

دراسة بعض المعايير المناعية الناتجة عن حقن مستضدات مختلفة للقراد نوع

Boophilus annulatus في الأرانب المحلية

عبد الوهاب بديوي حسين الكبسي

فرع الطفيليات - كلية الطب البيطري / جامعة الأنبار

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير حقن مستضدات مختلفة (الرأس والجسم والمستضد الكلي) للقراد جنس *Boophilus annulatus* على بعض المعايير المناعية (كمية الأجسام المضادة IgG, IgA, IgM، والمتمم C4, C3 وفحص البلعمة بطريقة NBT وقطر دائرة الهجرة للخلايا العدلة).

أظهرت النتائج ارتفاع معنوي في معدل الخلايا العدلة في مجموعة مستضد الرأس مقارنة بالسيطرة وكذلك معدل خلايا الدم البيضاء الكلي مقارنة ببقية المستضدات. كذلك ارتفع معنوياً معدل كل من سمك طيتي الجلد ومساحة المنطقة المتهيجة في جميع المعاملات مقارنة بالسيطرة وبلغ أعلى معدل لسمك طيتي الجلد 7.70 ملم خلال 24 ساعة والمنطقة المتهيجة 17.86 ملم أيضاً خلال 24 ساعة لكل من معاملي المستضد الكلي ومستضد الجسم على التوالي.

كذلك ارتفع مستوى الأجسام المضادة نوع IgA معنوياً مقارنة بالسيطرة في معاملات مستضد الرأس والمستضد الكلي وبلغ أعلى معدل لمستوى IgA 422 ملغم/ 100 مل وارتفع مستوى IgM معنوياً في معاملات المستضد الكلي والجسم وبلغ أعلى مستوى معدل IgM 250 ملغم/ 100 مل في معاملة المستضد الكلي. ولم يلاحظ فروق معنوية مقارنة بالسيطرة في معاملات المتمم لكافة المعاملات. أما اختبار صبغة NBT سجلت فروق معنوية في كافة المعاملات مقارنة بالسيطرة وبلغ أعلى نسبة مئوية لاختزال الصبغة 12.33% في مجموعة الرأس مقارنة بمجموعة السيطرة 5.66% وكان هناك تأثير معنوي لكافة المستضدات على نسبة الخلايا العدلة الحية مقارنة بالسيطرة. فيما لم تظهر المستضدات تأثير معنوي على قطر دائرة الهجرة لكافة المعاملات مقارنة بالسيطرة.

Study of some immunological criterions against some antigen of *Boophilus annulatus* in local rabbits

A.B. Hussain

College of Veterinary Medicine \ University of Anbar

Abstract

The study included the effect of different injection antigen (head, body and whole) antigen of ticks species *Boophilus annulatus* in local rabbit on some immunological criterions. (The amount of immunoglobulin type IgG, IgA, IgM and complement C3, C4, and phagocytocys test by method Nitroblutetrazolium and Migretion inhibition factor of Neutrophil cell).

The result showed significant increase of Neutrophil cell and white blood cell count in group head antigen when compare with control group. Significant increase in double-

fold skin thickness and erythema area the highest skin thickness and erythema area 7.70 mm and 17.86 mm after 24 hrs in whole and body antigen respectively.

Significant of immunoglobulin type IgA in head and whole antigen group. The highest level 422 mg/100 ml and significant increase of IgM in group of whole and body antigen and the highest level of IgM 250 mg/ 100 ml in group whole antigen. No significant increase in complement level in all treatment when compare with control group. Where the NBT test showed significant increase in all treatment when compare with control group and the highest percentage 12.33% in group of head antigen. When compare with control group 5.66% and significant level of the percentage of viability of Neutrophile cell. Where no significant effect of diameter of migration of Neutrophile cell in all group when compare with control group.

