

## الكشف عن بعض المراحل التطورية لطفيلي *Babesia spp* في السائل الدموي اللمفي والمعوي الوسطي لإناث القراد *Boophilus microplus* البالغة والمتغذية طبيعياً على الأبقار في مدينة الموصل

إيمان غانم سليمان وأحلام فتحي الطائي

فرع الأحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

(الإستلام ١٩ حزيران ٢٠١٧؛ القبول ٢١ آب ٢٠١٧)

### الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية تشخيص دويديات *Babesia spp* في السائل الدموي اللمفي لإناث قراد *Boophilus microplus* البالغة والمتغذية طبيعياً على الأبقار وذلك بعد بقائها حية لمدة ٥-٨ أيام تحت ظروف المختبر كما تم تشخيص بعض الأدوار التطورية بمراحلها المختلفة (المفلوقات ومرحلة انفجار المفلوقات والأجسام الدائرية الغامقة اللون وهجرة الدويديات من السائل الدموي اللمفي الى انسجة القراد). ظهرت دويديات النوع *B. bovis* على شكل أجسام هلالية أو لولبية شبيهة بوتر القوس ذات قمة عريضة ونهاية خلفية مدببة منحنية والنواة مركزية الموقع مع وضوح الفجوة عند القمة في حين ظهرت دويديات النوع *B. bigemina* على شكل أجسام هلالية أو لولبية شبيهة بوتر القوس ذات نهاية أمامية أقل عرضاً من دويديات النوع *B. bovis* ولا تحتوي على فجوة والنواة الخلفية مستقيمة والنواة مركزية الموقع. بلغ معدل طول دويديات *B. bovis*  $13.92 \pm 1.34$  مايكرون وبمدى يتراوح من  $11.8-15.8$  مايكرون في حين بلغ معدل العرض  $3.23 \pm 0.44$  مايكرون وبمدى يتراوح من  $2.7-4$  مايكرون وبمدى يتراوح من  $11.39 \pm 1.12$  مايكرون وبمدى يتراوح من  $9.5-13$  مايكرون. أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود علاقة مباشرة وطردية بين نسبة التطفل لطفيلي *Babesia bovis* و *Babesia bigemina* المشخصة في مسحات دم الأبقار المصبوغة بالكميزا وبعدها الدويديات المشخصة في السائل الدموي اللمفي كما لوحظ عدم وجود فرق معنوي بين عدد ونسبة إناث قراد *Boophilus microplus* المصابة بدويديات *Babesia spp* والمتغذية والمحتقنة على الأبقار بمختلف أعمارها.

## Detection the some developmental stages of *Babesia spp* in hemolymph and midgut of adult females of *Boophilus microplus* naturally on cattle in Mosul city

E.G. Suleiman and A.F. Altae

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

### Abstract

This study involved the detection of vermicules of *Babesia spp* in the hemolymph of *Boophilus microplus* adult females naturally fed on cattle after their remaining a live for 5 to 8 days under laboratory conditions and the detection of some developmental stages (schizonts, rupture of schizonts, small dark collar bodies and migration of vermicules from the hemolymph to different tissues of tick). Both vermicules of *B. bovis* and *B. bigemina* were diagnosed. The vermicules of *B. bovis* appeared as croissant or club-shaped bodies with a broad anterior ending and pointed posterior one and having a central nucleus and a vacuole in the anterior end with a curved or semi curved tail. The vermicules of *B. bigemina* had a croissant or club-shaped bodies with a lesser width in their anterior end than in *B. bovis* with no vacuole and with a straight tail. The average length of *B. bovis* was  $13.92 \pm 1.34 \mu$  with a range of  $11.8-15.8 \mu$  and average width of  $3.23 \pm 0.44 \mu$  with a range of  $2.7-4 \mu$ . The average length of *B. bigemina* was  $11.39 \pm 1.12 \mu$  with a range of  $9.5-13 \mu$  and average width of  $2.2 \pm 0.51 \mu$  with a range of  $1.5-3 \mu$ . The results of current study revealed that their was a direct and proportional relationship between the parasitemia of *B. bovis* and *B. bigemina* in cattle blood smears and the number of vermicules in the hemolymph of female of *Boophilus*

*microplus*. No significant differences were noticed between (number and percentage of *Boophilus microplus* females) infected with vermicules of *Babesia spp* at different aged cattle.

Available online at <http://www.vetmedmosul.org/ijvs>

## المقدمة

نقل الهرمونات وانتشار المواد الغذائية من الامعاء وازالة الفضلات من الجهاز الابرزي ولا يلامس هذا السائل الخلايا بشكل مباشر بسبب ان الاعضاء الداخلية مغطاة بالغشاء القاعدي (Basement membrane) (١١ و ١٢). يعتبر فحص السائل الدموي اللمفي اختبار اقتصادي وتقنية سريعة لتحديد الممرضات التي ينقلها القراد البالغ (١٢).

تظهر الدويدات في السائل الدموي اللمفي بعد ٣-٤ ايام من اخذ القراد للاصابة اذ تتحطم المفلوقات وتحرر الدويدات الى تجويف المعى الوسطي وهي اجسام متحركة تخترق الخلايا الظهارية وتهاجر الى السائل الدموي اللمفي ثم الى المبيض اذ تخترق البيوض غير الناضجة (١٣).

تكون عملية جمع السائل الدموي اللمفي صعبة بسبب حركة القراد مع عدم تحطيم المعى الوسطي وكما تعد عملية جمع وفحص هذا السائل شيء اساسي في تحديد دور اصابة القراد بالعامل الممرض *Babesia spp* وهجرته الى الغدد اللعابية (١٤ و ١٥ و ١٦) ولغرض دراسة تطور *Babesia spp* في قراد *Boophilus microplus* وتشخيص الدويدات اوالناشطات في السائل الدموي اللمفي ودراسة مواصفاتها الشكلية والقياسية ونظرا لقلة الدراسات في هذا المجال في مدينة الموصل اجريت هذه الدراسة.

## المواد وطرائق العمل

تم اختيار ٦٤ انثى قراد محتقنة جدا بالدم من نوع *Boophilus microplus* من مجموع ٣٢ حيوان من مختلف الأعمار ومن كلا الجنسين ومن مناطق مختلفة من مدينة الموصل تضمنت كل من منطقة كوكجلي وكلية الزراعة والغابات /جامعة الموصل وذلك بمعدل ٢ من الإناث المحتقنة لكل حيوان للفترة من بداية شهر نيسان ولغاية نهاية شهر ايار ٢٠١٤، الحيوانات التي جمعت منها الاناث المحتقنة كانت جميعها مصابة طبيعيا بطفيلي *Babesia bovis* و *Babesia bigemina*.

