نمو و تطور طفيلي اللشمانيا في حشرة الحرمس

وداد جمعة حميد المشهداني*

تاريخ قبول النشر ٢٠٠٦/٧/٢

الخلاصة

لطفيلي اللشمانيا عائلان أحدهما فقري و الآخر لافقري (حشري) و ينتقل بينهما بالتناوب . فالفقري هو الإنسان و لبائن أخرى ، أما الافقري فهو حشرة الحرمس أو ذبابة الرمل من جنس *Phlebotomus* المنتشرة في العالم القديم و *Lutzomyia* في العالم الجديد . يختلف شكل الطفيلي و تركيبه البايوكيميائي في كل من عائليه و هو لذلك عندما ينتقل من عائل لآخر يمر بمراحل نمو و تطور ليتخذ شكله و تركيبه في ذلك العائل . فهو في العائل الفقري (الإنسان مثلا) يعيش بداخل خلايا البلاعم الكبيرة Macrophages في الدم بهيئة لشمانيا عديمة السوط amastigote ، أما في الحرمس فهو أمامي السوط Promastigote . و عندما تعض حشرة الحرمس إنسانا مصاباً باللشمانيا – أو المضيف الخازن – تمتص الدم الحاوي على البلاعم الكبيرة منه و بداخلها طفيلي اللشمانيا عديمة السوط ، و عند وصول وجبة الدم إلى أمعاء الحشرة الوسطى mid-gut ، تتحول الليشمانيا إلى شكل أمامي السوط ، الذي يتضاعف بسرعة بالانشطار الطولي البسيط فتتكاثر أعداده و يتحول إلى الدور المعدي Infective promastigote ، الذي ينتقل إلى مقدمة الجهاز الهضمي استعداداً للانتقال إلى العائل اللبون عندما تعضه حشرة الحرمس . و اليشمانيا في معدة الحشرة لها أشكال مختلفة منها الطويل المسوط و القصير المسوط ، إضافة إلى الشكل الهلالي و الشكل العريض نسبياً ذو السوط الطويل . أما في منطقة البلعوم و القناة الوسطى الصدرية فشكله طويل نسبياً و ذو سوط يعادل ضعف طول جسمها و هذا هو الطور المعدي Infective stage .

الهدف من هذه الدراسة لمعرفة تطور نمو طفيلي الليشمانيا في حشرة الحرمس .

المقدمة

جرت دراسات عديدة عن داء الليشمانيا الجلدية والليشمانيا الاحشائية في العراق بشان الاختلافات المظهرية Morphological differences ما بين مسببات المرضين واستعمل (2,1) طرائق عدة لوصف وتعيين الاختلافات بين كلا النوعين من الطفيليات . واجريت دراسات عديدة عن دائي الليشمانيا الجلدية والليشمانيا الاحشائية في العراق بشأنهما ، واستخدمت الحسيني وجماعتها (3) والبشير(4) طرائق الكيمياء الحياتية وتحليل الأنزيمات لتشخيص وعزل الطفيليات. وهناك دراسات مصلية ومناعية كثيرة لتشخيص تسبب الإصابة بمرض الليشمانيا الجلدية. كما تجري محاولات لإيجاد لقاحات توقية من داء الليشمانيا الجلدية(5) .

قام كل من (6)بتشريح حشرات الحرمس من مناطق ليوسفية و محمودية فلم يجدا سوطيات فيها وفي دراسة أبو لحب و بغدادي (7) وجدا أن ***P. papatasii*** هو الأكثر انتشارا. كما أشار (8)في دراسة عن الحرمس إلى مشاهدة سوطيات في حشرة ***P.papatasii*** ولكنه لم يتمكن من تشخيصها وأوضح حتمل أن يؤدي هذا النوع من الحرمس دور الناقل لطفيلي الحمى السوداء Kala-azar في العراق أما الباحثان(9) فقد جمعا 9435 حشرة من 43 موقعا في العراق وتمكنا من جمع أنواع متعددة تتغذى على الإنسان، ووجدا أن 96%منها ***P.papatasii*** و4 % أنواع أخرى.

لقد أشارت الحسيني وجماعتها (3) إلى عزل طفيليات من نوع لا يصيب الإنسان من الحشرات وتم تشخيص الطفيلي بالرحلان الكهربائي بدراسة ترتيب أنماط الأنزيمات التي تحتويها، ووجد هؤلاء الباحثون في منظمة الصحة العلمية WHO لسنة 2000 أن أنواع الليشمانيا التي تصيب الإنسان تنتقل بوخزة إناث ذبابة الرمل من عويلة Phlebotominae وتتضمن 600 نوعا ونويعا 70 منها اثبت أنها تنقل مسبب داء الليشمانيا .Leishmaniasis (10)..