المقدمة

القراد طفيليات خارجية تقوم بإفراز اللعاب في جسم العائل الذي تصيبه وتقوم بامتصاص دمه (1) وتعد عملية امتصاص الدم بكميات كبيرة وكثرة أعدادها من المشاكل المهمة وغالباً ما تتعرض الحيوانات المصابة إلى حمى القراد وتظهر عليها أعراض فقدان الشهية والهزال وقلّة الإنتاج (2). يتسبب القراد في نقل العديد من الأمراض الانتقالية إلى الإنسان مثل حمى الربيع المتسببة عن *Coxiella burneti* والتهاب الدماغ الفايروسي الصيفي والربيعي وحمى الكونغو النزفية *Canqo haemorrhagic fever* (3, 4).

كذلك نقل العديد من الأمراض إلى الحيوانات مثل *anaplasmosis* الذي يسببه طفيلي *Anaplasma marginale* الذي يسبب فقر الدم كذلك البابابيزيا *babesiosis* الذي يسببه طفيلي *B. bigmina* و *B. bovis* سببه الحمى وفقر الدم والثاليريا *theileriosis* الذي تسببه *Theileria annulata* و *T. parva* الذي يصيب العقد اللمفاوية (5).

تمكّن (6) من استخلاص مواد بروتينية من الغدد اللعابية للطفيليات البالغة غير المتغذية والمتغذية جزئياً، واستطاع (7) من عزل وتنقية بروتين ذو فعل مناعي مثبط ويوزن جزئياً 36 كيلو دالتون من الغدد اللعابية لإنات القراد الصلب نوع *Dermaoentor andersoni*، وتمكّن (8) من استخلاص مستضد ذاتب من غشاء القناة الهضمية الوسطى لقراد *Boophilus microplus*.

ذكروا (9، 10، 11) من الممكن ان تكتسب الحيوانات المصابة مقاومة ضد القراد لتعرضها لبعض المستضدات أو نتيجة تعرضها لإصابات طبيعية مسبقة بالطفيلي. لذا يمكن ان يكون للمستخلصات المستضدية المتمثلة بمستخلص كامل جسم البالغات *whole adult extract* ومستخلص كامل جسم الحوريات *whole nymph extract* ومستخلصات الغدة اللعابية وأجزاء الفم وكذلك مستخلص القناة الهضمية الوسطى دوراً فاعلاً في عمليات التمنيوعا، أحداث المقاومة للعائل الحيواني (7، 12، 13).

لذا ارتأينا القيام بهذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير حقن مستضدات القراد نوع *Boophilus annulatus* على بعض المظاهر المناعية في الأرانب المحلية.

المواد وطرائق العمل

1. جمع عينات القراد: استخدمت طريقة Marquadt وزملائه (14) لهذا الغرض.
2. تحضير المستضدات: استخدمت طريقة Boese (15) لهذا الغرض.
3. تصميم التجربة: استخدمت ثلاث أرانب محلية وتم حقنها بأنواع المستضدات وحسب طريقة Crofton وزملائه (16).

4. اختبار فرط الحساسية المتأخرة: استخدمت طريقة Brooks وزملائه (17) لهذا الغرض.
5. اختبار صبغة NBT: استخدمت طريقة Khalifa وزملائه (18).
6. قطر دائرة الهجرة: استخدمت طريقة Nonoyame وزملائه (19) لهذا الغرض. وطريقة الفحص المحورة من قبلنا. إذ استخدمنا صبغة كمزا لصبغ الخلايا العدلة وقياس قطر دائرة الهجرة.
7. قياس الأجسام المضادة والمتمم: استخدمت طريقة Single Radial Immuno Diffusion Assay لها الغرض.
8. الإحصاء: استخدم الاختبار Factorial analysis لهذا الغرض.