وضعت اناث القراد الماخوذة من كل حيوان في عيوات بلاستيكية بشكل منفرد واضيف الى العلب عدد قليل من الاوراق النباتية الخضراء والاعشاب الخضراء مع وضع قطعة من القطن بحجم صغير ومبللة بالماء لغرض توفير الرطوبة وغطيت فوهة العلب البلاستيكية بقطعة شاش للسماح بدخول الهواء ورقمت هذه العلب ووضعت في مختبر الطفيليات وحفظت بدرجة حرارة المختبر ٢٤-٢٥ درجة مئوية لمدة ٥-٨ ايام مع المراقبة والمتابعة اليومية لمنع حدوث الجفاف وذلك وفقا ل(١٧ و ١٨).

يعد داء الكمثرينات Babesiosis واحدا من اهم الامراض الطفيلية التي تنتقل بواسطة القراد والتي تؤثر سلبا على صحة وانتاجية حيوانات المزرعة خاصة في انتاج الحليب واللحم (١). يسبب هذا المرض في الابقار النوعين *Babesia bovis* و *Babesia bigemina* وهذان النوعان ينتقلان حصريا بواسطة القراد من نوع *Boophilus microplus* (٢) وينتمي هذا النوع من القراد الى مجموعة القراد ذو المضيف الواحد Tick with one host (٣).

يعتمد التمييز بين انواع *Babesia* على الشكل والخصوصية للمضيف وطريقة الانتقال ونوع القراد الناقل والمعلومات الوبائية (٤) اذ ذكر (٥ و ٦) ان في دورة حياة *B. bovis* و *B. bigemina* في قراد *Boophilus microplus* توجد خصائص شكلية مميزة للناشطات Kinetes وان دراسة المواصفات الشكلية والخصائص الجينية لهذه الناشطات يفيد جدا في الدراسات الوبائية وكذلك في التفريق بين انواع *Babesia*.

يكتسب القراد الاصابة بطفيلي *Babesia* خلال ١٦-٢٤ ساعة قبل انفصال التصاقه من على جسم الابقار و اشار كل من (٧ و ٨ و ٩) ان اناث قراد *Boophilus microplus* المحتقنة تصبح مصابة ب *Babesia* اذ تكتسب الاصابة خلال تغذيتها على دم الابقار اصابة هضمية (Alimentary infection) ولا توجد حقائق او أدلة حول الاصابة الهضمية لليرقات او الحوريات وانما يعتقد ان اصل اصابتها يكون عبر المبيض (Transovarian) ومن مرحلة الى مرحلة (Transtadial).

تؤدي اصابة الجهاز الهضمي للقراد الى تطور المراحل النموذجية لطفيلي *B. bigemina* في محتوى المعى (Gut content) والخلايا الظهارية للمعى والسائل الدموي اللمفي (Hemolymph) ويحدث التكاثر الجنسي في القراد الناقل وتتكون الامشاج (Gamonts) ومن ثم تتطور الاشكال الشعاعية Rayed forms (Koch's strahlenkoper) وتبدأ مرحلة التكاثر اللاجنسي الذي ينتج عنه اجسام كويبية الشكل متحركة (Motile club shaped bodies) تسمى الدويدات (Vermicules) او الناشطات (Kinetes) والتي تهاجر الى مختلف الانسجة في جسم القراد وتمتاز هذه الناشطات بسهولة تمييزها باستخدام الفحص المجهرى (٩ و ١٠). يشكل السائل الدموي اللمفي حوالي ٢٠-٤٠% من وزن الجسم وهو سائل مائي يتألف من محاليل مائية من الايونات اللاعضوية والمكونات الاخرى وهو غالبا سائل شفاف عديم اللون وقد يكون متلون باللون الاحمر والاخضر والازرق وكل التبادلات الكيميائية بين الأعضاء تنجز بواسطة هذا السائل مثل

### طريقة جمع السائل الدموي اللمفي

تم جمع السائل الدموي اللمفي وفقا لطريقة (١٦ و ١٩ و ٢٠) اذ وضعت اناث القراد في ٧٠% كحول ايثيلي لمدة ٣-٥ دقائق لغرض تقليل حركتها وتعقيم السطح الظهري لها. ثم مسكت انثى القراد باستخدام ملقط دقيق من منطقة الذراع مع تجنب الضغط بقوة على جسم القرادة وذلك لمنع تحطيم المعى الوسطي وتلوث السائل الدموي اللمفي. بعدها بترت رجل القرادة الاولى من منطقة المفصل القاصي باستخدام مقص دقيق وجمع السائل الدموي اللمفي الذي يبدو بشكل سائل شفاف بعمل ضغط خفيف على السطح الظهري لجسم القرادة ووضع على شريحة زجاجية نظيفة وقد تم قطع ارجل اخرى اضافة الى عمل ثقب في منطقة البطن باستخدام ابرة معقمة لغرض جمع كمية كافية من السائل لعمل عدة مسحات منه. تركت المسحات لتجف، ثم ثبتت مسحات السائل الدموي اللمفي باستخدام الكحول الميثيلي المطلق تركيز ٩٥% او الحرارة لمدة ٣-٥ دقائق. صبغت المسحات باستخدام صبغة الكميذا لمدة ساعة واحدة، ثم غسلت المسحات بالماء المقطر وتركت لتجف واثم فحصت مجهريا باستخدام العدسة الزيتية (X100) وتم استخدام المقياس العيني وذلك لقياس ابعاد الدويديات المشخصة.

ولغرض دراسة تطور طفيلي *Babesia* داخل جسم اناث القراد وملاحظة الاشكال التطورية الاخرى تم عمل قطع في الجزء الفكي والقدمي واخذ مسحات من الدم الخارج من الجسم وكذلك من المعى وصبغها بصبغة الكميذا (٢١) ولقد تم الاعتماد في وصف اشكال الدويديات وقياس ابعادها على (١٣ و ٢٢) ولقد تم قياس ابعاد الدويديات باستخدام المقياس العيني (Ocular micrometer) ولقد حلت نتائج البحث إحصائيا لاستخراج المعدل والانحراف المعياري واستخدام مربع كاي وذلك عند مستوى معنوية ( $p < 0.05$ ) (٢٣).

### النتائج

تبين من خلال فحص السائل الدموي اللمفي لاناث القراد المحتقنة بعد ٥-٨ أيام من بقائها حية تحت ظروف المختبر امكانية تشخيص دويديات *Babesia spp* في ٣١ انثى قراد *Boophilus microplus* وذلك من مجموع ٦٤ انثى قراد جمعت من ٣٢ حيوان وبنسبة اصابة كلية بلغت ٤٨,٤٣% وكما موضح في الجدول (١).