ينتقل طفيلي الليشمانيا خلال دورة حياته من مضيف لا فقري إلى مضيف فقري بسلسلة من المراحل التطورية (11) و تنتشر الاصابة باللشمانيا في المناطق التي تكثر فيها حشرة الحرمس Sand fly الناقل لها كما اشار كل من (Coukell & Broghden) (12)، فطفيلي الليشمانيا يحتاج إلى مضيفين مختلفين لاكمال دورة حياته.

* م.م./قسم علوم الحياة/كلية العلوم/ جامعة بغداد

المضيف اللافقري :- حشرة ناقلة Insect Vector وهي أنثى ذبابة الرمل من جنس ***Phlebotomus*** في العالم القديم أو جنس ***Lutzomyia*** في العالم الحديث (13)

المضيف الفقري:- هو الإنسان ولبائن أخرى(الكلاب والجرذان والجرابيع والسحالي وحيوانات برية أخرى)، ويختلف شكل وتركيبالطفيلي الكيميائي الحياتي بين المضيفين كما اشار اليها (Reguera, *etal*)(14).

عندما تعض حشرة الحرمس الإنسان المصاب بداء الليشمانيا أو المضيف الخازن لها تمتص الدم الحاوي البلاعم الكبيرة Macrophages التي يتوطن بداخلها الطفيلي، تتحرر الطفيليات بهيئة Amastigotes ذي الشكل عديم السوط ، وحال وصول الطور عديم السوط إلى المعي الوسطيMid gut للحشرة يتحول إلى شكل أمامي السوط Promastigote ويتضاعف سريعاً بالانشطار الطولي البسيط فتكثر أعداده ويتحول إلى الطور المعدي Infective Promastigote ثم بعد ذلك يهاجر الطفيلي إلى المعي الأمامي متهيئاً للانتقال إلى المضيف اللبون عندما تعضه الحشرة لتأخذ وجبتها الأخرى من الدم كما اشار (Dillom *,etal*) (15).

أشكال طفيلي الليشمانيا

Morphology of Leishmania Parasite

أ- الشكل المسوط Promastigote

يظهر طفيلي الليشمانيا في المضيف اللافقري مغزليا مسوطا طوله (12-20)مايكرونا وله مولد حركة Kinetoplast يقع على بعد ٢ مايكرون من النهاية الامامية، ويمتد منه سوط طليق طوله بقدر طول الجسم وقد يصل الى 22 مايكرونا. اما النواة فانها تتخذ موقعاً وسطياً في الجسم المغزلي ويطلق على هذا الشكل امامي السوط Promastigote كما اشار (Peters , *etal*) (16).

يظهر الشكل المسوط لطفيليات ***Leishmania mexicana amazonensis*** بشكلين احدهما الـ Nectomonad.كما اشار اليها كل من (Killik – Kendrick, *etal*) (17) و (*etal* Molyneux,)(18), في الجزء الصدري من القناة الهضمية وفي المعي البطني المتوسط Abdominal Mid gut لذبابة الرمل، ومن خلال دراسات المجهر الإلكتروني وجد انه مغزلي الشكل متطاول يلتصق بجدار أمعاء الحشرة الناقلة بوساطة السوط الذي يصل طوله حوالي 20 مايكرونا ويتداخل مع الطيات والزغبيات المبطنة للمعدة الوسطى للحشرة ، طوله بدون السوط اكثر من 12 مايكرونا ويحتوي على (76-91) من النبيبات تحت الجلدية وعلى نواة ومولد حركة يمر هذا الشكل بعملية انقسام فعالة ويؤدي الى املاء المعدة به.

ان حركة الـ Nectomonad الى الامام أي الى المعدة الوسطية الصدرية Thoracic Mid gut يؤدي الى تغير شكل الطفيلي الى الشكل الثاني ويسمى الـ Haptomonad ، ويمتاز هذا الشكل بكونه قصيراً وعريضاً وطوله بدون السوط اقل من ١٢ مايكرونا يحوي على(115-138) من النبيبات تحت الجلدية وايضا يحوي نواة ومولد حركة. يتصل الـ Haptomonad بالصمام الفمي Stomodeal Valve بوساطة الاجسام الرابطة Hemidesmosomeكما اشار الباحثون (Killik – Kendrick, *etal*) (19) ولقد اوضح وجود شكل اخر علاوة على الشكل المسوط Promastigote يسمى بشكل البارامستكوت Paramastigote يتراوح طوله بين (5-10) مايكرونا وعرضه بين (4-6) مايكرونا ويعد من الاطوار التي تتوسط تحول الشكل عديم السوط الى الشكل المسوط. يرتبط هذا الشكل بالسطوح المبطنة للمعي الخلفي للحشرة Hindgut في الانواع ***L. m. amazonensis***، (***L. donovani*** ، ***L. braziliensis*** كما اشار الباحث (Killik – Kendrick)(20).

ينقسم الطور المسوط والبارامستكوت في المعدة الخلفية لينتج اشكالا مسوطة نشطة تهاجر الى مقدمةالقناة الهظمية للحشرة تكون مغزلية متطاولة وسوطها بقدر طول الجسم مرتين وتسمى Promastigote Metacyclic وتمثل الطور المعدي Infective stage.

