Nyindo, M.; Essuman, S. and Dhadialla T.S. (1989): Immunization against ticks: use of salivary gland antigens and infestation with *Rhipicephalus appendiculatus*. Journal of Medical Entomology, 26 (5): 430-434.

Opdebeeck, J.P. and Daly, K.E. (1990): Immune response of infested and vaccinated Hereford cattle to antigens of the cattle tick *Boophilus microplus*. Veterinary Immunology and Immuno-Pathology, 25 (1): 99-108.

Opdebeeck, J.P.; Wong, J.Y.M. and Dobson, C. (1989): Hereford cattle protected against *Boophilus microplus* with antigens purified by immunoaffinity chromatography from larval and adult ticks. Immunology, Jul. 67 (3): 388-93.

Opdebeeck, J.P.; Wong, J.Y.M., Jackson, L.A. and Dobson, C. (1988): Hereford cattle immunized and protected against *Boophilus microplus* with soluble and membrane associated antigens from the midgut of ticks. Parasite Immunology, 10 (4): 405-410.

Opdebeeck, J.P.; Wong, J.Y.M., Jackson, L.A. and Dobson, C. (1988a): Vaccines protect Hereford cattle against the cattle tick *Boophilus microplus*. Immunology, 63 (3): 363-367.

Panda, D.N.; Ansari, M.Z. and Sahal, B.N. (1993): Immunization of cattle with *Boophilus microplus* adult female and larval antigen. Indian Journal of Animal Sciences, (1): 123-127.

Parmar, A.; Grewal, A.S. and Dhillon, P. (1996): Immunological cross reactivity between salivary gland protein of *Hyalomma anatolicum anatolicum* and *Boophilus microplus* ticks. Vet. Immunol. & Immunopathol., 51 (3 & 4): 345-352.

Rechav, Y.; Clarke, F.C.; Els, D.A. and Dauth, J. (1991): Development of resistance in laboratory animals to adult of the tick *Rhipicephalus evertsi evertsi*. Med. Vet. Entomol., Jan 5 (1): 29-34.

Rechav, Y.; Dauth, J.; Varma, M.G.R.; Clarke, F.C.; Els, D.A.; Heller Haupt, A. and Dreyer, M.J. (1989): Changes in the concentration of Globulins in Naive guinea pigs during feeding by the immature stages of *Rhipicephalus evertsi evertsi*. J. Med. Entomol., 26 (4): 247-251.

Rechav, Y.; Spichett, A.M.; Dauth, J.; Tembo, S.D.; Clarke, F.C.; Heller Haupt, A. and Trinder, P.K. (1992): Immunization of guinea pigs and cattle against adult *Rhipicephalus appendiculatus* ticks using semipurified nymphal homogenate. Immunology, Apr 75 (4): 700-706.

Riek, R.F. (1958): Studies on the reactions of animals to infestations with ticks. The reactions of laboratory animal to repeated sublethal doses of egg extracts of *Haemaphysalis bispinosa*. Neumann. Aust. J. Agric. Res., 9: 830-841.

Rosell Davis, R. and Coons, L.B. (1989): Relationship between feeding, mating, vitellogenin production and vitellogenesis in the tick *Dermacentor variabilis*. Exper. Appl. Acarol., 7: 95-105.

Rutti, B. and Brossard, M. (1989): Repetitive detection by immunoblotting of an integumental 25 KDa antigen in *Ixodid ricinus* and corresponding 20 KDa antigen in *Rhipicephalus appendiculatus* with sera of pluri-infested mice and rabbits. Parasitol. Research, 79: 325-329.

Sahibi, H.; Rhalem, A. and Barriga, O.O. (1997): Comparative immunizing power of infestations, salivary extracts and intestinal extracts of *Hyalomma marginatum marginatum* in cattle. Vet. Parasitol., 68 (4): 359-366.

