University of Mosul

College of Veterinary Medicine

Morphometric and Molecular Diagnosis of Lice and It's Role for Transmission of Some Blood Protozoa in Domestic Ruminants in Nineveh Governorate

Mostafa Salim Shaker Ahmed Alneema

Ph.D. Dissertation
Veterinary Medicine / Veterinary Parasitology

Supervised by
Professor
Dr. Nadia Sultan Alhayali

2024 A.D. **1446 A.H**

Abstract

Pediculosis is considered as one of the most significant veterinary parasitic diseases causing economic losses whether directly or indirectly. The study aimed to evaluate some data about risk factors such as seasons, sex, age, breed, collection area of study and feeding system; and vector role of lice for some blood protozoa. The study has been applied during the months from January-2022 until December-2022. The Total numbers of examined: 1170, 470, 545 and 1060 of sheep, goat, cattle and buffalo were respectively. Microscopical examination by using dissecting microscope and canon digital camera, molecular procedures done by DNA extraction and analysis. The total infestation rates have proven and be higher in goats 57.02% and in buffaloes 54.06% followed by sheep 50.43% and the lowest rate found in cattle 40.37%, it should be noted that the current study is the first in Iraq.

In sheep, the highest infestation rate has been recorded during the months of winter equaling 60% at $p \leq 0.05$, followed by April, May, and June being 54.3% at $p \leq 0.05$, while the lowest infestation rate has been recorded during the months of October, November, December, and July, August, September being 44.4% and 40% respectively at $p \leq 0.05$. Within age risk factor, no significant differences as far as the age groups less than 3 years compared to more than 3 years being 49.62%, 51.46% respectively. As far as sex risk factor was concerned the highest infestation rate in females was 68.97% being significant at $p \leq 0.05$. As for breed risk factor, no significant differences between local, foreign breeds are recorded. The highest infestation rates were recorded in the farthest districts and subdistricts from Mosul city and the lowest rates were noted in their nearest and neighboring counterparts locations and suburbs of Mosul center.

Results of the feeding system risk factor had shown that indoor feeding was more risker than outdoor feeding.

In goat, the infestation rate was the highest during the months of winter. Least infestation rate has been documented spring months as 50% respectively at $p \leq 0.05$. Age group more than 3 years had recorded 71.76% infestation rate compared with 39.53% per the high infestation rates than the three years with notable difference at $p \leq 0.05$. The optimum recorded significant infestation rate was 76.6% in female than in male group and is significant at $p \leq 0.05$. Significant infestation rate in local breed than external imported breeds. Bazwaya area has the highest infestation rate 88.33% compared with City Centre and Gogjali with 61.33% and 47.3% respectively. Extensive feeding system 69.16% was higher than indoor system 52.5%.

In cattle, higher infestation rate was seen in winter has been recorded which is the highest and the lowest rate were recorded in summer months. Difference between age groups was not significant. Highest infestation rate was detected in male 66.66%. The infestation breed rates were the highest in Georgian than with Turkish and Local breeds with 36.36 and 35.2% respectively, with significant differences at $P \leq 0.05$. The maximum infestation rates have been documented in Izhilila as 50% and Bazwaya as 46.42% and the lowest has been recorded in Orta Kharab as 25%.

In local Iraqi buffaloes, the highest infestation rate has been recorded in winter months 79%, while the lowest rate was recorded in autumn 43.86%, at $p \leq 0.05$. Highest and significant infestation rate was noted as 64.09% in age group more than 3 years compared with 37.5% in age group less than three years with notable differences at $P \leq 0.05$. The higher infestation rate was recorded 61.09% in female group compared with

43.09% in male at p≤0.05. Highest infestation ratio is recorded in Hawy Al-Maslakh (the right coast of Mosul) with 80%; while the lowest was in Hammam Al-Alil with 36%.

The morphometric results in this study have displayed that species in sheep was of two species of lice; sucking lice *Linognathus spp.*, and biting lice *Damalinia ovis*. Also, the goats there had been two species of lice; sucking lice *Linognathus spp.* and biting lice *Damalinia caprae*. The biting lice species *Damalinia bovis* was recorded in cattle while the sucking lice species *Haematopinus tuberculatus* was recorded in buffalo. The highest infestation rate in sheep with *Damalinia ovis* was 76.2% while in *Linognathus spp.* was 16.9% and the mixed infestation was 6.7%. The infestation rate of *Linognathus spp.* in goats was 78.3% and with *Damalinia caprae* was 14.1% while mixed infested rate equals 7.4%.