تبتلع الخلايا البلعمية Phagocytic cells الطفيلي بمجرد دخوله المضيف الفقري وذلك لاحتمال قتل المضيف الفقري هذه الطفيليات اذا بقيت مدة اكثر من (30-60) دقيقة كما اشارا الباحثان (Schmunis&Herman)(21)ويدخل الشكل المسوط في الخلايا البلعمية من مقدمته الامامية وفق ما جاء في دراسة (Zenian, *etal*)(22) تستغرق عملية البلعمة (4-8) ساعات اما ظهور الشكل عديم السوط فسيستغرق(24-72) ساعة وفق ما جاء في دراسة (Chang,*etal*) (23).

ب- الشكل عديم السوط Amastigote

يظهر الشكل عديم السوط في المضيف الفقري ويتكاثر داخل الخلية البلعمية بالانقسام الثنائي البسيط حتى تمتلئ الخلية ثم تنفجر وتتحرر الطفيليات لتبلعها خلايابلعمية اخرى. يبدو الشكل عديم السوط في الشرائح المحضرة من المضيف الفقري بشكل دائري او قد يتخذ شكلا بيضويا عديم السوط يكون طوله (2-6) مايكرون وعرضه (1-3) مايكرون يحتوي على نواة دائرية او بيضوية اما مولد الحركة فيمتاز بتغيير اشكاله بين الدائري ، القضيبي ، بيضوي ،المنجلي ويقع بالقرب من النواة كما اشار الباحثان (Croft &Molyneux) (24).

العوامل المؤثرة في الطفيلي داخل الحشرة

بعد ابتلاع الحشرة لوجبة الدم الحاوية الشكل عديم السوط تحاط وجبة الدم بغشاءPeritrophic membrane كما اشار (Gemitchu) (25) يؤدي هذا الغشاء دورا مهما في حماية الطفيلي من تأثير الأنزيمات الهاضمة ويحول دون تعرض الطفيلي للأنزيمات الحالة للبروتينProteolytic enzymes كما اشار اليها كل من (Pimenta , *etal*)(26) . وكذلك يعمل على حماية الطفيلي من تأثير المكروبات الممرضة وذلك لان امتصاص الحشرة لكمية كبيرة من الخمائر والبكتريا الناتجة عن التلوث البيئي يؤدي الى خفض نسبة الإصابة ونمو الطفيلي داخل الحشرة ومن ثم الإقلال من احتمال نقله (27).

ان العوامل التي تؤثر في سرعة تحرك الطفيلي الى مقدمة الحشرة عوامل معقدة وقد ترتبط بطبيعة إناث الحشرة الناقلة في حالة التغذي على السكر فقط. لقد لاحظ(Schilein , *etal*) (28) ان امتصاص السكر قبل عملية انتقال الشكل السوطي في خرطوم الحشرة الناقلة اذ ان وجود الكربوهيدرات يؤدي الى تحرر الاتصال بالطبقة الكيتينية المبطنة للجهاز الهضمي ويزيد من اعداد الشكل السوطي الحر الحركة المنتقل الى مقدمة ترس الشوكية (Dwyer) (29) ونعد ابرز العوامل البيئية المؤثرة في الطفيلي هو عامل الحرارة. فقد درس (Leaney)(30) تأثير الحرارة في طفيليات *L.m.amazonensis* داخل ذبابة الرمل من النوع *Lutzomyia longipalpis*. اذ سمح لذباب الرمل بالتغذي على فرخ هامستر مصاب بطفيليات الليشمانيا المذكورة سابقا ومن ثم قد ذباب الرمل بصورة عشوائية الى ثلاث مجاميع وحضنت بدرجات حرارة 22م، 25م، 28م بعد ذلك لاحظ ان نسبة تطور الطفيلي بالمعدة الوسطية للحشرات قد اختلفت من 70% ،75%،30% على التوالي كما جرت متابعة الاصابة بالبلعوم أيضا فلاحظ ان الطفيلي قد غزا رأس الحشرة في الدرجتين 22م، 25م ولكنه لم يغز رأسها بدرجة 28م، هذه الملاحظات أظهرت ان درجة الحرارة العالية لا تتداخل مع تأسيس الإصابة فقط ولكنها تثبط الهجرة الأمامية للطفيلي باتجاه البلعوم واجزاء الفم ايضا:

اما عامل الرطوبة فلم يلاحظ له تأثير في دورة حياة الليشمانيا فيما يخص ذبابة الرمل Sand flies الا ان ذباب الرمل يحتاج الى رطوبة عالية لاجل بقائه مدة طويلة من الزمن وهذا يكون عن طريق اختياره البيئة الملائمة عند مناطق وجود الماء، اذ تصبح تلك المناطق باردة بفعل عمليات التبخر (30).