النتائج

أظهرت نتائج الدراسة فروقاً معنوية في أعداد كريات الدم البيضاء بين مجموعة السيطرة ومجموعة مستضد الرأس فيما لم تظهر فروق معنوية بين السيطرة وبقية المعاملات. أما في العد التفرقي لخلايا الدم البيضاء فأظهرت النتائج فروق معنوية في الخلايا العدلة بين مجموعة السيطرة ومجموعة مستضد الرأس وفي الخلايا اللمفاوية أظهرت النتائج ان هناك فروق معنوية بين مجموعة مستضد الرأس وكل من المستضد الكلي ومستضد الجسم فيما لم تظهر بقية أنواع الخلايا فروقاً معنوية بين مجموعة السيطرة وبقية المعاملات (جدول 1).

جدول (1) يبين النسبة المئوية للعد التفرقي لكريات الدم البيضاء

W.B.C الكلي	Monocyte المعدل ±	Eosinophil المعدل ±	Lymphocyte المعدل ±	Neutrophil المعدل ±	المعاملة
A 62666 ± 21571	6666 ± 2309	3666 ± 1527	7666 ± 1527	A13333 ± 5686	Control
B 28666 ± 12055	4000 ± 1732	2000 ± 2000	A 4000 ± 1000	B 5333 ± 3055	Head
A 63333 ± 13012	6333 ± 577	3000 ± 1000	B 11000 ± 3605	A 11333 ± 3000	Total
A 59333 ± 16772	5666 ± 2081	2666 ± 2516	C 12000 ± 5000	A11200 ± 4041	Body

أظهر (جدول 2) ان هناك فروق معنوية في سمك طبتي الجلد بين كل من مجموعة السيطرة وبقية المجاميع بعد 24 ساعة و 48 ساعة فيما لم تظهر النتائج فروق معنوية بين مجاميع المعاملات وبلغ أعلى معدل لسمك طبتي الجلد 7.70 ملم في مجموعة المستضد الكلي بعد 24 ساعة، أما بعد 48 ساعة فبلغ أعلى معدل لسمك طبتي الجلد 6.26 ملم في مجموعة مستضد الجسم. أما بعد 48 ساعة فلم تظهر أي فروق معنوية بين معاملات التجربة ومجموعة السيطرة.

أما قطر دائرة الاحمرار فبلغ معدله 17.86 ملم في جلد مجموعة المستضد الجسمي وفي الوقت 48 ساعة فقد بلغ أعلى معدل 17.20 ملم في مجموعة مستضد الرأس وكانت هناك فروق معنوية بين جميع معاملات التجربة مع مجموعة السيطرة ولم تظهر فروق معنوية بين المعاملات.

جدول (2) يبين استجابة فرط الحساسية المتأخرة في الأرناب المحقونة بمستضدات مختلفة

بعد 72 ساعة		بعد 48 ساعة		بعد 24 ساعة		المعاملة
مساحة المنطقة التهيجة mm	سمك طيتي الجلد mm	مساحة المنطقة التهيجة mm	سمك طيتي الجلد mm	مساحة المنطقة التهيجة mm	سمك طيتي الجلد mm	
A0.00	A2.19 ± 0.18	A0.00	A2.38 ± 0.15	A0.00 ± 1527	A2.28 ± 0.11	Control
B2.91 ± 1.17	B2.26 ± 0.38	B17.20 ± 9.97	B6.23 ± 0.70	B17.80 ± 5.05	B6.70 ± 0.62	Head
B3.11 ± 0.84	B2.30 ± 0.96	B16.30 ± 2.75	B6.03 ± 2.00	B16.83 ± 1.64	B7.70 ± 2.52	Total
B3.23 ± 0.12	B2.15 ± 0.57	B14.70 ± 2.76	B6.26 ± 0.50	B17.86 ± 3.28	B7.06 ± 0.50	Body

واظهر (الجدول 3) معدلات تركيز الأجسام المضادة IgA، IgG، IgM حيث وجد ان الأجسام المضادة نوع IgG سجلت فروقاً معنويةً بين مجموعة السيطرة ومجموعتي مستنضد الجسم والمستنضد الكلي. أما الأجسام المضادة نوع IgA فقد أظهرت النتائج ان هناك فروق معنوية بين مجموعة السيطرة ومجموعة مستنضدات الرأس والمستنضد الكلي. وأما الأجسام المضادة نوع IgM فقد ظهر فرقاً معنوياً بين مجموعة السيطرة وكل من مجموعة المستنضد الكلي ومستنضد الجسم.

