg من الألبومين البقري أدى إلى تشكل نوعين من الأضداد IgMوIgA ومع دراسة **[16]** التي أكدت حدوث استجابة للضد IgG النوعي لفيروسMarburg (MARV) وبلغت ذروتها بحلول اليوم السابع.

بالمقارنة مع الاستجابة المناعية ضد فيروس داء الكَلَب عند الإنسان تبين ارتفاع قيم الأضداد النوعية IgM وIgG لفيروس داء الكَلَب عند الانسان بعد أسبوعين من الإصابة الأولى بينما ارتفعت قيمة الضد IgM بشكل أسرع من IgA بعد الإصابة الثانية، بينما تأكد ارتفاع قيم الضدين IgM وIgG منذ اليوم العاشر في دراستنا **[20]**.



الشكل (6) تغيرات متوسطات تراكيز الضد IgM لدى النوعين *Rousettus aegyptiacus* و *Myotis myotis* خلال مراحل التجربة

تركيز الضد IgA:

تبين لنا من اختبار ANOVA عدم وجود فرق معنوي بين متوسطات تراكيز الضد IgA للمجموعات الثلاث خلال مراحل التجربة حيث (P= 0.186> 0.05) عند النوع ***Rousettus aegyptiacus*** و (P=0.948>0.05) للنوع ***Myotis myotis***، اتفقت هذه النتيجة مع نتيجة**[6] والتي** لم تظهر تشكل أضداد من النوع IgA عند تحصين أنواع مختلفة من الخفافيش بـ 25mg من الألبومين البقري.

وعند إجراء تحليل التباين الثنائي Two way ANOVAمن أجل دراسة تأثير اللقاح على كلا النوعين خلال مراحل التجربة تبين لنا عدم وجود فرق معنوي بين متوسطات

تراكيز الضد IgA للمجموعات الثلاث خلال مراحل التجربة حيث P= 0.186> (0.05) عند النوع *Rousettus aegyptiacus* و (P=0.948>0.05) للنوع *Myotis myotis*.

4. الاستنتاجات والتوصيات:

نستنتج من معطيات البحث ما يلي:

تعد هذه الدراسة الأولى في سورية والتي تناولت الناحية المناعية للخفافيش، كما أنها أول دراسة من نوعها لتحديد صلات القربى بين الأنواع.

عند تجريع النوعين آكل الفاكهة *Rousettus aegyptiacus* وآكل الحشرات *Myotis myotis* بلقاح داء الكَلَب الخامل:

I. تبين ارتفاع تراكيز الضدين IgG وIgM عند كلا النوعين ولكن عند النوع *Rousettus aegyptiacus* بشكل أكبر من النوع *Myotis myotis* وذلك بين مجموعتي اليوم العاشر والرابع عشر بعد التجريع.

II. بناءً على ذلك تم الاستنتاج أن نوعي الخفافيش المدروسة آكل الفاكهة *Rousettus aegyptiacus* وآكل الحشرات *Myotis myotis* يملكان الاستجابة المناعية ذاتها للقاح داء الكلب، الخامل مع فروقات فقط في تراكيز المتغيرات.

التوصيات:

1- التوسع في دراسة الناحية المناعية الطبيعية والخلوية والخلطية لدى الخفافيش لفهم آلية قدرتها على مقاومة العوامل الممرضة والفيروسات بشكل خاص.

2- دراسة أنواع الأضداد بشكل أوسع خاصة تحت صفوف الأضداد النوعية مثل IgG_1، IgG_2، IgG_3، IgG_4 لأنها تعطي نتائج أدق.

3- إجراء دراسة البصمة الوراثية لأنواع الخفافيش السورية وتحديد المورثات المسؤولة عن المناعة لدى هذه الأنواع.

المراجع:

[1]. MIDDLETON, N & NICOLAOU, H. (2006*). An Introduction to the bats of Cyprus*. Echoes Ecology Ltd. Scotland.

