University of Mosul
College of Veterinary Medicine

Morphological , Molecular diagnosis and some epidemiological aspects of *Babesia* spp.and their tick vectors in ovine in Mosul District

Baydaa Younis Mahmood Dawood Al-Lahaibi

Ph.D. Dissertation

Veterinary Medicine / Veterinary Parasitology

Supervised by

Professor

Dr. Eman Ghanim Suleiman

2025A.D. **1447 A.H**

Abstract

Babesia is one of the most significant parasites transmitted by hard ticks, causes high rates of morbidity and mortality in sheep herds across the different countries of the world . In this study atotal of 400 blood samples taken from sheep in various regions of Mosul district were used in the current study to diagnose *Babesia*.

The *Babesia* species was diagnosed in 183 blood positive samples, with a total infection rate of 45.75%. Two species of *Babesia* were diagnosed: The large-sized *Babesia* (*Babesia motasi*) with a measurement rate of (3.76±0.83) x (2.39±0.78) and a range of (2.5-5) x (1-5) µm and small sized *Babesia* (*Babesia ovis*) with a measurement rate of 1.81±0.58 x (1.1±0.47) µm , with a range of (1-2.5) x (1.1-2.1) µm. The current study also considered the feasibility of staining 50 sheep blood samples with the fluorescent Acridine orange stain (AO).

The infection rate with *B.ovis* reaching 72.13% and the single infection pattern with *B.ovis* reaching 40.43%.Sheep that appeared clinically healthy had a parasitism rate of 4.5±4.54 with a range of 0.2-21.6, while the parasitism rate in sheep that had some clinical signs was 16.39±11.05 with a range of 0.3-40.5. The infection rate with the *Babesia* species in sheep in the different areas affiliated with the Mosul district center, reaching 52.77%, followed by the Hammam Al-Alil and Bashiqa areas, reaching 48.93% and 47.5 respectively. As for the other areas, the infection rate ranged between 40-45.16 %. The study's findings demonstrated that there was no significant variation in the association between the months of the year and *Babesia* parasite infection.

There was no statistically significant difference in the prevalence of *Babesia* parasite between male and female of sheep and between the age groups examined

In this study the *Babesia* was diagnosed in sheep that had some clinical signs with an infection rate of 49.28%. *Babesia* was also diagnosed in sheep that appeared clinically healthy or subclinical infected animals with a rate of 41.88%.

Babesia parasite infection did not show a significant difference in infection rates between imported and local sources, however, there was a significant difference in infection rates between sheep raised in closed breeding and sheep raised in open grazing systems.

The present research was conducted to distinguish *Babesia* spp. in sheep in different areas in Mosul district, using conventional molecular methods. 180 blood samples were collected from local sheep randomly. The blood samples were examined by using PCR technique, genetic sequencing, and a phylogenetic tree based on the 18SrRNA gene. The results showed that a number of positive samples infected with *Babesia* parasite reached 132 samples(73.3%), with a reaction result of 300 base pairs, the result of molecular examination confirm the diagnosis of *Babesia ovis* and *Babesia motasi* with product 549,402bp respectively and the *Babesia ovis* isolate was the most frequent.

In this research, three new isolates of the of *Babesia ovis* (LC799506.1, LC799507.1, and LC799508.1) and three new isolates of the *Babesia motasi* (LC799509.1, LC799510.1, and LC799511.1 were recorded in sheep in Mosul district. The *Babesia ovis* isolates fall within the scope of the genetic sequence and phylogenetic tree within the same clade and that these isolates were closely related to both the Turkish (HM241889.1) and German (AY260178.1) isolates. As for the three isolates of *Babesia motasi*, there was closeness between the two isolates LC799510.1 and LC799511.1 Also, these two isolates were close to the Chinese isolate(MH899762.1 and MF361088.1) and the British isolate (KU2345270.1) while our isolate LC799509.1 was close to the Iraqi

isolate recorded in Diwaniyah KP998110.1), as well as to the isolate recorded in Pakistan (KY765559.1).

According to the study's findings, the overall percentage of sheep infested with hard ticks was 19.25%. It was also observed that the ears of sheep had the highest percentage of ticks on their bodies, at 90.9%. Of the isolates, two species of ticks were identified: *Rhipicephalus turanicus* and *Hyalomma anatolicum anatolicum.*

The highest rate of sheep infestation with tick was in the Hammam Al-Alil area, followed by the fields of the College of Agriculture and Forestry, where it reached 33.76% and 32.46%, respectively. The study showed a significant difference in the rate of ticks infestation between male and female sheep, where the highest rate was in females 25.59%, while in males the rate was 12.16%. The results of the study indicated that the highest rate of ticks infestation in sheep was in the ages of 1-3 years, reaching 28.44%, noting a significant difference in the rate of ticks infestation between the different age groups of sheep. The study also showed that the highest rate of ticks infestation in sheep was during the summer months (June, July and August), reaching 42.42%, 63.88% and 36.11% respectively, followed by the autumn months (November,2023, September and October,2024), reaching11.42% , 25.71%, 22.85% respectively, while no ticks were observed on sheep during the winter months.