شخصت دويديات *B. bovis* في ٢٢ انثى *Boophilus microplus* وبنسبة قراد ٧٠,٩٦% في حين شخصت دويديات *B. bigemina* في ٢٠ انثى قراد *Boophilus microplus* اي بنسبة ٦٤,٥١%، وذلك من مجموع ٣١ انثى قراد *Boophilus microplus* مصابة بدويديات *Babesia spp* وكما موضح في الجدول (٢).

جدول (١) يبين عدد ونسبة اناث القراد *Boophilus microplus* التي تم فحص السائل الدموي اللمفي لها بعد بقائها حية لمدة ٥-٨ أيام في المختبر والمصابة بدويديات *Babesia spp*

عدد اناث القراد المصابة التي جمع منها القراد	عدد اناث قراد <i>Boophilus microplus</i> بدويديات	عدد اناث القراد المصابة والنسبة المئوية
٣٢	٦٤	٣١ (٤٨,٤٣%)

جدول (٢) يبين عدد ونسبة اناث قراد *Boophilus microplus* المصابة بدويديات *B. bigemina* و *B. bovis*

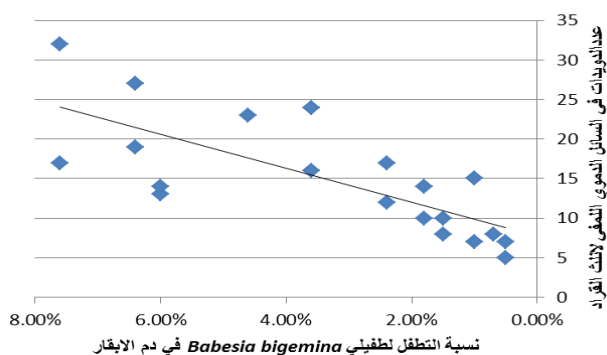
عدد اناث قراد <i>Boophilus microplus</i> المصابة بدويديات	عدد اناث القراد المصابة بدويديات <i>B. bovis</i> والنسبة المئوية	عدد اناث القراد المصابة بدويديات <i>Babesia spp</i> والنسبة المئوية
٣١	٢٢ (٧٠,٩٦%)	٢٠ (٦٤,٥١%)

تم في هذه الدراسة وصف شكل *Babesia spp* وقياس الطول والعرض وكما موضح في الجدول (٣) اذ ظهرت دويديات *B. bovis* على شكل اجسام هلالية او لولبية شبيهة بوتر القوس ذات قمة عريضة ونهاية خلفية مدببة منحنية والنواة مركزية الموقع والفجوة واضحة عند القمة وبلغ معدل الطول  $13,92 \pm 1,34$  مايكرون وبمدى ٨,٨-١١,٨ مايكرون وبلغ معدل العرض  $3,23 \pm 0,44$  مايكرون ومدى ٢,٧-٤ مايكرون وكما موضح في الشكل (١ و ٢) اما دويديات *B. bigemina* فلقد ظهرت على شكل اجسام هلالية او لولبية شبيهة بوتر القوس ذات قمة امامية اقل عرضا من *B. bovis* ولا تحتوي على فجوة والنهاية الخلفية مستقيمة اكثر من منحنية والنواة مركزية الموقع وبلغ معدل الطول للدويديات  $11,39 \pm 1,12$  مايكرون وبمدى ٩,٥-١٣ مايكرون وبلغ معدل العرض  $2,2 \pm 0,51$  مايكرون وبمدى ١,٥-٣ مايكرون وكما موضح في الشكل (٣).

كما تم تشخيص الاطوار التكاثرية لطفيلي *Babesia spp* بمراحل مختلفة في المقاطع والمسحات المعمولة من عمل قطع في الجزء الفكي والقدمي من جسم القراد (مسحات ثخينة من دم القراد والمعى) تم تشخيص مرحلة تكوين المفلوقات والتي لوحظت باعداد كبيرة وتحتوي على عدد كبير من الاجسام الفردية (شكل ٤) وان قسم من المفلوقات قد انفجر وتحررت منه اجسام فردية (Individual bodies) دائرية الشكل (Ring form) غامقة اللون (شكل ٥) والتي تتحول الى مفلوقات بالانقسام المتعدد (Multiple fission) و لوحظ في عدد كبير من المسحات المعمولة هجرة الدويديات من السائل الدموي اللمفي الى انسجة القراد (شكل ٦).

جدول (٣) يوضح المقارنة بين المواصفات الشكلية والقياسية لدويديات *Babesia spp*

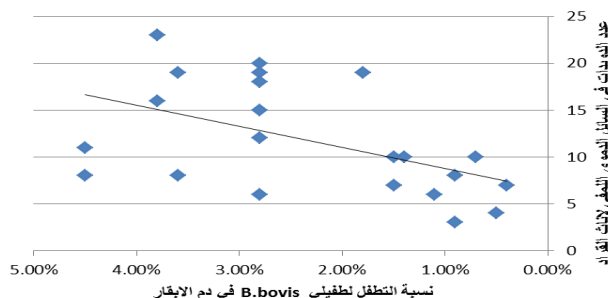
الطفيلي	المواصفات الشكلية	الطول $\mu\text{m}$		العرض $\mu\text{m}$	
		المعدل $\pm$	الانحراف المعياري / المجموع مقسوم على ٢٥ دويدة	المدى	المعدل $\pm$
دويديات <i>B. bovis</i>	اجسام هلالية او لولبية شبيهة بوتر القوس ذات قمة عريضة (شكل الهرارة) ونهاية مدببة النواة مركزية الموقع والفجوة واضحة تقع عند القمة	١,٣٤ $\pm$ ١٣,٩٢	١٥,٨-١١,٨	٠,٤٤ $\pm$ ٣,٢٣	٤-٢,٧
دويديات <i>B. bigemina</i>	اجسام هلالية او لولبية شبيهة بوتر القوس ذات نهاية امامية اقل عرضا (شكل السيكار) من <i>B. bovis</i> ، ولا تحتوي على فجوة، النهاية الخلفية تكون على الاغلب مستقيمة اكثر من منحنية والنواة مركزية الموقع	١,١٢ $\pm$ ١١,٣٩	١٣-٩,٥	٠,٥١ $\pm$ ٢,٢	٣-١,٥