Clinical gross examination results of skin of ruminants skin revealed the occurrence of lice accompanied with their egg nests on the skin of goats with heavy infections showing damaged hair and hair fall spots due to heavy infestation.

Microscopically, in sheep, the identification of the species *Damalinia ovis* having the following morphological features: reddish-brown, 1.6-3mm long, mouthparts are located ventrally, large head wide equal to the body and rounded anteriorly, having 3 segmented antennae and one claw on each tarsus.

Louse species found in sheep are from the sucking lice *Linognathus spp.* Having the following morphological features: adults are 0.75mm wide and 2.2mm long, blue to black, first pair of legs is smaller than second and a third are with a long narrow head and slim body.

The lice species found in goat is; *Damlinia caprae* having the following morphological features; adults are reddish-brown in colour, 1.5mm long and 0.66 wide, large rounded and wide head like the body in the front, while the mouthparts are ventrally featuring one single claw over every tarsus, 3 segmented antennae. The sucking louse *Linognathus spp.* is characterized by the following morphological features: adults are blue to black in color, 2.14mm long and 0.7 wide, with slim body and long needle like head having five segmented antennae body, and one claw in each leg.

The lice species found in cattle is the biting lice *Damalinia bovis* according to the following morphological features: adults are red to brown colour, 1.5mm long and 0.68mm wide, with dark lines on the abdominal regions, with large head and wide like the body, and rounded from the end having one claw in each leg.

The lice species found in buffalo is the sucking lice *Haematopinus tuberculatus* and according to the following morphological features: black brown in color, the young are 3.8mm long, 1.9mm in width, with clear sight spots with no eyes, the paratergal plates were very prominent having antennae containing five segments and pointed head with one large claw in each.

Molecular results by traditional polymerase chain reaction results of amplification of 18S rRNA gene is bp 539 for lice species are of buffaloes, cattle, sheep, and goats. Amplification results universal primers of Cox 1 gene buffaloes, cattle sheep and goats. Concerning lice as a vector for blood parasite, the PCR results have shown the amplification of 16SrRNA gene revealing positive for *Anaplasma spp.* bp 345, while amplification results of 18SrRNA gene from lice had revealed positive for *Theileria spp.* bp 1750.

The results of the sequences COX1 gene had shown that the three species of lice are *Haematopinus tuberculatus, Bovicola bovis and Linognathus africanus* which have been isolated from the city of Mosul, had a significant distance to other species recorded in different countries when matched with the World Gene Bank, and they had the accession numbers of *Haematopinus tuberculatus* PP593603 and PP593604 matching 100% to both Pakistan, and Iran species. The species *Bovicola bovis* accession number PP599070 matches 100% with the species of Canada. While the species *Linognathus africanus* accession numbers PP598894, PP598895, PP598896, PP598897 and PP598898 match 100% with Hungary species and 99.44% with Mexico, China, and The United Kingdom, and as 99.17% with Mexico.

Concerning lice as a vector for blood parasite, Molecular results of lice as a vector revealed that the sucking lice of sheep and buffaloes were free from *Trypanasoma* parasite while amplification results of 16SrRNA gene from lice have shown positive for *Anaplasma spp.* bp 345, while amplification results of 18SrRNA gene from lice have revealed positive for *Theileria spp.* bp 1750.

The results of the sequences of partial 16S rRNA gene and phylogenetic tree analysis confirmed the presence of the blood parasite *Anaplasma* in sucking lice *Haematopinus tuberculatus* isolated from buffaloes with the accession number PQ012927 which has a significant distance to other *Anaplasma sp.* recorded 100% match in many countries, KX165361 in Brazil and MN401148, OQ909488, OQ909474, OQ909471, OQ909468, OQ909463, OQ909458, OQ909452, OQ909445 in Brazil.

While the results of the sequences of partial 18S rRNA gene and phylogenetic tree analysis also confirmed the presence of the blood parasite *Theileria* in sucking lice *Linognathus spp.* isolated from sheep with the accession number PQ012980 with high degree of molecular similarity to other *Theileria spp.* recorded 98.20% to 99.53% in USA, Cina, Indonesia and India with the accession numbers: U97048 and U97049 in the USA, OR067885 in India , DQ286801 in China, AB000274 in Indonesia, U97053 and U97050 in the USA, AB000273 in Indonesia, U97051 in the USA , DQ256380 in China.

جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

التشخيص القياسي الشكلي والجزيئي للقمل ودوره في نقل بعض الاوالي الدموية في المجترات في محافظة نينوى

مصطفى سالم شاكر احمد النعمة

أطروحة دكتوراه

□ الطب البيطري / الطفيليات البيطرية

□

□

□بإشراف

الأستاذ الدكتورة

نادية سلطان الحيالي

صفر/ 1446 هـ □ □آب/ 2024 م

الخلاصة

التقمل هي احدى أهم المشاكل الطفيلية البيطرية التي تسبب خسائر اقتصادية بشكل مباشر أو غير مباشر. تهدف الدراسة إلى تقييم بعض عوامل الخطورة مثل المواسم والجنس والعمر والسلالة ومنطقة الدراسة ونظام التغذية فضلا عن دور القمل كناقل لبعض الاوالي الدموية. تم اجراء الدراسة خلال الفترة من كانون الثاني 2022 حتى كانون الاول 2022. تم الفحص السريري 1170 و470 و545 و1060 من الأغنام والماعز والأبقار والجاموس على التوالي. وكانت النسبة الكلية للإصابة الكلية في المجترات هي الأعلى في الماعز بنسبة 57.02٪ وفي الجاموس بنسبة 54.06٪ تلتها الضأن بنسبة 50.43٪ وأقلها في الابقار بنسبة 40.37٪، وتجدر الإشارة ان الدراسة الحالية هي الأولى في العراق.

سجلت أعلى نسبة إصابة خلال الأشهر كانون الثاني وشباط وآذار في الضأن بنسبة 60٪ عند $p\leq 0.05$، تلتها الاشهر نيسان وايار وحزيران بنسبة 54.3٪ عند $p\leq 0.05$، بينما سجلت اقل نسبة إصابة خلال الأشهر تشرين الاول وتشرين الثاني وكانون الأول بنسب 44.4٪ و40٪ على التوالي في $p\leq 0.05$. فيما يخص عامل خطورة الخاص بالعمر فانه لم تجد الدراسة فروقات معنوية بين الفئات العمرية أقل من 3 سنوات وأكثر من 3 سنوات وكانت 49.62٪، 51.46٪ على التوالي. اما عامل الخطورة الخاص بالجنس كان أعلى نسبة إصابة في الإناث 68.97٪ وكان معنويا عند $p\leq 0.05$. أما بالنسبة لعامل الخطورة فيما يخص السلالة فلا توجد فروقات معنوية إحصائية بين السلالات المحلية والأجنبية. وكانت أعلى نسب اصابة وفقا لمناطق الدراسة: الشورى والقيارة والمحلبية (سيطة) 55٪ و53.84٪ و52.63٪ على التوالي؛ بينما سجلت أقل نسب في كوكجلي وبازوايا وسهل نينوى وكالتالي 46.66٪ و46.15٪ و40٪ على التوالي. أما عامل خطورة نظام التغذية، فقد أظهرت النتائج أن نظام التغذية الداخلي أعلى نسبة من نظام التغذية الخارجي وسجلت 55.71٪ و42.55٪ على التوالي.

في الماعز، تم تسجيل أعلى نسبة إصابة خلال الأشهر تموز وآب وايلول وكان 65٪، بينما تم تسجيل أقل نسبة إصابة خلال الأشهر نيسان وايار وحزيران وكانت 50٪ وعلى التوالي عند $p\leq 0.05$. سجلت الفئة العمرية أكثر من 3 سنوات معدل إصابة 71.76٪ مقارنة بـ 39.53٪ للفئة العمرية أقل من 3 سنوات بفارق معنوي عند $p\leq 0.05$. كان أعلى معدل إصابة 76.6٪ في الإناث مقارنة بـ 37.45٪ في مجموعة الذكور معنويا عند $p\leq 0.05$. سجلت اعلى نسبة اصابة في السلالات المحلية بقيمة 64٪ مقارنة بالسلالات الأجنبية. سجلت منطقة بازوايا أعلى نسبة إصابة

بنسبة 88.33٪ مقارنة بمركز المدينة وكوكجلي بنسبة 61.33٪ و47.3٪ على التوالي. كان نمط نظام التغذية الخارجي بنسبة 69.16٪ أعلى من نمط نظام التغذية الداخلي بنسبة 52.5٪.