Sanders, M.L.; Scott, A.L., Glass, G.E. and Schwartz, B.S. (1996): Salivary gland changes and host antibody responses associated with feeding of male lone star ticks. J. Med. Entomol., Jul. 33 (4): 628-34.

SanGwan, A.K.; Banerjee, D.P. and SanGwan, N. (1998): Immunization of cattle with nymphal *Hyalomma anatolicum anatolicum* extracts: effects on tick biology. Trop. Anim. Hlth. Prod., 30 (2): 97-106.

Shapiro, S.Z.; Buscher, G. and Dobbel Aerc, D.A.E. (1987): Acquired resistance to *Rhipicephalus appendiculatus*, identification of an antigen eliciting resistance in rabbits. Journal of Medical Entomology, 24 (2): 147-154.

Shapiro, S.Z.; Wolfpvoigt and Kozofujisaki (1986): Tick antigens recognized by serum from a guinea pig resistance to infestation with the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. J. Parasitol., 72 (3): 454-463.

Sharma, J.K.; Ghosh, S.; Khan, M.H. and Das, G. (2001): Immunoprotective efficacy of a purified 39 KDa nymphal antigen of *Hyalomma anatolicum anatolicum*. Trop. Anim. Health. Prod., Apr. 33 (2): 103-106.

Sran, H.S.; Grewal, A.S. and Kondal, J.K. (1996): Enhanced immunity to *Hyalomma anatolicum anatolicum* ticks in cross bred (*Bos*

indicus x *Bos taurus*) calves using *Ascaris* extract immuno-modulator with the tick salivary gland extract antigens. Vet. Immunol. Immunopathol., 51 (3 & 4): 333-343.

Szabo, M.P.J.; Arantes, G.J. and Bechara, G.H. (1995): Immunological characterization of adult tick *Rhipicephalus sanguineus* antigens by Western blot analysis using sera from infested or vaccinated dogs and guinea pigs. Revisia Brasileira de Parasitologia Veterinaria, 4 (2): 79-83.

Szabo, M.P.J. and Bechara, G.H. (1997): Immunization of dogs and guinea pigs against *Rhipicephalus sanguineus* ticks using gut extract. Veterinary Parasitology, 62: 283-294.

Tembo, S.D. (1998): Immunization of rabbits with *Amblyomma hebraeum* nymphal homogenates and implications for the host amplification system. Onderstepoort Journal of veterinary Research, 65: 97-103.

Tembo, S.D. and Kiwanuka, A (1997): Acquisition of protective immunity in Geochelone Pardalis against *Amblyomma marmoreum* nymphal ticks. Onderstepoort Journal of Veterinary research, 64: 1-4.

Tembo, S.D. and Rechav, Y. (1992): Immunization of rabbits against nymphs of *Amblyomma habraeum* and *Amblyomma marmoreum*. J. Med. Entomol., 29 (5): 757-760.

Towbin, H.; Stachelin, T. and Gordon, J. (1979): Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets, procedures and some applications. Proc. Nati. Acd. Sci. USA, 76: 4350-4354.

Trager, W. (1939a): Acquired immunity to ticks. Journal Parasitol., 25: 57-81.

Trager, W. (1939b): Further observation on acquired immunity to tick *Dermacentor variabilis*. J. Parasit., 25: 137-139.

Tripathi, P.; Ghosh, S. and Khan, M.H. (1998): Immune response in rabbits against *Rhipicephalus sanguineus*. Indian Journal of Experimental Biology, 36 May: 476-482.

Verma, M.G.; Heller-Haupt, A.; Trinder, P.K. and Langi, A.O. (1990): Immunization of guinea pigs against *Rhipicephalus appendiculatus* adult tick using homogenates from unfed immature ticks. Immunology, Sep. 71 (1): 133-138.

Walker, A.R.; Fletcher, J.D. and Todd, L. (1990): Resistance between stages of the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. J. Med. Entomol., Nov. 27 (6): 955-961.