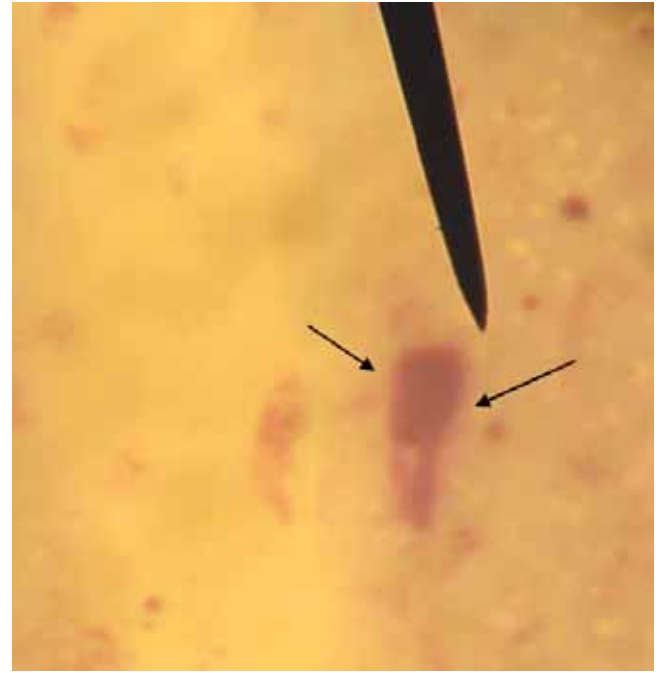
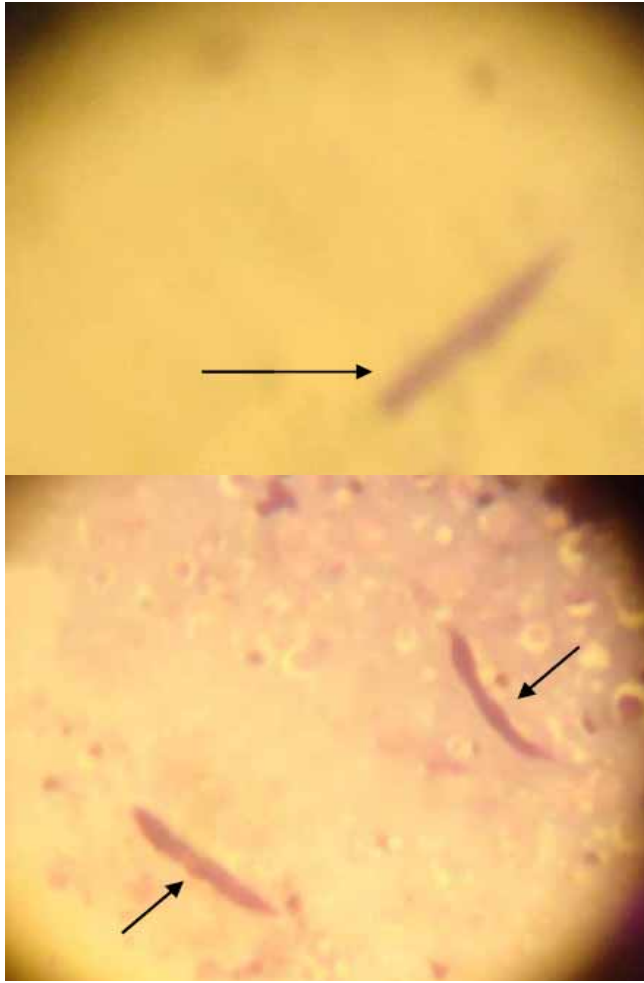
مخطط (٢) يبين علاقة نسبة التطفل لطفيلي *B. bigemina* في دم الأبقار بعدد الدويديات *Babesia bigemina* في السائل الدموي اللمفي لآناث القراد المتغذية على الأبقار.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان إصابة آناث القراد المتغذية على الحيوانات بعمر سنة ونصف -> ٣ سنة بدويديات *Babesia spp* بلغت ٦٠% وهي اعلى من إصابة آناث القراد المحتقنة والمجموعة من الحيوانات بعمر اقل من سنة -> سنة ونصف وعمر ٣ سنوات فاكثر اذ بلغت ٤١,٦٦% و ٤٧,٦١% على التوالي وعند مقارنة النتائج إحصائيا لوحظ عدم وجود فرق معنوي بين عدد ونسبة آناث القراد المصابة بالدويديات والمجموعة من الأبقار بمختلف الفئات العمرية للأبقار وذلك عند مستوى معنوية ( $p < 0.05$ ) وكما موضح في الجدول (٤).

أظهرت الدراسة الحالية علاقة نسبة التطفل بطفيلي *Babesia spp* في دم الأبقار بعدد ومعدل عدد الدويديات المشخصة في السائل الدموي اللمفي فلقد لوحظ انه توجد علاقة مباشرة وطردية بين نسبة التطفل في دم المضيف الفقري و عدد الدويديات المشخصة في القراد الناقل وكما موضح في المخطط (١ و ٢) اذ لوحظ انه كلما تزداد نسبة التطفل لـ *B. bovis* و *B. bigemina* في دم المضيف الفقري يزداد عدد الدويديات في السائل الدموي اللمفي للقراد اذ بلغ معدل ومدى عدد الدويديات *B. bovis* و *B. bigemina* عند نسبة تطفل ٣-٨% ١٤,١٦ (٨-٢٣)، ٢٠,٥ (١٣-٣٢) على التوالي في حين بلغ معدل ومدى عدد الدويديات لكل من *B. bovis* و *B. bigemina* عند نسبة تطفل اقل من ١% و ٢,٩-١% و ٤,٤ (٣-١٠) و ١٢,٩ (٦-٢٠) و ٦,٦ (٣-٨) و ١١,٦ (٧-١٧) على التوالي.



مخطط (١) يبين علاقة نسبة التطفل لطفيلي *B. bovis* في دم الأبقار بعدد الدويديات *Babesia bovis* في السائل الدموي اللمفي لآناث القراد المتغذية على الأبقار.



شكل (١) يوضح دويذة *B. bovis* والتي تمتاز بالقمة الامامية العريضة والنهائية المدببة المنحنية والفجوة واضحة تقع عند القمة الامامية وبقوة تكبير X ١٠٠٠ باستخدام العدسة الزيتية والكاميرا الرقمية.



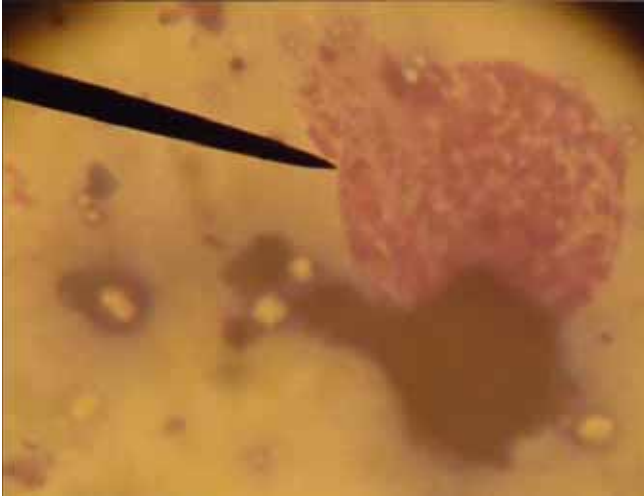
شكل (٢) يوضح التباين في طول دويدات Vermicules لطفي في *B. bovis* في السائل الدموي اللمفي لقراد *B. microplus* بعد صبغها بصبغة الكيمزا وبقوة تكبير X ١٠٠٠ باستخدام العدسة الزيتية والكاميرا الرقمية.