المواد وطرق العمل

العـــــزلات

تم الحصول على ثلاث عزلات مشخصة من طفيليات الليشمانيا من مركز بحوث كلية النهرين الطبية (وحدة الليشمانيا).

جدول (1) عزلات مشخصة من طفيليات الليشمانيا المستعملة في البحث

L .tropica	عزلة لطفيليات الليشمانيا الجلدية
L. major	عزلة لطفيليات الليشمانيا الرئيسي
L . donovani	عزلة لطفيليات الليشمانيا الاحشائية

الحيوانات المستخدمة في التجارب

استخدمت حيوانات الهامستر الذهبي Golden Hamster *Mesocricetus Auratus* لغرض أجراء التجارب. وقسمت الحيوانات الخاصة بمجاميع التجارب إلى ثلاث مجاميع، كل مجموعة مؤلفة من 5 حيوانات وضعت تحت ظروف ملائمة من درجة حرارة تكون ما بين(26 – 28) م وحالة نظافة مستمرة، و الغذاءيكون من العليقة الجاهزة مع وجبة الى وجبتين من الخضراوات (برسيم وجزر ومعدنوس) وبذور عباد الشمس وحليب مجفف .

أرانب *Rabbits* :- أستخدمت للحصول على الدم لعمل الأوساط الزرعة الخاصة بنمو الطفيليات والأحياء المجهرية ، اذ وضعت في أقفاص خاصة ونظيفة وفي درجة حرارة مابين (26 – 28) م مع توفير الغذاء المناسب من خضراوات (برسيم وجزر).

أفراخ دجاج حديثة الفقس كانت أعمارها ما بين (1-4) أيام، و لغرض أجراء التجارب وضعت

في أقفاص خاصة بدرجة حرارة (26 –28) م مع توفير الغذاء المناسب من علف خاص يحتوي على حبوب وبذور عباد الشمس. قسمت الافراخ إلى ثلاث مجاميع تكونت كل مجموعة من ٣٠ فردا لغرض حقنها كل مجموعة حقنت بنوع واحد من طفيليات الليشمانيا .

الأوساط الزراعية والمحاليل المستخدمة Solutions &Media

١- الوسط ثنائي الطور Biphasic Medium (31)

يسمى أيضا NNN Medium وهو طوران سائل وصلب، أستعمل لتنمية وإدامة طفيلي الليشمانيا أمامي السوط Promastigote

الطور الصلب Solid Phase (32)

الطور السائل Liquid Phase محلول اللوك (32)

ب-الوسط الزرعي الهلامي Semi-Solid Medium

حضر الوسط الزرعي حسب طريقة (33) واستعمل لعزل الطفيليات من الإنسان واسترجاعها من الأنسجة الحيوانية المصابة ولإدامة الطور أمامي السوط Promastigote بعد استرجاعه في المختبر .. أكمل الحجم بالماء المقطر إلى 1000 مل

ج- المستنبت السائل المحور من المستنبت الهلامي (شبه الصلب)

Liquid Medium Modified From The Semi-solid Medium

لقد استعمل هذا المستنبت لأول مرة (4) اذ حولته الى مستنبت خال من الخلايا Liquid Cell- Free Medium وقد استعمل هذا الوسط لتكثير الطفيليات عند تحضير جرع الحقن وتشخيص العزلات.) نفسها بنسبة(اماء: 2دم) للتخلص من الخلايا وبذلك تحققت شروط المستنبت الخالي من الخلايا.

طرائق جمع الحرمس

استخدمت عدة طرق لجمع الحرمس

المصائد الضوئية Light traps

جمعت الحشرات باستخدام المصائد الضوئية وفق طريقة(Williams)(34)وفيها استخدم مصدر للضوء وجمعت الحشرات وسحبت الى كيس قماش بوساطة ساحبة هواء، والحشرات التي جمعت بهذه الطريقة كانت من كلا الجنسين ومن الأنواع التي تتغذى على الإنسان والأنواع التي تتغذى على الحيوان أيضاً جدول(1)

الجمع بوساطة الاوراق المزيتة

جمعت الحشرات وفق طريقة(Thatcher) (35) واستخدمت اوراق (A) غير الماصة للدهون والمغطاة بزيت الخروع وكان الجمع عشوائيا وفي تلك الطريقة لم تبق الحشرات حية عندما نقلت الى المختبر.

التحري عن حشرة الحرمس

بأستعمال المصيدة الضوئية لأصطياد الحرمس جرى اصطياد 3055 حشرة حرمس شملت 1517 ذكرا و 1538 انثى من مناطق بغداد المختلفة(الكرخ و الدورة و الأعظمية و الكاظمية و أبو غريب و حي الخضراء و شارع فلسطين و الزعفرانية و المنصور و البياع و الجادرية و المحمودية و اليوسفية و العامرية و حي الشرطة و المشتل و الوزيرية و الشعب و مدينة الثورة) وتم تشخيصها وفق (9) جدول (2). وأعدادها كما مبين في الجدول (2):

جدول (2) انواع واعداد حشرات الحرمس التي تم اصطيادها من مناطق بغداد

حشرات الحرمس	ذكور	%	الاناث	%	المجموع	%
P. papatasii	1356	49.4	1417	50.6	2863	91.7
P. sergenti	26	47.2	29	52.8	55	1.8
S. theodori	21	48.8	22	51.2	43	1.4
P. alexandri	28	51.8	26	48.2	54	1.7
S. squamipleuris	8	42	11	58	19	0.6
S. sintoni	21	60	14	40	35	1.2
S. hughesdis	27	58.6	19	41.4	46	1.5
المجموع	1517	%49.6	1538	%50.4	3055	%100

التحري عن طفيليات الليشمانيا في حشرة الحرمس.

