

**Ministry of Higher Education and
Scientific Research
University of Mosul
College of Science
Department of Biology**



**Diagnostic and Molecular study of *Giardia* parasite with
evaluation of some biochemical and immunological
parameters in infected individuals in Duhok City**

Ismail Hassan Ismail Hassan Slevaney

M.Sc. Thesis

In

Biology / Zoology

Supervised by

Prof.

Dr. Muna H. Jankeer

Asst. Prof.

Dr. Senaa A. Ali AL-jarjary

1446 A.H

2025 A.D

Summary

The current study was aimed to evaluate some biochemical parameters and specific proteins in serum of 39 patients (males and females) in patients those were diagnosed to have giardiasis infection. Giardiasis is a parasitic disease that caused by *Giardia lamblia*. The choosen patients were aged between 3 and 38 years, of the total 508 examined cases those referred to health centers and camps in Dohuk city between November 2023 and April 2024. Diagnosis of the parasitic infections was supported by the clinical symptoms of patients. The stool samples those found microscopically to contained cysts and/or trophozoites were adopted for the successive study. Serum samples were collected from the confirmative cases for giardiasis infections in addition to 30 other serum samples those were collected from individuals (male and female) those proved to be free of Giardiasis infections, the latter were considered as a control group.

Giardiasis infection was shown to infect 39 patients (7.7%) out of the 508 exanimated cases. Prevalence was ranged between (2.8% to 11.9%) in the five screened areas. As for variance between sexes, the infection rate with giardiasis was higher in males (9.0%) than in females was (6.34%). Furthermore, infection rate in rural areas was higher than in urban areas of Duhok province (11.33% and 4.21%, respectively). The infection rates in younger children (3-11) years old and adults aged between (30-38) years old were higher than the other studied aged groups (9.5%and 9.4%, respectively).

A significant increase (at $p \leq 0.01$) in the percentage of malondialdehyde (as oxidative indicator) concentration were observed in patients' serum those have Giardiasis (158%),183% in males and 134% in females compared with control group. The results also showed a significant decrease (at $p \leq 0.01$) in the concentration percentage of both glutathione and albumin (as non-enzymatic antioxidants) in serum of infected patients by (70% and 15%, respectively). On the other hands, no significant difference in decrement percentage of glutathione and albumin between both sexes either in infected or non-infected individuals.

As for digestive enzymes (α -amylase and pancreatic lipase), generally significant decrease (at $p \leq 0.01$) were observed in their activity in patients with Giardiasis by (38% and 54%, respectively) compared to control groups. Decrement were (44%) for α -amylase and (54%) for pancreatic lipase in male. Decrement in female were (35%) for α -amylase and (57%) for pancreatic lipase compared to controls according to sexes. The concentration of electrolytes (Na^+ and K^+) in serum of the infected individuals were significantly decrease (at $p \leq 0.01$) by (6% and 4%, respectively) compared to controls of both sexes. Furthermore, decrement in concentration of K^+ in infected male (4.33 ± 0.064 mmol /L) was more than that of infected female (4.43 ± 0.082 mmol /L).

Concentrations of the immunological proteins {Alpha -1- antitrypsin (AAT), Immunoglobins (IgG, IgM, IgA)} were significantly increased (at $p \leq 0.01$) in in serum of patients with giardiasis compared with control groups with increment percentage of (54%, 3%, 12% and 11%, respectively). It worthies to say that concentration of IgA showed more increment (17%) in infected male than that in infected females (4%) compared to controls according to both sexes. The previous results may reflect an active immune response toward giardiasis infection and disturbance in digestive enzymes, thus irritation in intestinal mucosa of the patients that initially lead to intestinal malabsorption and inflammations, which mean that giardiasis infection caused disturbance in metabolic and physiological processes and then lead to oxidative stress.

Molecular examination employing Nested polymerase chain reaction (PCR) and Sanger sequencing was applied to investigate the novel genetic diversity and molecular epidemiology of *G. lamblia* in the regions of the current study. The intergenic spacer (IGS) region was targeted to validate a complete positivity rate of (100%) in the 29 infected stool specimens were analyzed, thereby illustrating substantial sensitivity and specificity. The sequencing was confirmed (99%) identity and identified four new genotypes, contributing to the *G. lamblia* database. This molecular characterization and genetic presentation confirm the contribution of the study.

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم بعض المتغيرات الكيموحيوية والبروتينات النوعية في مصل 39 مريضاً (ذكور وإناث) تم تشخيص إصابتهم بداء الجيارديا. يُعد داء الجيارديا مرضاً طفيلياً تسببه جيارديا لامبليا. تتراوح أعمارهم بين (3-38) سنة. من بين إجمالي 508 حالة تمت دراستها ممن تمت إحالتهم إلى المراكز الصحية والمخيمات في مدينة دهوك خلال الفترة من نوفمبر 2023 إلى أبريل 2024. تم دعم تشخيص الإصابات الطفيلية بالأعراض السريرية للمرضى. واعتمدت الدراسة على عينات البراز التي وُجد أنها تحتوي مجهرياً على أكياس (Cyst) أو أطوار نشطة (trophozoites) للطفيلي. تم جمع عينات مصل الدم من الحالات المؤكدة للإصابة بداء الجيارديا، بالإضافة إلى 30 عينة أخرى من مصل الدم من أفراد (ذكوراً وإناثاً) ثبت خلوهم من الإصابة بداء الجيارديا، واعتُبرت هذه المجموعة الأخيرة مجموعة سيطرة.