شكل (٣) يوضح دويذة Vermicule لطفي في *B. bigemina* في السائل الدموي اللمفي لقراد *Boophilus microplus* والمصبوغة بصبغة الكيمزا وبقوة تكبير X ١٠٠٠ باستخدام العدسة الزيتية والكاميرا الرقمية.

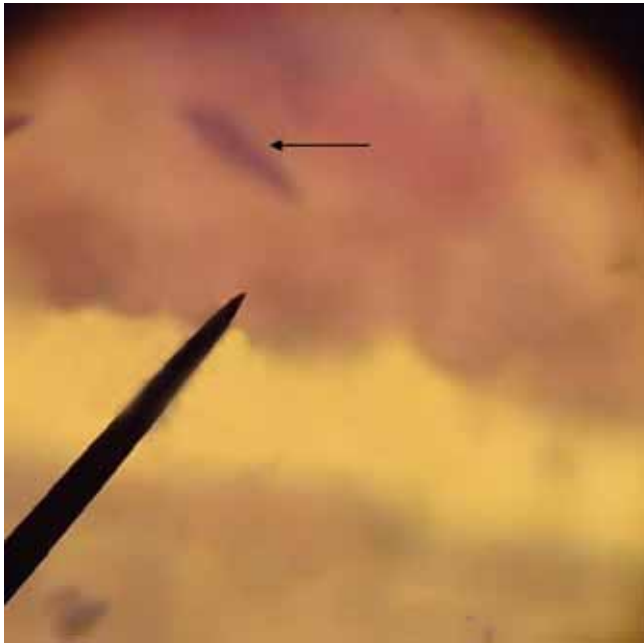
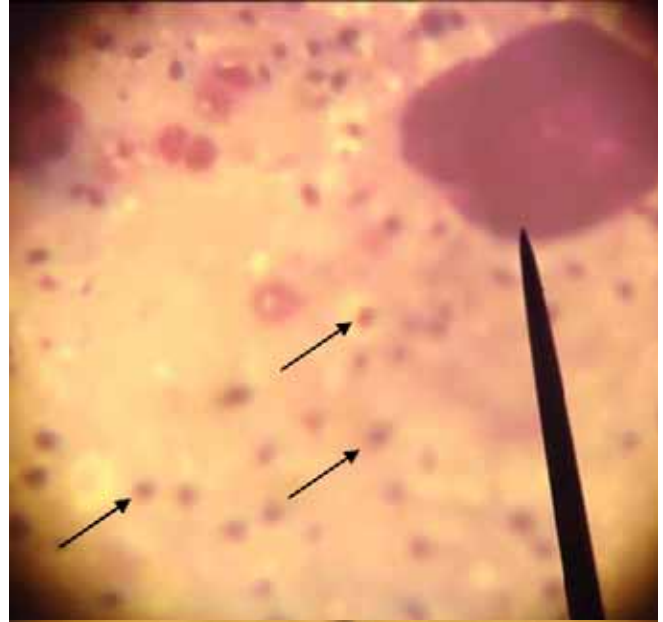
جدول (٤) يوضح علاقة عدد ونسبة اناث قراد *Boophilus microplus* المصابة بدويدات *Babesia spp* بعمر الابقار

عدد ونسبة اناث القراد المصابة بدويدات <i>Babesia spp</i>	عدد اناث القراد المحتقنة والمفحوصة	العمر
٥ (٤١, ٦٦)	a ١٢	اقل من سنة-سنة ونصف
٦ (٦٠)	a ١٠	سنة ونصف- >٣ سنة
٢٠ (٤٧, ٦١)	a ٤٢	٣ سنة فأكثر
٣١ (٤٨, ٤٣)	٦٤	المجموع

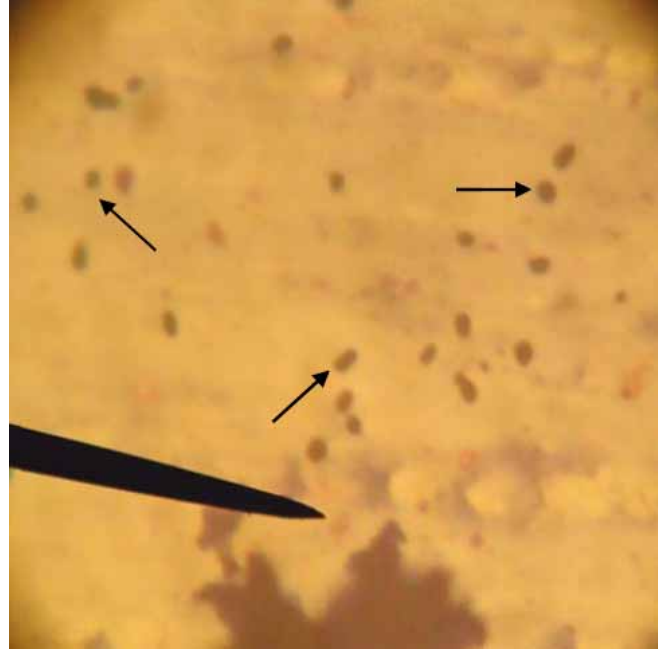
الاحرف المتشابهة تعني عدم وجود فرق معنوي ( $p < 0.05$ )



شكل (٥) يوضح مرحلة انفجار المفلوق schizont وتحرر الاجسام الدائرية وبقوة تكبير X ١٠٠٠ باستخدام العدسة الزيتية والكاميرا الرقمية.



شكل (٦) يوضح هجرة الدويدات Vermicules من hemolymph الى مختلف أنسجة قراد *Boophilus microplus* وبقوة تكبير X ١٠٠٠ باستخدام العدسة الزيتية والكاميرا الرقمية.



شكل (٤) يوضح الاطوار التكاثرية (مرحلة تكوين المفلوقات والاجسام الفردية الدائرية الشكل والغامقة اللون بعد انفجار المفلوقات) لطفيلي *Babesia* spp في المسحات المعمولة من قطع في الجزء الفكي والقدمي من جسم قراد *Boophilus microplus* تكبير X ١٠٠٠ باستخدام العدسة الزيتية والكاميرا الرقمية.