Both the 16SrRNA gene and the COX1 gene, which have molecular weights of 460 bp and 700 bp respectivly, were used to validate the identification of the ticks genera *Hyalomma* and *Rhipicephilus*. In this study, four new tick isolates were identify in sheep in Mosul district: *Hyalomma anatolicum anatolicum* (PV174205.1, PV174206.1) and *Rhipiciphalus turanicus* (PV174207.1, PV174208.1). Additionally, two species under two genera of hard ticks were identified by molecular

analysis and sequencing, including *Hyalomma anatolicum anatolicum* and *Rhipiciphalus turanicus,* which infest sheep in Mosul district.

While our isolates of *Hyalomma anatolicum anatolicum* (PV174205.1, PV174206.1) were close to the isolates recorded in India, Iraq, China, the United Arab Emirates, and Egypt, there was a 100% genetic similarity between *Rhipicephalus turanicus* (PV174207.1, PV174208.1) and the isolates recorded in China and Kazakhstan.

جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

التشخيص الشكلي والجزيئي و بعض الجوانب الوبائية لأنواع البابيزيا والقراد الناقل في الضأن في قضاء الموصل

بيداء يونس محمود داؤد اللهيبي

أطروحة دكتوراه
الطب البيطري / الطفيليات البيطرية

بإشراف
الأستاذ الدكتورة
ايمان غانم سليمان

صفر/1447 هـ
آب /2025م

الخلاصة:

البابيزيا من أهم الطفيليات التي تنتشر عن طريق القراد الصلب، وتسبب نسب عالية من العدوى والنفوق في قطعان الأغنام في مختلف دول العالم. وفي هذه الدراسة تم فحص 400 عينة دم مأخوذة من الأغنام في مناطق مختلفة من قضاء الموصل لتشخيص طفيلي البابيزيا. وقد استخدمت هذه العينات في عمل مسحات دموية رقيقة، ثم صبغت بصبغة الكميزا ثم فحصت تحت المجهر الضوئي.

تم تشخيص طفيلي البابيزيا في 183 عينة دم وبنسبة اصابة كلية 45.75 % وتم تشخيص نوعين من طفيلي البابيزيا وهما البابيزيا الكبيرة الحجم (البابيزيا موتاسي) وبمعدل قياس بلغت(78 .0±2.39)×(3.76±0.83) مايكروميتر وبمدى تراوح (5-1)×(5-2.5) مايكروميتر والبابيزيا الصغيرة الحجم(البابيزيا الغنمية) وبمعدل قياس (1.1±0.47)×(1.81±0.58) مايكروميتر وبمدى تراوح (2.1-1.1)× (2.5-1) مايكروميتر. كما تضمنت الدراسة الحالية امكانية استخدام صبغة الاكريدين البرتقالية المتفلورة في صبغ 50عينة من دم الأغنام وتميزت هذه الصبغة بسهولتها وسرعتها في تشخيص الاصابة بطفيلي البابيزيا في مسحات الدم خلال دقيقتين .

بلغ معدل الإصابة بالبابيزيا الغنمية72.13%، وشكل نمط الإصابة المفردة بالبابيزيا الغنمية نسبة 40.43%. بلغ معدل التطفل في الأغنام التي بدت سليمة سريريًا 4.5±4.54، بنطاق يتراوح بين 0.2 -21.6، بينما بلغ معدل التطفل في الأغنام التي ظهرت عليها بعض الأعراض السريرية 16.39±11.05، بنطاق يتراوح بين 0.3 -40.5وسجلت الاصابة بطفيلي البابيزيا في الأغنام في المناطق المختلفة التابعة لمركز قضاء الموصل نسبة 52.77%، تلتها منطقتي حمام العليل وبعشيقة حيث بلغت 48.93% و47.5% على التوالي، أما في باقي المناطق فقد تراوحت نسبة الإصابة بين40-45.16%. وأظهرت نتائج هذه الدراسة عدم وجود فروق معنوية في علاقة الإصابة بطفيلي البابيزيا بأشهر السنة , مع عدم وجود فروق إحصائية بين الإناث والذكور. ولم يكن هناك فرق معنوي في نسبة الإصابة بطفيلي البابيزيا بين الفئات العمرية.

تم تشخيص طفيلي البابيزيا في الأغنام التي ظهرت عليها بعض الأعراض السريرية بنسبة إصابة بلغت 49.28%، كما تم تشخيص الطفيلي في الأغنام السليمة سريريا أو حيوانات ذات الاصابة دون السريرية بنسبة إصابة بلغت 41.88 %. ولم يسجل الإصابة بطفيلي البابيزيا أي فرق معنوي في معدل الإصابة بين السلالات المحلية والمستوردة ولكن كان

هناك فرق معنوي في معدل الإصابة بطفيلي البابيزيا بين الأغنام التي تربى ضمن نظام الرعي المفتوح والأغنام التي تربى ضمن نطاق التربية المغلقة.