Wang, H. and Nuttall, P.A. (1995): Immunoglobulin G binding proteins in male *Rhipicephalus appendiculatus* tick. Parasite. Immunol., Oct. 17 (10): 517-24.

Weiland, G. and Emokpare, C.I. (1968): Value of the complement fixation test in demonstrating antibodies in tick infestations. Ber. Munch. Ticraztl. Wschr., 81: 15-16.

Wheeler, C.M.; Coleman, J.L.; Basler, E.M. and Benach, J.L. (1988): Detection of antibodies of salivary gland component of *Ixodes dammini*. Annals of the New York Academy of Sciences, 5 (39): 434-436.

Wheeler, C.M.; Coleman, J.L.; Habicht, G.S. and Bencach, J.L. (1989): Adult *Ixodes dammini* on rabbits development of acute

inflammation in the skin and immune responses to salivary gland, mid gut and spirochetal components. Journal of Infectious Diseases, 159 (2): 265-273.

Wikel, S.K. (1981): The induction of host resistance to tick infestation with a salivary gland antigen. Am. J. Trop. Med. Hyg., Jan. 30 (1): 284-288.

Wikel, S.K. (1985): resistance to Ixodid tick infestation induced by administration of tick tissue-culture cells. Ann. Trop. Med. Parasitol, 79 (5): 513-518.

Wikel, S.K. (1988): Immunological control of hematophagous arthropod vectors: Utilization of novel antigens. Vet. Parasitol., 29: 235-264.

Wikel, S.K.; Olsen, F.W. and Richardson, L.K. (1987): Immunization induced resistance to *Amblyomma americanum* infestation tick gut derived antigens. Med. Sci. Res., 15 (9-12): 543-544.

Willadsen, P. and Kemp, D.H. (1998): Vaccination with concealed antigens for tick control. Parasitol. Today, 4: 196-198.

Willadsen, P.; Mchenna, R.V. and Riding, G.A. (1988): Isolation from the cattle tick *Boophilus microplus* of antigenic material in the bovine host. International Journal for Parasitology, 18: 183-189.

جامعة القاهرة
كلية الطب البيطرى
قسم الطفيليات

اسم الطالبة : إيمان أحمد محمد القلش
الجنسية : مصرية
تاريخ الميلاد : ٢ / ١١ / ١٩٦٣
جهة الميلاد : الزقازيق
التخصص : طفيليات
عنوان الرسالة : التطبيق العملى للمولد المضاد من الغدد اللعابية لقراد الهيالوما درومدرى فى الحماية ضد قراد الجمال.

تحت إشراف :

أ.د. أحمد محمود عبد الجواد	أستاذ الطفيليات	كلية الطب البيطرى – جامعة القاهرة
د. وحيد محمد على موسى	أستاذ مساعد الطفيليات	كلية الطب البيطرى – جامعة القاهرة
د. أميرة راغب إسكندر	رئيس بحوث الطفيليات	معهد بحوث صحة الحيوان – الدقى – الجيزة

مستخلص الرسالة

شملت الدراسة تمييز الغدد اللعابية لقراد الهيالوما درومدرى بتنقيتها باستخدام الجل. وقد أظهرت نتيجة التحصين بالغدد اللعابية المنقاة والغير منقاة انخفاض ملحوظ فى الوظائف الحيوية للقراد وقدرت الأجسام المناعية المضادة باستخدام اختبار الامتصاص الإنزيمى المناعى مع زيادة ملحوظة فى الجلوبيولين وانخفاض فى الألبيومين. وباستخدام الاستقطاب الكهربى للمستضدات أظهرت ١٢ حلقة ببتيدية من الغدد اللعابية تتراوح بين ١٨٠ إلى ١٤,٥ كيلو دالتون وثلاث حلقات ببتيدية فى الجزء الأول المنقى من الغدد اللعابية (١٨٠ ، ١٣٠ ، ٩٧,٥ كيلو دالتون) بينما وجد حلقتان ببتيديتان فى الجزء الثانى المنقى من الغدد اللعابية (٣٣,٥ ، ٢٠ كيلو دالتون) وبعمل الطبع المناعى باستخدام المصل عالى المناعة أظهر وجود ٤ حلقات للغدد اللعابية (١٨٠ إلى ٢٠ كيلو دالتون) وحلقتان فى الجزء الأول المنقى (١٨٠ ، ٩٧,٥ كيلو دالتون) و ٢٠ كيلو دالتون فى الجزء الثانى المنقى مع ظهور خفيف للحلقة ٣٣,٥ كيلو دالتون.