بعد صيد الحشرات سحبت من الشباك بوساطة ماصة Aspirator وخدرت باستعمال دخان السجائر ثم وضعت في اناء زجاجي وعزلت الإناث عن الذكور ثم عزلت الإناث المتغذية عن غير المتغذية.

وضعت الإناث المتغذية في قناني حاوية محلول الملح الفسلجي Normal Saline وجرى تشريحها للتحري عن وجود طفيليات الليشمانيا الطور الأمامي السوط Promastigote. ثم وضعت الإناث غير المتغذية في أوان خاصة مغطاة بقماش التول وحضنت بدرجة 26 م ، الرطوبة النسبية 90% كما وضعت قطعة قطن مبللة بـ 30% محلول سكر الفاكهة Fructose لتوفير الغذاء لإناث حشرة الحرمس وفق طريقة (Souza , *etal*) (36).

تخميج حشرة الحرمس

خمجت أفراخ دجاج بعمر 1-4 أيام بعد إزالة الريش من منطقة الفخذ وتخديش ة بشفرة وحكها قليلا ثم حقنت بـ 0.1 من طفيليات الليشمانيا العديمة السوط Amastigote وبتركيز 2×10^{7} لكل 0.1 مل لضمان خمجها بالطفيلي،

واستعملت لذلك ثلاثة أنواع من طفيليات الليشمانيا التي شخصها مركز بحوث الليشمانيا في كلية النهرين الطبية، تتضمن *L. major* و *L. tropica* و *L. donovani*. وبعد تخميج أفراخ الدجاج لمدة من 5-10 دقائق سمح لاناث حشرة الحرمس (غير المتغذية) للتغذي عليها لمدة (10) دقائق بعد وضعها داخل أنابيب اختبار بواقع عشر إناث في كل أنبوب وغطي الأنبوب بقماش التول، وجرى تغذي إناث حشرة الحرمس من خلال قماش التول على جلد الأفراخ المخمجة بطفيليات الليشمانيا وفق طريقة (Tesh & Modi) (37) وكانت وسيلة سهلة ومناسبة ومتوفرة كما انها أعطت نتائج سريعة دون الحاجة الى استخدام اجهزة مختبرية او وسائل خاصة.

حضنت الحشرات المخمجة بدرجة 26 م وبعد مرور من 7-10 أيام شرحت للبحث عن وجود طفيليات الليشمانيا أمامية السوط Promastigote فيها.

حفظت نماذج الحشرات الميتة بالكحول الاثيلي بتركيز 70% لحين تصليبها وحفظها في شرائح بعد أجراء عمليات التصليب والحفظ لنماذج حشرة الحرمس من إناث وذكور.

النتائج والمناقشة

اظهر تشريح حشرات الحرمس الاناث المتغذية(776)حشرة ، وجود (7) حشرات مصابة بطفيليات امامية السوط (غير مشخصة)

3 منها من نوع	***P.papatasii***
2 من نوع	***P.sergenti***
2 من نوع	***S.baghdadis***

كما أظهرت النتائج الاحصائية وجود فروق معنوية $p< 0.01$ بين مختلف انواع الحشرات ومختلف مناطق وجودها، فقد كانت اعلاها في الكرخ و العطيفية ثم الدورة و البياع و ابو غريب و الكاظمية وكانت اعداد الاناث اكثر من الذكور في معظم المناطق بنسبة ضئيلة.

اما فيما يخص حشرة الحرمس من النوع ***P. papatasii*** فان اعدادها كانت اكثر من بقية الانواع وتمثل نسبة 91.7% من مجموع الحشرات التي تم اصطيادها.