أظهرت النتائج أن نسبة الإصابة بداء الجيارديا بلغت 7.7% (39 حالة) من إجمالي 508 حالة خضعت للفحص. تراوحت نسبة الانتشار بين (2.8% إلى 11.9%) في المناطق الخمس التي شملتها الدراسة. أما بالنسبة للفروق بين الجنسين، فكانت نسبة الإصابة بين الذكور (9.0%) أعلى منها بين الإناث (6.34%). كما كانت معدلات الإصابة في المناطق الريفية أعلى منها في المناطق الحضرية بمحافظة دهوك، حيث بلغت النسبة في الريف (11.33%) مقابل (4.21%) في الحضر. كانت معدلات الإصابة بين الأطفال الصغار (3-11 عاماً) والبالغين (30-38 عاماً) أعلى مقارنة بالمجموعات العمرية الأخرى، حيث بلغت (9.5% و 9.4% على التوالي).

لوحظت زيادة معنوية عند مستوى الاحتمالية ($p \geq 0.01$) في نسبة تركيز المألونديالدهيد (كمؤشر للأكسدة) في مصل المرضى المصابين بداء الجيارديا، حيث بلغت الزيادة (158%)؛ 183% بين الذكور و 134% بين الإناث مقارنة بالمجموعة الضابطة. كما أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً عند مستوى الاحتمالية ($p \geq 0.01$) في نسبة تركيز كل من الغلوتاثيون والألبومين (كمضادات أكسدة غير إنزيمية) في مصل المرضى المصابين بمقدار (70% و 15% على التوالي). من ناحية أخرى، لم تُلاحظ فروق معنوية في نسب انخفاض الغلوتاثيون والألبومين بين الجنسين سواء لدى المصابين أو غير المصابين.

فيما يتعلق بالإنزيمات الهاضمة (ألفا-أميلاز والليباز البنكرياسي)، لوحظ انخفاض معنوي عند مستوى الاحتمالية ($p \geq 0.01$) في نشاطهما لدى المرضى المصابين بداء الجيارديا بمقدار (38% و 54% على التوالي) مقارنة بالمجموعة الضابطة. كان الانخفاض بين الذكور (44% لألفا-أميلاز و 54% للليباز البنكرياسي)، بينما كان الانخفاض بين الإناث (35% لألفا-أميلاز و 57% للليباز البنكرياسي) مقارنة بالمجموعة الضابطة وفقاً للجنس.

أما بالنسبة لتركيزات الإلكتروليتات (Na⁺) و (K⁺) في مصل الدم لدى الأفراد المصابين، فقد لوحظ انخفاض معنوي عند مستوى الاحتمالية ($p \geq 0.01$) بنسبة (6% و 4% على التوالي) مقارنة بالمجموعة الضابطة لكلا الجنسين. علاوة على ذلك، كان انخفاض تركيز البوتاسيوم (K⁺) لدى الذكور المصابين (4.33 ± 0.064 mmol /L) أكبر منه لدى الإناث المصابات (4.43 ± 0.082 mmol /L).

لوحظت زيادة معنوية عند مستوى الاحتمالية ($p \geq 0.01$) في تركيز البروتينات المناعية {ألفا-1-أنتيتربسين (AAT)، والجلوبولينات المناعية (IgG, IgM, IgA)} في مصل الدم لدى المرضى المصابين بداء الجيارديا مقارنة بمجموعة السيطرة، حيث بلغت نسبة الزيادة (54%، 3%، 12% و 11% على التوالي). وتجدر الإشارة إلى أن تركيز IgA أظهر زيادة أكبر (17%) لدى الذكور المصابين مقارنة بالإناث المصابات (4%) مقارنة بالمجموعة الضابطة وفقاً للجنس. قد تعكس هذه النتائج استجابة مناعية نشطة تجاه عدوى الجيارديا واضطراباً في الإنزيمات الهاضمة، مما يؤدي إلى تهيج في الغشاء المخاطي للأمعاء لدى المرضى، ما يتسبب مبدئياً في سوء امتصاص معوي والتهابات. يشير ذلك إلى أن عدوى الجيارديا تؤدي إلى اضطراب في العمليات الأيضية والفسيولوجية، مما ينتج عنه إجهاد تأكسدي.

تم إجراء الفحص الجزيئي باستخدام تقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل المتداخل (Nested PCR) وتسلسل سانجر لدراسة التنوع الجيني الواسع الوبائيات الوراثية لـ *G. lamblia* في مناطق الدراسة الحالية. استُهدفت منطقة intergenic spacer (IGS) للتحقق من معدل إيجابية كامل بلغ (100%) في 29 عينة براز مصابة تم تحليلها، مما يُظهر حساسية وخصوصية عالية. تم التأكد من التسلسل بنسبة تطابق (99%) وتم تحديد أربعة أنماط جينية جديدة، مما ساهم في تعزيز قاعدة بيانات *G. lamblia* وتؤكد هذه النتائج المساهمة العلمية القيمة للدراسة.



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

دراسة تشخيصية وجزيئية لطفيلي الجيارديا مع تقييم بعض المتغيرات الكيموحيوية والمناعية لدى المصابين في مدينة دهوك

إسماعيل حسن إسماعيل حسن سليفاني

رسالة ماجستير

كلية العلوم / علم حيوان

بإشراف

الأستاذ المساعد
الدكتورة سناء عبد الله الجرجري

الأستاذ
الدكتورة منى حسين جانكير

2025 م

1446 هـ