وقد لوحظ ظهور زيادة فى كرات الدم البيضاء والخلايا المتعادلة والخلايا الليمفاوية.

الكلمات الدالة:

القراد – مستضد الغدد اللعابية – التنقية – اختبار الامتصاص الإنزيمى المناعى – الاستقطاب الكهربى – الطبع المناعى.

١٤ ووصلت إلى أعلى مستوى عند اليوم ٦٣ وبعد ذلك بدأت فى الانخفاض بعد التحدى الثانى وقد وجد أن أعلى مستوى من الأجسام المناعية قد ظهر فى المجموعة الثالثة بمقارنتها بالمجموعات الأخرى المحصنة والضابطة.

وبالتحليل الكهربى لأمصال الأرانب المحصنة والضابطة باستخدام أميتات السليلوز اتضح منها ارتفاع نسبة ألفا وبيتا وجاما جلوبيولين فى الأرانب المحصنة بمقارنتها بالمجموعات الضابطة ولكن ارتفاع نسبة ألفا وبيتا جلوبيولين غير ثابتة كما تناقصت نسبة الألبيومين وكذلك النسبة بين الألبيومين والجلوبيولين.

رابعاً تحليل المستضدات المنقاة والغير منقاة باستخدام الاستقطاب الكهربى أظهر وجود ١٢ حلقة ببتيدية للغدد اللعابية تتراوح فى أوزانها الجزيئية بين ١٨٠ إلى ١٤,٥ كيلو دالتون أما الأوزان الكبيرة وهى ١٨٠ ، ١٣٠ ، ٩٧,٥ كيلو دالتون فقد وجدت فى الجزء الأول المنقى من الغدد اللعابية بينما ٣٣,٥ ، ٢٠ كيلو دالتون وجدت فى الجزء الثانى المنقى من الغدد اللعابية. وباستخدام الطبع المناعى لتحديد الحلقات المناعية باستخدام المصل العالى المناعة فقد تم تمييز أربع حلقات ببتيدية بأوزان من ١٨٠ إلى ٢٠ كيلو دالتون بمستضد الغدد اللعابية وحلقتان ببتيديتان بأوزان ١٨٠ ، ٩٧,٥ كيلو دالتون فى الجزء الأول المنقى من الغدد اللعابية بينما ٢٠ كيلو دالتون فى الجزء الثانى بالإضافة إلى حلقة خفيفة عند الكيلو دالتون ٣٣,٥.

خامساً بالنسبة لاستجابة خلايا كرات الدم البيضاء للتحصين بالمستضدات فقد أثبتت النتائج وجود زيادة فى عدد كرات الدم البيضاء وارتفاع عدد الخلايا المتعادلة والخلايا الليمفاوية بينما كرات الدم البيضاء التى تأخذ صبغة الإيوسين فترتفع بعد الحقن بالمستضدات وأيضاً بعد التحدى أما عن الخلايا المستقعدة فتأثرها ضعيف إلا بعد التحدى الأول فى المجموعات المحصنة والمجموعة الرابعة الضابطة. وقد لوحظ أيضاً أن عدد الخلايا وحيدة النواة ظلت فى المستوى الطبيعى طوال فترة التجربة.