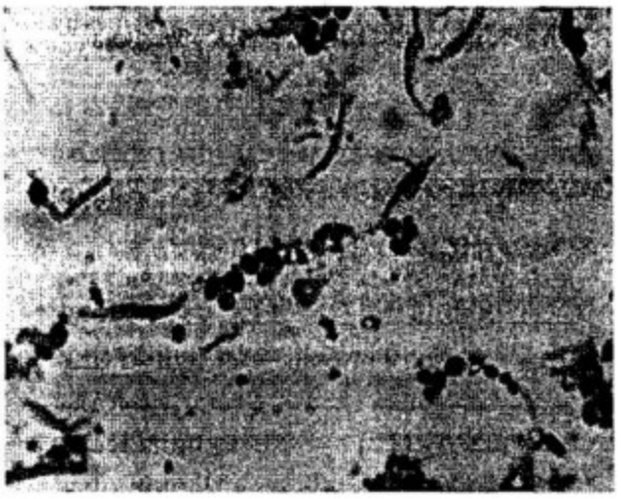
عند تشريح الاناث المصابة وجد ان طفيليات الليشمانيا Promastigote اشكالا مختلفة في معدة الحشرة منها الطويل المسوط والقصير المسوط فضلا عن الشكل الهلالي والشكل العريض نسبيا وكانت حاوية سوطا طويلا نسبيا، كما في الشكل (1).

اما عند اخذ مسحة من منطقة البلعوم او القناة الوسطية الصدرية Thoracic Midgut فوجد ان الطفيليات تأخذ شكلا طويلا نسبيا وذات سوط يعادل نحو ضعف طول جسمها كما في شكل(2). وهذا يمثل الطور المعدي Infective stage.

اما الشكل (1) فيوضح شكل الطفيلي داخل معدة الحشرة ونراه باشكال متعددة وهذا ما يدل على ان حركة الطفيلي الى المعدة الوسطية الصدرية Thoracic Midgut يؤدي الى تغير شكل الطفيلي، فيظهر باشكال مختلفة منها يسمى بالـ Nectomonad (17) والاخر بـ Haptomonad ، ويوجد الشكل الاول Nictomonad عادة في المعدة الوسطية البطنية لذبابة الرمل، ومن خلال دراسة الاشكال الدقيقة لطفيليات الليشمانيا بالمجهر الالكتروني Electron Microscope ظهر انه ذو شكل مغزلي متطاول يلتصق بجدار أمعاء الحشرة الناقلة بوساطة السوط الذي يصل طوله نحو 20 مايكرون (20) كما اوضح (Killik – Kendrick) (19) وجود شكل اخر فضلا عن الشكل المسوط يسمى بالشكل البارامستكوت Paramastigote يكون طوله بين (5-10) مايكرون وعرضه بين (4-6) مايكرون وبعد من الاطوار التي تتوسط تحول الشكل عديم السوط الى الشكل المسوط.

ينقسم الطور المسوط والبارامستكوت في المعدة الخلفية لينتج اشكالا مسوطة نشطة تهاجر الى مقدمة الحشرة تكون مغزلية متطاولة ويقدر سوطها بطول الجسم مرتين Metacyclic Paramastigote وتمثل الدور المعدي Infective Stage وتنتقل فيما بعد الى المضيف الفقري في اثناء تناول الحشرة لوجبة دم اخرى وهذا ما جرت مشاهدته في بلعوم الحشرة شكل (2).

اما (Balanco , *etal*) (38) فقد اعتقد ان الطور المعدي يكون دائري الشكل او بيضويا له سوط قطبي ويشبه الى حد ما شكل امامي السوط في طور الثبوت Stationary Stage اذ أنه يشبه الشكل عديم السوط Amastigote لكنه يحتوي على سوط قصير وهذا مخالف لما شاهدناه في بلعوم الحشرة شكل(2) اذ يظهر بشكل متطاول وذي سوط يقدر بضعف طول الجسم وهذا يتفق مع ما جاء به (Dujardin , *etal*)(39).



شكل (1). طفيليات الليشمانيا الجلدية في طور امامي السوط Promastigote في معدة انثى حشرة الحرمس بعد 6 ايام من الحمة قوة التكبير 1000 x

شكل (2). طفيليات الليشمانيا الجلدية في طور امامي السوط Promastigote في بلعوم الحشرة بعد 7 ايام من خمج الحشرة طور infective stage قوة تكبير 1000 x

References

1-Al- TAGI , M & D. A. EVANS . 1978 . Characterization of ***Leishmania spp.*** From Kuwait by isoenzyme electrophoresis. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. , 72 : 56 – 65.

2-Al-GEBOORI , T. I . & D . A. . **EVANS** . 1980 Leishmaniasis in Iraq . Electrophoretic isoenzyme patterns . Roy. Soc. Of Trop . Med. And Hyg . 74: 164 – 171 .

3-Al-HUSSAYNI , N.K, M. B. **RASSAM** , S.Z. **JAWDAT** & F.N. **WAHID** . 1987. Numerical taxonomy of some old world ***Leishmania species***. Trans. Roy. Soc. Trop .Med. Hyg. , 81 : 581 – 586.

4-Al-BASHIR , N.M. 1990 . Axenic amastigote of ***Leishmania*** parasite cultivation and relationship to promastigote and intracellular amastigote. M. Sc. Thesis, University of Baghdad.

5-Al- OBAIDI , H. S. 2000 . Microbiological and Pharmacological study with a trail of vaccination against Cutaneous Leishmaniasis. (PH. D.) In Medical Microbiology. Thesis College of Medicine. University of Tikrit.