اجريت الدراسة الحالية للكشف عن طفيلي البابيزيا في الاغنام في مناطق مختلفة من قضاء الموصل – العراق باستخدام الطرق الجزيئية التقليدية, جمعت 180عينة دم من الاغنام المحلية من فئات عمرية مختلفة ومن كلا الجنسين. فحصت هذه العينات باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل واجراء التسلسل الجيني وشجرة النشوء الوراثي وذلك بالاعتماد على الجين الحمض النووي الريبوزي الرايبوسومي18S.

اذا اشارت نتائج الدراسة الحالية ان عدد العينات الموجبة بطفيلي البابيزيا وذلك باستخدام تقنية البلمرة المتسلسل اذا بلغت 132 عينة وبنسبة 73.3% وبنتيجة تفاعل بلغت 300 زوجا قاعديا وتم تاكيد تشخيص الاصابة بكل من طفيلي البابيزيا الغنمية والبابيزيا موتاسي وذلك بواقع ناتج تفاعلي 549 و 402 زوجا قاعديا .

اشارت نتائج التسلسل الوراثي وشجرة النشوء والتطور لطفيلي البابيزيا في الأغنام المحلية في قضاء الموصل إلى تسجيل ثلاث عزلات جديدة من طفيلي االبابيزيا الغنمية (LC799506.1وLC799507.1 وLC799508.1)وثلاث عزلات من طفيلي البابيزيا موتاسي (LC799509.1وLC799510.1وLC799511.1)، وأن عزلات االبابيزيا الغنمية تقع ضمن نطاق التسلسل الجيني وشجرة النشوء والتطور ضمن نفس الفرع الحيوي وأن هذه العزلات كانت مرتبطة ارتباطاً وثيقاً بكل من العزلات التركية والألمانية، اماالعزلات الثلاثة للبابيزيا موتاسي فلقد كان هناك تقارب بين العزلتين LC799510.1 و LC799511. 1 كما أن هاتين العزلتين كانتا قريبتين من العزلة الصينية والعزلة البريطانية. اما العزلة LC799509.1فقد كانت قريبة من العزلة العراقية المسجلة في الديوانيةKP998110.1 كذلك من العزلة المسجلة في باكستان KY765559.1 .

وفقًا لنتائج الدراسة، بلغت النسبة الإجمالية لتطفل القراد على الاغنام 19.25%. كما لوحظ أن آذان الأغنام احتوت على أعلى نسبة من القراد ، حيث بلغت 90.9%. ومن بين العينات المعزولة، تم تحديد نوعين من القراد: *Rhipicephalus turanicus* و *Hyalomma anatolicum anatolicum*.

وكانت أعلى نسبة انتشار للقراد في منطقة حمام العليل، تلتها حقول كلية الزراعة والغابات حيث بلغت 33.76% و32.46% على التوالي. وأظهرت الدراسة وجود فرق معنوي في نسبة التطفل بالقراد بين الذكور والإناث حيث بلغت أعلى نسبة في الإناث 25.59%، أما الذكور فكانت النسبة 12.16%.

وقد أشارت نتائج الدراسة إلى أن أعلى نسبة إصابة بالقراد في الأغنام كانت في الأعمار من 1-3 سنوات حيث بلغت 28.44% مع ملاحظة وجود فرق معنوي في معدل الإصابة بالقراد بين الفئات العمرية المختلفة للأغنام .

كما أظهرت الدراسة أن أعلى نسبة تطفل بالقراد في الأغنام كانت خلال أشهر الصيف (حزيران وتموز واب) حيث بلغت 42.42%و63.88%و36.11% على التوالي, تلتها أشهر الخريف (ايلول وتشرين الاول وتشرين الثاني) حيث بلغت 25.71%و22.85%و11.42% على التوالي بينما لم يلاحظ وجود أي قراد على الأغنام خلال أشهر الشتاء .

استخدم كل من جين 16SrRNAوجين COX1 اللذين يبلغ وزنهما الجزيئي 460 و700 زوجا قاعديا لتاكيد تشخيص كل من *Hyalomma* و *Rhipicephilus*.في هذه الدراسة و تم تصنيف نوعين من القراد الصلب من خلال الدراسة الجزيئية والتسلسل الجيني، وهما *Hyalomma anatolicum anatolicum* و *Rhipiciphalus turanicus* اللذان يصيبان الأغنام في قضاء الموصل، وكان النوع *Rhipiciphalus turanicus* أكثر تكرارًا في هذه الدراسة، وتم تسجيل أربع عزلات جديدة من القراد في الأغنام في قضاء الموصل: وهي *Hyalomma anatolicum anatolicum* (PV174206.1, PV174205.1) *Rhipicephalus turanicus* (PV174208.1, PV174207.1)

كان هناك تشابه وراثي (100%) بين (PV174207.1, PV174208.1) R*hipicephalus turanicus* مع العزلات المسجلة في الصين وكازاخستان، بينما كانت عزلاتنا *Hyalomma anatolicum anatolicum* (PV174205.1, PV174206.1) قريبة من العزلات المسجلة في العراق والإمارات العربية المتحدة ومصر والهند والصين بنسبة تشابه .%.100