الملخص العربـــى

الهدف من هذه الدراسة يتلخص فى خمس نقاط رئيسية:

أولاً تنقية مولد الضد المستخلص من الغدد اللعابية لقراد الهيالوما درومـــدرى. ثانيـــاً تقييم دور هذه المستضدات المنقاة والغير منقاة بحقنها فى الأرانب وعمل تحدى بقراد الـهيالوما درومدرى وتحديد معدل التغيير فى التغذية والتناسل. ثالثاً تقييم مســـتوى الأجســـام المناعيـــة المضادة ضد المستضدات بواسطة اختبار الامتصاص الإنزيمى المناعى ومستوى الجلوبيولـيـن فى أمصال الأرانب. رابعاً تحديد الحلقات البيتيدية ثـــم المســـتضدات باســـتخدام الاســـتقطاب الكهربى والطبع المناعى. خامساً عد نوعى لكرات الدم البيضاء وتحديد الأنواع المختلفة منها.

أولاً وفيما يتعلق بتنقية مولد الضد المحضر من الغدد اللعابية فقد تمت التنقية بطريقـــة الجل ونتج من ذلك جزأين.

ثانياً وبالنسبة لتقييم دور هذه المستضدات فقد تم تحصين ستة مجموعات من الأرانـــب، المجموعة الأولى تم تحصينها بمستضد الغدد اللعابية والمجموعة الثانية تم تحصينها بـــــالجزء الأول المنقى من الغدد اللعابية والمجموعة الثالثة تم تحصينها بالجزء الثانى المنقى من الغـــدد اللعابية أما المجموعة الرابعة فقد تم حقنها بمساعد الدواء أما المجموعة الخامسة والسادسة لـــم تحصن.

وعند اليوم ٣٥ واليوم ٦٣ من الحقن تم جراء التحدى بعشرين من الطور البالغ غـــير المغذى من قراد الهيالوما درومدرى على كل الأرانب فى جميع المجموعات ماعدا المجموعـــة السادسة وبتسجيل معدل التغير فى التغذية والتناسل فقد أظهرت النتائج انخفاض نسبة التصـــاق القراد بالأرانب وعدد الإناث القادرة على وضع البيض ووزن الإناث المغـــذاة ووزن البيـــض ونسبة الفقس كما أظهرت النتائج أن المجموعة الثالثة هى أفضل مجموعة.

ثالثاً تم الاستدلال على الأجسام المناعية المضادة باســـتخدام الامتصـــاص الإنزيمـــى المناعى وقد أوضحت النتائج أن الأجسام المناعية المضادة للمستضدات قد ظهرت من اليـــوم

ARABIC SUMMARY

جامعة القاهرة
كلية الطب البيطرى
قسم الطفيليات

قرار لجنة الحكم والمناقشة

توصـــى لجـــنة الحكـــم والمناقشة بمنح **السيدة ط. ب. إيمان أحمد محمد القلش** درجة دكتوراه الفلسفة فى العلوم الطبية البيطرية (طفيليات) من كلية الطب البيطرى – جامعة القاهرة.

لجنة الحكم والمناقشة:

الأستاذ الدكتور / محمود عبد النبى الصيفى

أستاذ الطفيليات – كلية طب بيطرى – كفر الشيخ

الأستاذ الدكتور / مسعد عبد الحميد هلالى

أستاذ الطفيليات – كلية طب بيطرى – جامعة القاهرة

الأستاذ الدكتور / أحمد محمود حسين عبد الجواد

أستاذ الطفيليات – كلية طب بيطرى – جامعة القاهرة

والمشرف على الرسالة

الدكتور / وحيد محمد على موسى

أستاذ مساعد الطفيليات – كلية طب بيطرى – جامعة القاهرة

والمشرف على الرسالة

جامعة القاهرة
كلية الطب البيطرى
قسم الطفيليات

التطبيق العملى للمولد المضاد من الغدد اللعابية لقراد الهيالوما درومدرى فى الحماية ضد قراد الجمال