جدول (3) معدل مستوى الأجسام المضادة IgG، IgA، IgM /ملغم/ 100 مل

IgM	IgA	IgG	المعاملة
A 121 ± 76	A 201 ± 45	A3653 ± 490	Control
A 88 ± 10	B 278 ± 183	A 3371 ± 889	Head
B 250 ± 181	B 422 ± 19	B 2175 ± 306	Total
B 176 ± 91	A 269 ± 176	B1928 ± 1949	Body

أما معدل مستوى قياس مستوى المتمم C3 و C4 فقد أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية في معدلات كمية المتمم C3 و C4 بين مجموعة السيطرة وبقية المعاملات وبلغ أعلى معدل لكمية المتمم C3 في مجموعة المستنضد الكلي 240 ملغم/ 100 مل وبلغ أعلى مستوى لمعدل المتمم C4 78 ملغم/ 100 مل في مجموعة السيطرة جدول (4).

جدول (4) معدل مستوى المتمم C3، C4 لمعاملات الرأس والجسم والكلي /ملغم/ 100 مل

المعاملة	C3	C4
Control	A432 ± 9	A 78 ± 12
Head	A 373 ± 48	A 68 ± 45
Body	A 402 ± 38	A 69 ± 10
Total	A240 ± 161	A 35 ± 30

يظهر الجدول (5) تأثير حقن مستضدات الرأس والجسم والمستضد الكلي على اختزال صبغة NBT حيث أظهرت النتائج ارتفاع معنوي في معدلات قيم الخلايا العدلة القادرة على اختزال صبغة NBT مقارنة مع مجموعة السيطرة وبلغت أعلى معدلات اختزال الصبغة في مجموعة مستضد الرأس وبلغت 12.33% مقارنة بالمعاملات الأخرى.

جدول (5) يبين تأثير حقن مستضدات الرأس والجسم والكل على اختزال صبغة NBT في الخلايا العدلة

المعاملة	النسبة المئوية للخلايا المختزلة للصبغة ±	الانحراف المعياري ±
Control	A 5.66	0.33
Head	B 12.33	0.66
Body	B 10	0.57
Total	B 10.33	1.20

أما تأثير إضافة المستضدات المختلفة على حيوية ونشاط الخلايا العدلة Neutrophil وكما يلاحظ فإن لإضافة المستضدات تأثير معنوي على نسبة الخلايا الميتة مقارنةً بمجموعة السيطرة وبلغت أعلى نسبة للخلايا الميتة 2.66% في كل من مجموعة المستضد الكلي ومستضد الرأس مقارنةً بمجموعة السيطرة 5.66% (جدول 6).

جدول (6) يبين تأثير إضافة المستضدات المختلفة على حيوية أو نشاط الخلايا العدلة

المعاملة	النسبة المئوية للخلايا الحية	الانحراف المعياري ±
Control	A 5.66	0.88
Head	B 2.66	1.20
Body	B 2.00	0.57
Total	B 2.66	0.33

يبين الجدول (7) تأثير حقن مستضدات الرأس والجسم والمستضد الكلي على قطر دائرة الهجرة للخلايا العدلة في الأكار صورة (1) وكما يلاحظ فإن لحقن هذه المستضدات تأثير معنوي على جميع المعاملات مقارنةً مع مجموعة السيطرة وكما ظهر أعلى معامل تثبيط للهجرة بلغ 0.84 عند حقن مستضد الجسم فيما بلغ 0.71 عند حقن المستضد الكلي.