6-TAJ- ELDINE , S. D. & M. **Al-HASSANI** . 1961. kala – azar in Iraq . Analysis of 100 cases. J. Fac. Med. Baghdad 3: 1 – 9

7-ABUL –HAB , J. & R. **Al-BAGHDADI** . 1972 . Seasonal occurrence of man – biting ***Phlebotomus*** (Diptera : Psychodidae) in the Baghdad area , Iraq . Ann . Trop. Mid., Parasitol . 66: 165 -166.

8-MOHSEN , Z. H. . 1983 . Biting activity. Physiological Age and vector potential of ***P. papatasii*** Scopoli (Diptera : Phlebotomidae) in central Iraq J. Biol. Sc. 14 (1) : 79-94 .

9- ABUL –HAB , J. & S .**AHMED** . 1984 .Revision of the family Phlebotomidae (Diptera) in Iraq . J.Biol .Sci. Res., No. 7 :1-64.

10-WHO . 2000 ***Leishmania*** / HIV Co- infection . WHO / LESH/ 2000. 42. Geneva .,CTF / TRY , WHO, pp12.

11-SUCRE , A. P. , Y. **CAMPOS** , M. **FEMENDES**, H. **MOLL** , and A. M. **LEON** . 1998. ***Leishmania sp.***: Growth and survival are impaired

channel blocker : Experimental Parasitology . 88: 11 – 19.

12-COUKELL , A.and R. BROHDEN . 1998. Liposomal Amphotericin B the raputic use in the management of fungal infections and visceral Leishmania infantum. Drugs, (4) : 585 – 612.

13-SAFYNOVA , V. M. & A. N. **ALEXEVE** .1977. Mixed Experimental infection of ***P. papatasii.*** (Scopoli) with different species of ***Leishmania.*** Colloques International du C.N.R.S.N. 239. Ecologie. DES ***Leishmania*** . 153 – 155.

14-REGUERA , R.M., J. C. **CUBRIA** and D. **ORDOZEN.** 1998. Review the Pharmacology of Leishmaniasis. J. Pharmacy. 30 (4): 435 – 443.

15-DILLOM, R. J. and R .P. **LANE.** 1999. Detection of ***Leishmania*** Lipophosphoglycan binding protein in the sand fly. Parasitology. 118; 27 -32.

16-PETERS , W. and R. **KILLICK – KENDERICK** . 1987 . The Leishmaniasis in Medicine, Academic Press : London.

17- KILLICK – KENDERICK , R. D. H. **MOLYNEUX** , and R. W. Ashford . 1974. ***Leishmania*** in Phlebotomid Sandflies . I. Modification of the Flagellum associated with attachment to the mid gut and Oesophageal valve of the sand fly. Proc. Roy. Soc. , 187 : 404- 419 .

18- MOLYNEUX , D.H . , R. **KILLICK –KENDERICK** and R. W. **ASHFORD.** 1975 .***Leishmania*** in Phlebotomid Sand flies .III . The ultrastructure of ***Leishmania mexicana amazon***. In the mid – gut and pharynx of ***Lutzomyia longipalpis*** . Proc. Roy. Soc. 190 : 341 – 357 .

19- KILLICK – KENDERICK , R., D. H. **MOLYNEUX** ,D,H, **HOMMEL** , A. J. **LEANEY** and E. S. **ROBERTSON** , 1977 . ***Leishmania*** in Phlebotomid sand flies V. The nature and significance of infections of the Pylorus and ileum of the sand fly by ***Leishmania brazilliensis*** complex. proc. Of the Roy. Soc. London . Series B. 198 : 191 – 198 .

20- KILLICK – KENDERICK , R.1979. Biology of ***Leishmania*** in Phlebotomine sand flies in " Biology of Kinitoplastida " vol. (2) eds. W.H.R. Lusden , D. A. Evans. Academic .pp.193 .

21-SCHMUNIS , G.A. and R. **HERMAN** . 1970. Characteristics of Socalled natural Antibodies in various normal Sera against culture forms ***L. eishmania***. J. Parasitel ., 56 : 889 – 896 .

22-ZENIAN , A. , R. **ROWLES** and D. **GINAELL.D** . 1979 . Scanning Electromicroscopic study of the uptake of ***Leishmania*** Parasite by Macrophages . J. Cell Science , 39 : 187 – 199.

23-CHANG , K. P., R.S. **BRAY** and A .J. **LEANEY.** 1980. Infection of mouse macro- phages invitor by sand fly – derived promastigotes of ***L. mexican amazonesis***. Trans. Roy. Soc . Trop .Med. Hyg., 75 : 465 – 475 .

24-CROFT , S. L. and D.H. **MOLYNEUX** 1979. Studies on ultrastructure virus like particles and infectivity of ***Leishmania hertigi***. Ann Trop . Parasitol., 73 : 213-226 .