[2]. WILSON, D.E. (2020). *Bat. ENCYCLOPÆDIA BRITANNICA*. Retrieved from: https://www.britannica.com/animal/bat-mammal.

[3]. إبراهيم، نهلة؛ شلفة، مها، (2008). *التنوع الحيوي لخفاشيات الساحل السوري وحمايتها*، مجلة الساتل العلمية المحكمة، جامعة السابع من أكتوبر، ليبيا، 2,(5): 23-34.

[4]. Zhou P, Tachedjian M, Wynne JW, Boyd V, Cui J, Smith I, Cowled C, Ng JH, Mok L, Michalski WP, Mendenhall IH. Contraction of the type I IFN locus and unusual constitutive expression of IFN-α in bats. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2016 Mar 8;113(10):2696-701.

[5]. Calisher CH, Childs JE, Field HE, Holmes KV, Schountz T. Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. Clinical microbiology reviews. 2006 Jul;19(3):531-45.

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

[7]. RUPPRECHt, C. E., HANLON, C. A., & HEMACHUDHA, T. (2002). Rabies re-examined. The Lancet infectious diseases, 2(6), 327-343.

[8]. HEMACHUDHA, T & PHUAPRADIT, P., (1997) Rabies. Curr Opin Neurol, 10: 260–67.

[9]. FEKADU, M. (1993). *Canine rabies*. Onderstepoort J Vet Res. 60: 421–27.

[10]. MCMURRAY, D. N. and GREER, D.L. (1979*). Immune responses in bats following intranasal infection with Histoplasma capsulatum*. Am. J. Trap. Med. 28, 1036.

[11]. OELS, H. C., BRANUM, E. L., ZOLLMAN, P. E., and RKOWITZ, H.(1969). *Antibodies to Histoplasma capsulatum in human and animal populations of southeastern Minnesota.* Am. Rev. Resp. Dis. 99, 443.

[12]. SEYMOUR, C., DICKERMAN, R. W., and MARTIN, M. S. (1978). *Venezuelan encephalitis virus infection in neotropical bats II.* Experimental infections. Am. J. Trop. Med. Hyg. 27, 297.

[13]. EGMOND, M., DAMEN, C. A., SPRIEL, A. B., VIDARSSON, G., GARDEREN, E., & WINKEL, J. G. (2001*). IgA and the IgA Fc receptor*. Trends in immunology, 22(4), 205-211.

[14]. MCMURRAY, D. N., STROUD, J., MURPHY, J. J., CARLOMAGNO, M. A., & GREER, D. L. (1982). *Role of immunoglobulin classes in experimental histoplasmosis in bats*. Developmental & Comparative Immunology, 6(3), 557-567.

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

[16]. SCHUH, A. J., AMMAN, B. R., SEALY, T. K., SPENGLER, J. R., NICHOL, S. T., & TOWNER, J. S. (2017). *Egyptian rousette bats maintain long-term protective immunity against Marburg virus infection despite diminished antibody levels.* Scientific Reports, 7(1), 1-7.

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

[18]. COAKLEY, W. A. (1981*). Handbook of automated analysis:* Continuous flow technique. Marcel Dekker Incorporated, (179), Pages 1-58.

[19]. POURRUT, X., SOURIS, M., TOWNER, J. S., ROLLIN, P. E., NICHOL, S. T., GONZALEZ, J. P., & LEROY, E. (2009). *Large serological survey showing cocirculation of Ebola and Marburg viruses in Gabonese bat populations, and a high seroprevalence of both viruses in Rousettus aegyptiacus*. BMC infectious diseases, 9(1), 159.

[20]. BRINKMAN, D. M., JOL-VAN DER ZIJDE, C. M., TEN DAM, M. M., VOSSEN, J. M., OSTERHAUS, A. D. M. E., KROON, F. P., & VAN TOL, M. J. D. (2003). *Vaccination with rabies to study the humoral and cellular immune response to a T-cell dependent neoantigen in man.* Journal of clinical immunology, 23(6), 528-538.