تم تسجيل أعلى نسبة إصابة في الابقار في كانون الثاني وشباط وآذار بنسبة 56٪ وسجل اقل نسبة إصابة في تموز وآب وأيلول 22.22٪ عند ≥ 0.05. لم يتم تسجيل فروق كبيرة بين الفئات العمرية. وكان أعلى نسبة إصابة في الذكور 66.66٪. تم تسجيل أعلى نسبة إصابة في السلالة الجورجية بنسبة 45.28٪ مقارنة بالسلالات التركية والمحلية بنسبة 36.36 و35.2٪ وعلى التوالي مع وجود فروقات معنوية. وسجلت أعلى نسبة إصابة في إزهيليلا بـ 50٪ وبازوايا بـ 46.42٪ واقلها في أورطا خراب بـ 25٪.

في الجاموس العراقي المحلي، تم تسجيل أعلى نسبة إصابة في كانون الثاني وشباط وآذار بـ 79٪ في حين كانت اقل نسبة في تشرين الأول وتشرين الثاني وكانون الأول بـ 43.86٪، عند ≥ 0.05. وبلغت أعلى نسبة إصابة بـ 64.09٪ في الفئة العمرية أكثر من 3 سنوات مقارنة بـ 37.5٪ للفئة العمرية أقل من 3 سنوات بفارق معنوي عند 0.05 p≥ 0.05. كان أعلى نسبة إصابة 61.09٪ في مجموعة الإناث مقارنة بـ 43.09٪ في الذكور عند 0.05 ≥p. وسجلت أعلى نسبة إصابة في منطقة المسلخ (الجانب الأيمن) بنسبة 80٪. بينما كانت اقل نسبة في حمام العليل (قبر العبد) بنسبة 36٪.

أظهرت نتائج الدراسة الشكلية أن الأنواع التي تصيب الأغنام كانت من نوعين من القمل؛ القمل الماص *Linognathus spp.* والقمل العاض *Damalinia ovis*، بينما في الماعز كان هناك نوعان من القمل؛ القمل الماص *Linognathus spp.* والقمل العاض *Damalinia caprae*. تم تسجيل أنواع القمل العاض *Damalinia bovis* في الماشية بينما تم تسجيل أنواع القمل الماص *Haematopinus tuberculatus* في الجاموس. كان أعلى معدل إصابة في الأغنام مع *Damalinia ovis* ٪ 76.2 بينما في *Linognathus spp.* 16.9٪ والإصابة المختلطة كانت 6.7٪. كان معدل الإصابة بـ *Linognathus spp.* في الماعز 78.3 ٪ ومع *Damalinia caprae* كان 14.1 ٪ بينما كان معدل الإصابة المختلطة 7.4 ٪.

أظهرت نتائج الفحص العياني السريري لجلد المجترات وجود قمل وبيوض في جلد الماعز مع التهابات شديدة وتلف الشعر مع ظهور مناطق خالية من الشعر نتيجة تساقط الشعر منها بسبب الإصابة الشديدة.

مجهريا، في الأغنام، تم تشخيص النوع *Damalinia ovis* طبقا للصفات الشكلية التالية طولها 1.6-3 ملم، لونها بني محمر، رأس كبير بعرض الجسم ومستدير من الأمام، أجزاء الفم بطنية، لها قرون الاستشعار مؤلفة من ثلاث قطع ومخلب واحد. وشخص النوع *Linognathus spp.* والذي يبلغ طول البالغة منه 2.2 ملم وبعرض 0.75 ملم، ولون أسود مزرق برأس ضيق طويل وجسم نحيف، والزوجين الثاني والثالث من الأرجل أكبر من الزوج الأول.

كان نوع القمل الموجود في الماعز هو النوع؛ *Damalinia caprae* بطول 1.5 ملم وعرض 0.66، ولون بني محمر، رأس كبير بعرض الجسم ومستدير من الأمام، أجزاء الفم بطنية لها قرون الاستشعار مؤلفة من ثلاث قطع ومخلب واحد، والقمل الماص *Linognathus spp*.: بطول 2.14 ملم وعرض 0.7 ملم، ولون أسود مزرق، ورأس ضيق طويل وجسم نحيف له قرون الاستشعار مؤلفة من خمس قطع ومخلب واحد.

كانت أنواع القمل الموجودة في الابقار هي القمل العاض النوع *Damalinia bovis* بطول 1.5 ملم وعرض 0.68 ملم، ولون بني محمر، مع أشرطة عرضية داكنة على البطن، والرأس كبير وعريض مثل الجسم ومستدير من الأمام له مخلب واحد.