25-GEMITCHU , T., 1974 . The morphology and fine structure of the midgut and the peritrophic membrane of the adult female: ***Phlebotomus longipes***. Parrot and Martin. Ann.Trop. Med. Parasitol. 68 : 111- 124.

26-PIMENTA , P. F. P.; G. B. **MODI** ,S. T. **PEREIRA,** D. L. **SHANABADDIN** and D. L. **SACKS** , 1997 . A novel role for the Peritrophic matrix in protecting ***Leishmania*** from the hydrolytic activities of the Sand fly mid gut. Parasitol.. 115 : 359 – 369.

27-- KILLICK – KENDERICK , R. . 1988. Studies and criteria for the incrimination of vector and reservoir host of the ***Leishmania***. In " Research

of the international workshop " Canada, pp: 272.

28-SCHILEIN , Y., A. **WARBURG** , L. F. **SCHNAR** , S. M. **LE- BLANCQ** & A. E. GUNDERS . 1984 . ***Leishmania*** in Israel , reservoir host Sand fly vector and ***Leishmania*** Strains in the Negva ,Central Arave and along the Dead Sea . Trnas. Roy. Soc. .Trop. Med. . Hyg. 78 : 480 – 484.

29-DWEYER , D .M. . 1974. Lectin – binding Saccharides on the Parasitic Protozoon Science . 184: 471 -477.

30-LEANEY , A. J. 1977. The effect of Temperature on ***Leishmania*** in sand flies . J. Parasitol. 75 (2) : 27 – 29 .

31-KAGAN , IG ,. & L **.NOMAN** . 1970 – Normal of Clinical Microbiology . Am. Soc. Microbial. Washington . p. 479 .

32-DAWSSON, R.M., D. C. **ELLIOT**, W. H. **ELLIOT** , & K. M. **JONES**. 1969. Data for biochemical research. Clarden Press, Oxford , pp : 508 -600 .

33-ADLER , S. & O. **THEODOR** . 1930 a . Investigation on Mediterranean Kala –azar IX. Feeding experiments with ***P. pernicisus*** and other species on animals infected with *L. infantum* proc. Roy .Soc. London .B. 116: 505 -515 .

34-WILLIAMS, P. 1970. Phlebotomine Sand flies and ***Leishmania*** in British Honduras (Belize) Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg. 64: 317 – 368 .

35-THATCHER , V. E. 1968 . Studies of Phlebotomine Sand flies using Castor – Oil traps baited with Panamanian animals. J. Med. Ent. 5: 293 – 297.

36-SOUZA , A. de, E. **ISHICAWA**, R. **BRAGA**, F. **SILVIER** , R. **LAINSON** and J. **SHOW** .1996 . Psychode Pygut Complexus , a new vector of ***Leishmania braziliensis*** to humans in Parastate , Brazil., Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 90 (2). 112 – 113.

37-TESH , R. B. & G. B. **MODI**. 1984. A simple Method for Experimental Infection of Phlebotomine Sand flies with ***Leishmania***. AM. J. Trop. Med. Hyg. 33 (1) : 41 – 46 .

38-BALANCO , J .M , E. M. F. **PRAL** , S. DA **.SI LVA** , A. T. **BIJOVSKY**, R. A. **MORTARA** and S. C. **ALFIERI** . 1997. Axenic Cultivation and Parial Characterization of ***Leishmania braziliensis*** amastigote – like stages. Parasitology . 1998. 116, 103 – 113. Printed in the United Kingdom.

39-DUJARDIN J.P. , M . **EDDY** , M . D. **FELICIANGLI**.2001 . Domestic and Peridomestic Transmission of American Cutaneous Leishmaniasis; vol.96 (2) 159 -162.

Growth and development of *Leishmania* in its insect Host

***Widad Juma Hameed Al-Mashhadany**

* College of Science/ Baghdad University

Abstract

Leishmania parasite has two types of hosts . One is vertebrate and the other is invertebrate (insect) .The parasite alternates its hosts .The vertebrate hosts include mainly man and some other vertebrates such as dogs , rats , gerbils , lizards and others ; invertebrates hosts are sand flies of the genus *Phlebotomus* in the old world, and *Lutzomyia* of the new world. *Leishmania* assumes different morphology and biochemistry in its two types of hosts . Therefore , when it changes host it must go through series of changes in order to fit its new host . when it is in man it is of amastigote shape residing in the macrophages cells of human blood . When female sandflies bite *Leishmania* – infected man , it takes a blood meal with macrophages containing amastigotes .When blood reaches mid-gut of the insect amastigotes change to promastigotes , which soon multiply by longitudinal binary fission into the infective promastigote . These begin to move forward to pharynx and fore –gut in general preparing to move to another host.

Leishmania in insect stomach has different shapes , long and flagellated , short and flagellated in addition to crescent-shaped and flagellated broad-shaped . These are all stages through its changes from amastigote to the infective promastigote ,which will move eventually to the head of the female sandfly.

The aim of this study is to know the growth and development of ***Leishmania*** in the sand fly.