جدول (7) يبين تأثير مستضدات الرأس والجسم والكل على قطر دائرة الهجرة للخلايا العدلة (ملم)

المعاملة	قطر دائرة الهجرة (ملم) \pm الانحراف المعياري	عامل تثبيط الهجرة
Control	A22.14 \pm 3.16	1
Head	B18.26 \pm 2.10	0.82
Body	B18.67 \pm 4.51	0.84
Total	B15.74 \pm 1.28	0.71



صورة (1) أ: تمثل السيطرة، ب: تمثل المعاملة

المناقشة

تمكن العديد من الباحثين من استخلاص مستضدات القراد المختلفة فقد تمكن (6، 7، 20) من فصل مستضدات الغدة اللعابية لأنواع من القراد الصلب مثل *Hyalomma truncatum*. وذكر (21، 22) أن العلاقة بين العائل والقراد والمسبب المرضي الذي ينقله تتميز بوجود تداخلات مناعية معقدة فتغذية القراد تشجع مناعة العائل من خلال تكوين الأجسام المضادة والخلايا المميزة للمستضد وخلايا T وان المقاومة المكتسبة للعائل تضعف تغذية القراد وتقلل إنتاج البيوض وتضعف حيويتها. أشارت نتائج اختبار فرط الحساسية المتأخرة إلى أعلى معدل بسمك الجلد بلغت 7.70 ملم عند حقن المستضد الكلي والاحمرار 17.86 ملم عند حقن مستضد الجسم في الوقت 24 ساعة و6.26 ملم في سمك الجلد و17.20 ملم لمساحة المنطقة المتهيجة عند حقن مستضدات الجسم والرأس على التوالي، وكانت هناك فروق معنوية في جميع المعاملات مقارنة مع السيطرة إذ تتفق مع ما توصل إليه (23، 24). وذكر (25، 26) إلى أن تفاعلات فرط الحساسية المتأخرة دليلاً على وجود تفاعلات مناعية خلوية أي أنها ليست ناتجة عن الأجسام المضادة الموجودة في المصل.

أما تجربة الأجسام المضادة فقد أظهرت النتائج ارتفاع معنوي في مستوى الأجسام المضادة IgG ، IgM وكذلك مستوى الأجسام المضادة IgA في كل من مجموعة مستضد الرأس والمستضد الكلي. ان هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه (27) الذي أشار إلى قدرة المستضدات المختلفة على تحفيز الجهاز المناعي للعائل وإنتاج الأجسام المضادة. وأشار (6، 11) ان الكفاءة التمييزية والقدرة على أحداث الاستجابة المناعية للمستضدات المختلفة ناتجة عن اختلاف في تركيب المستضد (نوع المستضد). وذكر (28) إلى ارتفاع المعيار الحجمي

للأجسام المضادة نوع IgE، IgM في الأرناب ضد نوع القراد *R. appendiculatus*. وأضاف (29) عند إصابته القران نوع WBB6FI ببرقات القراد *Haemaphysalis longicornis* إلى ارتفاع مستوى الأجسام المضادة نوع IgE وكذلك الخلايا الحمضة.