كانت أنواع القمل الموجودة في الجاموس هي القمل الماص النوع *Haematopinus* بطول 3.8 ملم وعرض 1.9 ملم، ولون بني أسود، مع بقع الابصار الواضحة. كانت الصفائح جنب الظهرية بارزة جدا ولها قرون استشعار تحتوي على خمسة أجزاء ورأس مدبب مع مخلب كبير واحد في كل منها.

بينت نتائج الدراسة الجزيئية بواسطة نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي لتضخيم جين18S rRNA هي قواعد زوجية 539 bp لمستوى أنواع القمل من الجاموس والابقار والأغنام والماعز. نتائج تضخيم الجين Cox I في الجاموس والأغنام والماعز الابقار. فيما يتعلق بالقمل كناقل للاوالي الدموية، أظهرت نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل أن تضخيم جين SrRNA16 من القمل اعطى نتائج ايجابية لطفيلي *Anaplasma spp.* 345 bp، بينما كشفت نتائج تضخيم جين 18SrRNA من القمل اعطاء نتائج ايجابية لطفيلي *Theileria* 1750 bp.

أظهرت نتائج تسلسل جين COX1 أن الأنواع الثلاثة من القمل هي *Haematopinus tuberculatus* و*Bovicola bovis* و*Linognathus africanus* والتي تم عزلها من مدينة الموصل، وكان قريبة الى الأنواع الأخرى المسجلة في بلدان مختلفة عند مطابقتها مع بنك الجينات

العالمي، والمسجلة تحت أرقام تسلسلية وPP593604 وPP593603 تطابق 100٪مع النوع *Haematopinus tuberculatus* مع الأنواع المسجلة في باكستان وإيران. و PP599070 للنوع *Bovicola bovis* تطابق بنسبة 100٪ مع أنواع المسجلة كندا. في حين أن أعداد انضمام PP598894 وPP598895 وPP598896 وPP598897 وPP598898 للنوع *Linognathus africanus*، فإنها تتطابق بنسبة 100٪ مع تلك المسجلة في دولة المجر و99.44٪ مع المكسيك والصين والمملكة المتحدة و99.17٪ مع المكسيك.

فيما يتعلق بالقمل كناقل للطفيليات الدموية فإن نتائج الدراسة الجزيئية له كناقل أوضحت ان الماص منه في الأغنام والجاموس خالي من طفيلي المثقبيات Trypanosoma في حين أظهرت نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل أن تضخيم جين 16SrRNA من القمل اعطى نتائج ايجابية لطفيلي *Anaplasma spp.* bp 345، بينما كشفت نتائج تضخيم جين 18SrRNA من القمل اعطاء نتائج ايجابية لطفيلي *Theileria* 1750 bp.

وقد أكدت نتائج تسلسل الجين الجزئي 16S rRNA وتحليل شجرة النشوء وجود طفيلي الدم *Anaplasma* في القمل الماص من النوع *Haematopinus tuberculatus* المعزول من الجاموس برقم تسلسلي PQ012927 والذي له مسافة معنوية عن الأنواع الأخرى من *Anaplasma sp.* حيث سجل تطابق بنسبة 100% في العديد من البلدان، KX165361 في البرازيل وMN401148 وOQ909488 وOQ909474 وOQ909471 وOQ909468 وOQ909463 وOQ909458 وOQ909452 وOQ909445 في البرازيل.

وقد أكدت نتائج تسلسل الجين الجزئي 18S rRNA وتحليل شجرة النشوء أيضًا وجود طفيلي الدم *Theileria* في القمل الماص من نوع *Linognathus spp.* والذي تم عزله من الأغنام برقم تسلسلي PQ012980 بدرجة عالية من التشابه الجزيئي مع أنواع أخرى من *Theileria spp.* وسجلت 98.20٪ إلى 99.53٪ في الولايات المتحدة الأمريكية والصين وإندونيسيا والهند بأرقام تسلسلية: U97048 و U97049 في الولايات المتحدة الأمريكية، OR067885 في الهند، DQ286801 في الصين، AB000274 في إندونيسيا، U97053 و U97050 في الولايات المتحدة الأمريكية، AB000273 في إندونيسيا، U97051 في الولايات المتحدة الأمريكية، DQ256380 في الصين.