## المناقشة

اتضح في هذه الدراسة تشخيص دويدات *Babesia spp* في السائل الدموي اللمفي لـ (٣١) انثى قراد *Boophilus microplus* وذلك من مجموع (٦٤) انثى قراد جمعت من (٣٢) حيوان وبنسبة اصابة كلية بلغت ٤٨,٤٣% و شخصت دويدات *B. bovis* في (٢٢) انثى قراد *Boophilus microplus* وبنسبة ٧٠,٩٦% في حين شخصت دويدات *B. bigemina* في (٢٠) انثى قراد *Boophilus microplus* أي بنسبة ٦٤,٥١%. كما تم تشخيص الادوار التكاثرية لطفيلي *Babesia spp* بمراحلها المختلفة مثل مرحلة المفلوقات ومرحلة انفجار المفلوقات وتحرر الاجسام الفردية منها ومرحلة هجرة الدويدات من السائل الدموي اللمفي الى انسجة القراد.

ان هذه النتيجة تتفق مع ما ذكره كل من (١٥ و ١٤) بان تقنية فحص السائل الدموي اللمفي وتحضير مسحات من دم واعضاء القراد تعد مهمة لدراسة طرق انتقال الامراض بواسطة القراد وتحديد مدى انتشارها وحوادثها وتكاثرها في القراد والمضيف الفقري كما ان هذا النوع من الفحص يعد مؤشرا رئيسيا لتحديد مدى اصابة القراد بالعامل الممرض وتحديد درجة نشاطه داخل جسم القراد وهجرته من المعى الى الغدد اللعابية و اشار (٥ و ٦) في وصفه للمرحلة التطورية لـ *B. bovis* و *B. bigemina* في قراد *Boophilus* بانه بعد اخذ اناث القراد لدم الابقار المصابة بـ *Babesia* يحدث تحطيم سريعاً لكريات الدم الحمر وتحرر الطفيليات في تجويف المعى وتستمر في دورة الحياة وتكوين المراحل الجنسية.

يعتمد الوقت الذي تستغرقه دورة حياة طفيلي *Babesia* على النوع والقراد الناقل ودرجة الحرارة ومعدل الاصابة في المضيف الفقري والقراد اذ يتم ملاحظة المفلوقات والدويدات لـ *B. bigemina* بعد ٧٢-١٢٠ ساعة في كل من المعى الوسطي والسائل الدموي اللمفي وانايب مالبيجي *Malpighina tubules* (١٣).

توجد صعوبة في تمييز الادوار الجنسية المبكرة والادوار التطورية الاخرى لـ *Babesia* من انسجة القراد عدا المفلوقات او الشكل الحلقي المتحرر من المفلوقات بعد تحطمها والدويدات التي من الممكن تمييزها وعزلها بسهولة من انسجة القراد اذ من الممكن عزل ١٠×٥<sup>o</sup> او اكثر من الدويدات من كل انثى وهي في قمة الاصابة (١٣).

ان تشخيص دويدات كل من *B. bovis* و *B. bigemina* في السائل الدموي اللمفي لاناث القراد *Boophilus spp* والمتغذية على الابقار يتفق مع ما ذكره (١٣ و ١٧ و ٢٤ و ٢٥) بان الادوار البالغة لقراد *Boophilus* (one host tick) هي التي تكتسب الاصابة

بـ *B. bovis* ومن ثم تنقل عبر المبيض بواسطة اليرقات الى الجيل التالي وكما ان الادوار البالغة والحوريات فقط تنتقل *B. bigemina* وان اناث القراد المحتقنة هي المرحلة التي تكتسب الاصابة

الهضمية وذكر (٧) بان الحوريات والبالغات ميزت كأدوار ناقلة عن طريق التغذية المنفصلة على الابقار المستعدة و اشار (٢٦) بان اكتساب الاصابة يحدث خلال ١٦-٢٤ الساعة الاخيرة قبل الانفصال عن المضيف الفقري وان الاصابة الهضمية تقود الى تطور المراحل النموذجية (typical stages) لـ *B. bigemina* في محتوى المعى والخلايا الظهارية للمعى والسائل الدموي اللمفي لذا اصبح من الضروري الانتباه الى ان هناك فروقات معنوية في ناحية انتقال *B. bovis* و *B. bigemina* في قراد *Boophilus microplus* وهي ان *B. bovis* تنتقل حصريا بواسطة اليرقات وان اليرقات تفقد *B. bovis* بعد تحولها الى الحوريات والبالغات ولهذا فان الحوريات والبالغات المتطورة من هذه اليرقات غير مصابة لذا اصبح من الواضح ان الاصابة العمودية vertical infection لا تحدث في القراد ذو المضيف الواحد وانما اصابة عدد من القراد يعتمد على الاصابة الهضمية لاناث القراد المحتقنة وان الاناث البالغة لـ *Boophilus microplus* هي فقط تصبح مصابة بـ *Babesia spp* (١٧ و ٢٧ و ٢٨).

وعند مقارنة المواصفات الشكلية والقياسية لدويدات *Babesia spp* والتي تم تشخيصها في هذه الدراسة وجد انها مطابقة مع ماسجله (١٣) بان طول وعرض *B. bovis* و *B. bigemina* بلغ ١٣,٨٥±٣,٦٦×١,٧١±٠,٦٨ و ١١,٧٦±١,٢٥×٣,٠٩±٠,٦٨ مايكرون على التوالي وايضا تتفق ما اورده (٢٢) وذلك من خلال حساب الطول والعرض لـ ١٢٠ دويده لكل من *B. bovis* و *B. bigemina* فوجد ان معدل الطول للنوع *B. bovis* ١٤,٣±٠,٩٢٢ مايكرون ومدى ١١,٩-١٦,٣ بينما بلغت قياسات النوع *B. bigemina* ١١,٢٧±٠,٩٠٠ بمدى ٩-١٣,١ اما معدل عرض النوع *B. bovis* فلقد بلغ ٣,٣٣±٠,٣١٥ مايكرون ومدى ٢,٦-٤,٢٤ مايكرون ومعدل عرض النوع *B. bigemina* فلقد بلغ ٢,٢٤±٠,٢٨٧ ومدى ١,٥-٢,٨ مايكرون وذكر ان موقع النواة الغالب او الشائع كان مركزيا لكلا النوعين وان ٥٨% من الدويدات للنوع *B. bovis* كانت ذات ذيل منحني بشكل نموذجي.

اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود علاقة مباشرة وطردية بين نسبة التطفل لطفيلي *Babesia spp* في دم الابقار وعدد ومعدل عدد الدويدات المشخصة في السائل الدموي اللمفي ان هذه النتيجة تتفق مع ما ذكره (١٣ و ١٧ و ٢٩) بانه توجد علاقة مباشرة بين نسبة التطفل ووقت سقوط القراد ومستوى تطور *Babesia* في القراد كما ان عدد الدويدات لـ *Babesia spp* المتكونة في اناث القراد يعتمد على نسبة التطفل في دم المضيف الفقري الذي كانت تتغذى عليه اناث القراد خلال ٢٤ الساعة الاخيرة من فترة تغذيتها على الحيوان وعدد الايام التي يبقى فيها القراد حيا بعد التغذية وذكر (١٣ و ١٧) ان الوقت الذي يحدد فيه الدويدات في السائل الدموي اللمفي يختلف ويعتمد على معدلات التطور في نسيج القراد كما ان الظروف المناخية مثل الحرارة تشكل العامل الذي يؤثر على معدل التطور ومعدل نسبة التطفل وتؤثر بشكل رئيسي في تحديد الطفيليات في اعضاء القراد والسائل الدموي اللمفي واورد (٥ و ٦) ان تطور *Babesia* في جميع مراحل القراد يكون

اكثر من تغذية اناث القراد المجموعة من الابقار بخمس مرات ان اختلاف الاصابة بدويدات *Babesia spp* في اناث القراد المتغذية على الحيوانات باختلاف عمرها مع نتائج الباحثين الاخرين قد يرجع الى عدد من العوامل منها درجة اصابة الحيوانات بالقراد ومعدل الاصابة في القراد ودرجة التطفل لـ *Babesia spp* في دم المضيف الفقري وعدد العينات المفحوصة وطرق التربية (٣٣) اضافة الى دور المناعة ضد انواع *Babesia* في المضيف الفقري خاصة في مرحلة الامشاج فبعد امتصاص وجبة الدم فان الاجسام المضادة المتخصصة في معي القراد تحدد استمرارية دورة الحياة وتعادل الامشاج Neutralize the gamonts (٢٦ و ٣٤).

#### المصادر

1. Uilenberg G, International collaborative research : significance of tick-borne hemoparasitic diseases to world animal health. Vet Parasitol. 1995;57(1-3):19-41.
2. Vidotto O, Andrade GM, Amaral CHS, Barboses CS, Freire RI, Rocha MA, Vidotto MC. Frecuencia de anticorpos contra *Babesia bigemina* *Babesia bovis*, *Anaplasma marginale* em rebanhos bovinos naregiao Londrina Parana. Arq Bras Med Vet Zootec. 1997;49:655-659.
3. Mugisha AA, Macleod R, Percy and Kyewalabye. Strategies, effectiveness and rationale of vector-borne disease control in the pastoralist system of South-western Uganda. Trop Anim Health Prod. 2005;37(6):479-489.
4. Aktas M, Dumanli N, Karaer Z, Cakmak A, Sevgili M, Elazig Norval RAI and Mason CA. The ticks of Zimbabwe. the life cycle, distribution and hosts of *Rhipicephalus simus* Koch, 1844, Zimbabwe Vet J. 1981;12: 2-9.
5. Riek RF. The life cycle of *Babesia bigemina* (Smith and Kilborne, 1893) in the tick vector *Boophilus microplus* (canestrini). Aust J Agricul Res. 1964;15: 802-821.
6. Rek RF. The cycle of *Babesia argentina* (I. gnières, 1903) (Sporozoa : Piroplasmida) in the tick vector *Boophilus microplus* (canestrini). Aust J Agricul Res. 1966;17:247-254.
7. Callow LL and Hoyte HMD. Transmission experiments using *Babesia bigemina*, *Theileria mutans*, *Borrelia spp*, and the tick *Boophilus microplus*. Aust Vet J. 1961:381-39.
8. Callow LL. The infection of *Boophilus microplus* with *Babesia bigemina*. Parasitol. 1968:663-670.
9. Mackenstedt U, Gauer M, Fuchs P, Zopp F, Schein E, Mehlor H. DNA measurements reveal differences in the life cycles of *Babesia bigemina* and *B. canis*, two typical members of the genus *Babesia*. Parasitol Res. 1995;81:595-604.
10. Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW. Veterinary Parasitology. 2<sup>nd</sup> ed., Black Well Science 2003; pp:242-245.
11. Wall R, and Shearer D. Veterinary Ectoparasites : Biology, Pathology and control. 2<sup>nd</sup> Edition Blackwell Science Ltd., Osney Mead. Oxford. 2001:9-10
12. Johns R, Sonenshine DE, Hynes WL. Identification of a defensin from the hemolymph of the American dog tick *Dermacentor variabilis*. Insect Biochem Mole Biol. 2001;31:857-865.
13. Ristic M and Kreier V. Babesiosis., Academic Press London. 1981: 358-361.
14. Brossard M and Wikel SK. Tick immunobiology Parasitol. 2004; 129 suppl. S161-176.
15. Machackova M, Obornik M, Kopecky J. Effect of salivary gland extract from *Ixodes ricinus* ticks on the proliferation of *Borrelia burgdorferisensustricto* in vivo. Folia Parasitol. 2006 ; 53:153-158.