وفي تجربتنا الحالية لم نجد ارتفاع معنوي في معدلات مستوى المتمم نوع C3 وC4 وهذا ما أكده (30) الذي ذكر ان مستخلص الغدة اللعابية للقراد نوع *Dermacentor andersoni* في الأرناب الاعتيادية قد شجع التفاعلات الالتهابية استجابةً للقراد المتطفل على تلك الحيوانات وان هذه الفاعلية تعود إلى المتمم C5 وليس للمتمم C3. ووجد (31) ان مستخلصات الغدة اللعابية للقراد الصلب بأنواعها *I. ricinus*، *I. hexagonus*، *I. luriae* لها القابلية على تثبيط فاعلية المتمم وتختلف هذه القابلية تبعاً لاختلاف نوع العائل المستخدم كمصدر للمتمم. وفي تجربة اختبار صبغة NBT وجد ان هناك ارتفاع معنوي في عدد الخلايا القادرة على اختزال صبغة NBT لكافة المعاملات مقارنةً بمجموعة السيطرة. ان نتاج فاعلية البلعمة يتحدد بمجموعة عوامل تتمثل بطبيعة الكائنات الدقيقة من حيث تكوينها الوظيفي والوراثي إضافة إلى طبيعة الخلايا الملتزمة (17، 25). وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره (27) الذي أشار إلى زيادة معنوية في نسبة الخلايا الملتزمة لصبغة NBT في الأرناب المحقونة بمستضدات القراد نوع *H. anatolicum*. وعند خلط تراكيز من المستضدات المختلفة مع الخلايا العدلة نلاحظ ان هذه المستضدات كان لها تأثير معنوي على انخفاض نسبة الخلايا الحية وكان المستضد الجسمي هو الأكثر تأثيراً والذي بلغ 2% كما لوحظ تأثير معنوي على هجرة الخلايا العدلة في الزجاج وكذلك في جميع المعاملات مقارنة بالسيطرة ولكن التأثير على عامل تثبيط الهجرة كان واضحاً من خلال تسجيل أعلى عامل تثبيط 0.71 في مجموعة المستضد الكلي (الجدول 7). وهذا ما أكده (17) إلى ان الخلايا الملتزمة وعلى وجه الخصوص الخلايا العدلة تساهم في مقاومة مسببات المرضية وانتقالها وبالذات في المراحل الأولية من الإصابة.

المصادر

1. Irvn, A. D., J. J. McDermot and B.D. Perry. (1997). Epidemiology of tick and tick-born diseases in eastern, Central and Southern Africa, pp. 174.
2. Willedsen, P. and F. Jonqenjan. (1999). Immunology of the tick- host interaction and the control of tick and tick- born diseases. Parasitology body, 15 (7): 258-261.
3. Soneshine, D. E. (1993). Biology of ticks, Vol.2. Oxford University press, New York, pp.452.
4. Larisa, V. (2001). Tick biology background information on the biology of ticks. University of California, Davis, pp. 1-4.
5. Solsby, E.J.L. (1986). Helminths arthropods and protozoa of domesticated animal, 7th ed., Bailliere- Tindall, London.
6. Tikki, N., A. Rhalem, A. Saalak and Sahibi. (1999). Femal tick *H.marginatum marginatum* salivary gland: Preliminary study on protein change during feeding process and antigens recognized by repeatedly infested cattle. Parasite., 6(4): 303- 309.
7. Warne, F. C. (2002). Immunology of tick paralysis, other kind of immunity of resistance, internet top menu, pp. 1-2.
8. Jakson, L. A. and J.P. Opdebeek. (1995). The effect of various adjuvants on the humoral immune response of sheep and cattle on soluble and membrane midgut antigen of *Boophilus microplus*. Vet. Parasitol., 58 (1-2): 129- 141.
9. Atwell, R. (2002). Immunology of tick paralysis. Internet top menu., pp.1-2.
10. Wikel, S. K. (1996). Host immunity to ticks, Annu. Rev. Entomol., 41: 1- 22.
11. Lee, R. P., L. A. Jackson and J. P. Opdebeek. (1991). Immune response of cattle to biochemically modified antigens from the midgut of the cattle tick, *Boophilus microplus*. Parasite. Immunol., 13 (6): 661- 672.