B1995

رسالة مقدمة من

ط . ب / إيمـــان أحمـــد محمـــد القلـــش

ماجستير العلوم الطبية البيطرية

جامعة القاهرة (١٩٩٩)

للحصول على

درجة دكتوراه الفلسفة فى العلوم الطبية البيطرية

(طفيليات)

تحت إشراف

أ. د. / أحمـــد محمـــود عبد الجـــواد

أستاذ الطفيليات

كلية الطب البيطرى - جامعة القاهرة

الدكتور

وحيـــد محمـــد علـــى موســـى

أستاذ مساعد الطفيليات

كلية الطب البيطرى

جامعة القاهرة

الدكتورة

أميـــرة راغـــب إسكنـــدر

رئيس بحوث الطفيليات

بمعهد بحوث صحة الحيوان

الدقى - جيزة

كلية الطب البيطرى

جامعة القاهرة

٢٠٠٢

Cairo University
Faculty of Veterinary Medicine
Department of Parasitology

APPLICATION OF THE HYALOMMA DROMEDARII SALIVARY GLAND EPITOPES FOR PROTECTION AGAINST CAMEL TICKS

B16935

Thesis Presented by

Eman Ahmed Mohamed El-Kelesh

(M.V.Sc. 1999)

For the Degree of Ph.D.

(Parasitology)

Under the Supervision of

Prof. Dr. Ahmed Mahmoud Abdel Gawad

Professor of Parasitology
Faculty of Veterinary Medicine
Cairo University

Dr. Waheed M.A. Mousa

Assistant Prof. of Parasitology
Faculty of Veterinary Medicine
Cairo University

Dr. Amira R. Iskander

Chief Researcher of Parasitology
Animal Health Research Institute
Dokki - Giza

Faculty of Veterinary Medicine
Cairo University
2002

Cairo University
Faculty of Veterinary Medicine
Department of Parasitology

Approval Sheet

Candidate : **Eman Ahmed Mohamed El-Kelesh**

Major Field : Parasitology

Title of Thesis : Application of the *Hyalomma Dromedarii* salivary gland epitopes for protection against camel ticks

Approved by examining committee :

Prof. Dr. Mahmoud Abdel Naby El-Seify M. A. El-Seify 13/6/2002

Professor of Parasitology – Faculty of Veterinary Medicine - Kafr El Sheikh University

Prof. Dr. Mosaad Abd El-Hamid Hilali M. A. Hilali

Professor of Parasitology – Faculty of Veterinary Medicine - Cairo University

Prof. Dr. Ahmed Mahmoud Abdel Gawad

Professor of Parasitology – Faculty of Veterinary Medicine - Cairo University

Dr. Waheed Mohamed Aly Mousa W. Mousa

Assistant Prof. of Parasitology - Faculty of Veterinary Medicine - Cairo University

ACKNOWLEDGEMENT

First of all I would like to thank my **GOD** for giving me the efforts to complete this work.

I would like to express my deep appreciation and sincere gratitude to ***Prof. Dr. Ahmed Mahmoud Abdel-Gawad***, Head of Parasitology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University, for his faithful guidance, valuable suggestion and great help.

Sincere thanks and deep gratitude are particular to ***Dr. Waheed Mohamed Ali Mousa***, Assistant Professor of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University, for his advice and help during the course of this work.

My grateful thank and sincere appreciation to ***Prof. Dr. Amira Raghieb Iskander***, Professor of Parasitology, Animal Health Research Institute, Dokki, Giza, for her advice and help.

My thanks to staff members of Parasitology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University, for their kind help and cooperation.

I would like to express my thanks to all members of Animal Health Research Institute, Dokki, Giza, for their great facilities that made the completion of this work possible.