جدا حساسا للحرارة من العوامل الممرضة الاخرى اذ لاحظ ان المراحل التطورية المبكرة لـ *B. bovis* و *B. bigemina* في اناث القراد البالغة للنوع *B. microplus* يكون جدا حساسة لدرجة الحرارة البيئية الاقل من ٢٨م وان الانتقال عبر المبيض يتوقف عند درجة حرارة ٢٠م واطافة الى عامل الحرارة فلقد اورد (١٧) ان معدل الاصابة بـ *Babesia* في اناث القراد المحققة والمجموعة من الابقار خلال موسم الامطار يكون معنويا اعلى ( $P < 0.05$ ) من التي تجمع وتفحص خلال موسم الجفاف بينما اظهر معدل الاصابة في اناث القراد المجموعة من العجول عدم وجود فرق معنوي بين موسم الامطار وموسم الجفاف ولقد وجد (٣٠) ان الحدوث الموسمي لـ *B. bovis* و *B. bigemina* في السائل الدموي اللمفي مرتبط بمعدل الطفيلي في القطيع كما ان معدل الاصابة في القراد يتأثر او يتغير حسب سلالة الابقار التي يتغذى عليها القراد ولقد ذكر (٣١) ان فحص السائل الدموي اللمفي للاناث المحققة يعطي مؤشر لنسبة الاناث التي تنقل الاصابة عبر المبيض وتباعا نقل الاصابة الى اليرقات. اظهر نتائج الدراسة الحالية ان نسبة اصابة اناث القراد بدويدات *Babesia spp* قد اختلفت باختلاف عمر الحيوان اذ ظهرت النسبة مرتفعة عند عمر الحيوانات سنة ونصف -  $3 >$  سنوات 60% يليها عند عمر الحيوانات ٣ سنوات فاكثرت اذ بلغت ٤٧,٦١% ثم في الاعمار الصغيرة التي تراوحت اقل من سنة ونصف- سنة ونصف اذ بلغت ٤١,٦٦%. ان الدراسات والمشاهدات الطبيعية حول تحديد الدويدات لطفيلي *Babesia spp* بشكل عام في السائل الدموي اللمفي لاناث القراد تبدو قليلة واغلبها اعتمد على الدراسات التجريبية (١٧) اشارت بعض الدراسات ان عمر الحيوان قد يتداخل بطرق مختلفة في الاصابة بكلا النوعين. ان تشخيص دويدات *Babesia spp* في كل اناث القراد المجموعة سواء من الاعمار الصغيرة والكبيرة في هذه الدراسة قد يشير الى ان المرض متوطن في منطقة الموصل وان المرض في حالة اتزان بيئي وهذا يتفق مع ما ذكره Hadi and Amery (٢١) اذ سجلا نسبة اصابة عالية بكل من *Theileria spp* و *Babesia spp* في القراد *Hyalomma. aanatolicum* وبلغت ٤٣% و ١٥,٢% على التوالي وذكر ان العراق منطقة متوطن فيها كل من مرض *Theileriosis* و *Babesiosis* ان نتيجة هذه الدراسة لا تتفق مع ما ذكره (٣٢) ان دويدات *Babesia spp* كانت اكثر حدوثا في اناث القراد المجموعة من العجول (٢٩,٦%) اكثر من الابقار (٢,٩٦%) خاصة في الحيوانات التي ظهر في دمها نسبة تطفل بـ *Babesia* وكذلك في دراسة لـ (١٧) اذ تم جمع ٢١٥٦ انثى قراد *B. microplus* قسمت الى ٣٨٣ انثى قراد جمعت من العجول و ١١٢٣ جمعت من الابقار ومن خلال فحص السائل الدموي اللمفي لجميع الاناث تبين ان الاصابة الكلية بدويدات *Babesia spp* في اناث القراد ١٠,١% وان معدل الاصابة في اناث القراد المجموعة من العجول بلغت ١٧,٥% وهي معنويا اعلى ( $P < 0.05$ ) من اناث القراد المجموعة من الابقار ووجد ان تغذية اناث القراد المجموعة من العجول كانت



25. Soulsby E.J.L. Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. 7<sup>th</sup> ed., Philadelphia, Bailliere Tindall, London, 1986;707-718
26. Friedhoff K.T. Interaction between parasite and tick vector. Int J Parasitol. 1990;20:525-535.
27. Mahoney D.F. and Mirre G.B. *Babesia argentina*: The infection of splenectomized calves with extracts of larval ticks (*Boophilus microplus*) Res Vet Sci. 1974;16:112-114
28. Potgieter F.T., ELS H.J. An electron microscopic study of intra-erythrocytic stages of *Babesia bovis* in the brain capillaries of infected splenectomized calves. Onderstepoort J Vet Res. 1976;46:41-49.
29. Hodgson J.L., Stiller D., Jasmer D.P., Buening G.M., Wanger. Nymphal and adult *Boophilus microplus* using DNA Probe. Parasitol 1992;74:117-126.
30. Johanson L.A.Y. Epidemiology of bovine babesiosis in northern Queensland. Aust Vet J. 1967;43:427-431
31. Mahoney D.F. and Mirre G.B. Bovine Babesiosis: estimation of infection rates in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). Annals Trop Med Parasitol J. 1971;65:309-317.
32. Oliveira M.C.S., Oliveira T.C.G., Jr A., Amarante A.F.I., Oliveira H.N. *Babesia spp.* infection in *Boophilus microplus* engorged females and eggs in Sao Paulo State, Brazil Vet Parasitol. 2005;130:61-67.
33. Friedhoff K.T. and Smith R.D. Transmission of Babesia by ticks. 1981. In Ristic M., Kerier J.P. (eds), Babesiosis, Academic Press, San Diego. p:267-321
34. Lal A.A., Patterson P.S., Sacci J.B., Vaughan J.A., Collins W.E., Wirtz R.A., Azad A.B. Anti-mosquitoes midgut antibodies block development of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in multiple species of Anopheles mosquitoes and reduce vector fecundity and survivorship. Proc Natl Acad Sci USA. 2001;98:5228-5233.
16. Patton T.G., Dietrich G., Brandt K., Dolan M.C., Piesman J., Gilmore R.D., Saliva, salivary gland and hemolymph collection from *Ixodes scapularis* ticks. JVE Immunol Infect. 2012;60:1-13.
17. Quintao-Silva M.G., and Ribeiro M.F.G. Infection rate of *Babesia spp.* Sporokinetes in engorged *Boophilus microplus* from an area of enzootic stability in the state of Minas Gerais, Brazil Mem Inst Oswaldo Gruz. 2003;98(8):1-6
18. Tavassoli M., Tabatabaei M., Mohammadi M., Esmaeilinejad B., Mohamad Pour H. PCR-based detection of *Babesia spp.* Infection in collected ticks from cattle in west and north-west of Iran. J Arthropod-Borne Dis. 2013;7(2):32-238.
19. Burgdorfer W., Hemolymph test. A technique for detection of rickettsiae in ticks. Am J Trop Med Hyg. 1970;191:1010-1014.
20. Akinboade O.A. and Dipeolu O.O. Detection of *Babesia bovis* infection in *Boophilus geigy* with egg crushings, larval smears and haemolymph puncture. Veterinary Quarterly. 1981;3:3:143-147
21. Hadi A.M. and Al-Amery A.M.A. Isolation of Theileria and Babesia from gut and ovary of Hard ticks *Hyalomma anatolicum* in Baghdad. Diyala Agricul Sci J. 2012; 4(2): 1-8.
22. Guglielmone A.A., Gaid A.B., Mangild A.J. Light microscopy diagnosis of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* kinetes in the hemolymph of artificially infected *Boophilus microplus* engorged female ticks. Vet parasitol. 1996;61(1-2):15-20.17.
23. Petrie W.P. Statistics for veterinary and animal science. Blackwell Science. London. 2003;101-113
24. Walker A., Bouattour A., Camicas I., Estrado Pena A., Horak I.G., Latif A.A., Pergram R.G., Preston P.M. Ticks of domestic animals in Africa. A guide to identification of species Bioscience Reports. Comiston Drive, Edinburgh EH105QR., Scotland UK., 2003.