12. Kepecky, J. and M. Kuthejlova. (1998). Suppressive effect of *Ixodes ricinus* salivary gland extract on mechanisms of natural immunity in vitro. *Parasite Immunol.*, 20 (4): 169- 174.
13. Dhadialla, T. S., B. Rutti and M. Brossard. (1990). Induction of host resistant to *Rhipicephalus appendiculatus* tick tissue protein. *Parasitology*. 76: 536- 539.
14. Marquardt, W. C., R. S. Demuree and R. B. Grieve. (2000). *Parasitology and vector Biology*. Second Edition. Academic press. Attarcourt Science and Technology Comp. San Diego, Cali., USA., 92101- 4495.
15. Boose, L. J. (1974). Rabbit immunity to the rabbit tick, *Haemaphysalis leporisoluus* (Axarine: Ixodida); the development of resistance. *J. Med. End.*, 11 (5): 503- 512.
16. Croften, S. J., H. Narman and F. Miller. (1992). *A textbook on tuberculin testing*. U.K., pp. 187- 192.
17. Brooks, G. F., J. S. Butle and S. A. Morse, Jawetz, Mclinck and Adelbergs. (2001). *Medical microbiology, lunge medical Books*. McGraw- Hill medical, Pub. Div. chapter 8 Immunology, pp. 109-131.
18. Khalifa, K. A., Y. P. Rhida, F. K. Hassan and A. A. Al-Razak. (1984). The use of nitroblue tetrezolium test for detection of phaqocytosis activity in adult rats infected with bacteria. *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.*, 5 (3): 103- 106.
19. Nonoyema, S., Kojo, H., Mine, Y., Nishida, M., Gota, S. and Kuwahora, S. (1979). Inhibitory effect of *P. aeruginosa* on the phaqocytic and killing of rabbit polymorphonuclear Leukocyte inhibitor. *Infect. Immune.*, 24: 399- 403.
20. Janse- Van- Vuuren, A. M., J. C. Crause, J. A. Vershoor and A. W. Neitz. (1992). The identification of a shared immunogen present in the salivary gland and gut of ixodid and argasid ticks. *Exp. Appl. Acarol.*, 15 (3): 205- 210.
21. Barriga, O. O. (1999). Evedence and mechenisms of immunosuppression in tick infestations. *Genet. Anal.*, 15 (3-5): 139- 142.
22. Brossard, M. and S. K. Wikel. (1997). Immunology of interactions between tick and hosts. *Med. Vet. Entomol.*, 11: 270- 276.
23. Abbas, A., A. H. Lichtman and J. S. Pober. (2000). *Cellular and molecular immunology*. 4th ed., Saunders, pp. 109- 115.
24. Benschop, R. J. and J. C. Cambier. (1999). B cell development: signal transduction by antigen receptors and their surrogates *curr. Opin. Immunol.*, 11: 143.
25. Roitt, I. M., J. Brostoff and D. Male. (2001). *Immunology*. 6th ed Mosby, pp.1-16.
26. Parham, P. (2000). *The immune system*. Garland / Elsevier, pp. 127- 132.
27. Al- Hayani, H. S. A. (2003). *Experimental Resistance to tick species Hyalomma anatolicum*. PhD Thesis College of Science – Al- Anbar University,
28. Fivaz, B. H. (1990). Immunological responses of the rabbit host infestation by the brown ear tick *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann. *J. Parasitol.*, 75 (6): 946- 952.
29. Ushio, H., N. Watanabe, Y. Kiso, S. Higuchi and H. Matsuda. (1993). Protective immunity and mast cell and eosinophil responses in mice infested with larval *Haemaphysalis longicornis* ticks. *Parasite Immunol.*, 15 (4): 209- 214.
30. Gorden, J. R. and J. R. Allen. (1991). Nonspecific activation of complement factors by isolated *D. andersoni* salivary antigen. *J. Parasitol.*, 77 (2): 296-301.
31. Lawrie, C. H., S. E. Rondolph and P. A. Nuttall. (1999). Ixodid ticks: serum species sensitivity of anticomplement activity. *Ex. Parasitol.*, 93 (4): 207- 214.