



جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

الانتشار وبعض عوامل الخطورة لأنواع طفيلي التاييليريا في الضأن والقراذ الناقل في مدينة الموصل، العراق

محمد محمود حامد عبد الله آلحجي

رسالة ماجستير

الطب البيطري / الطب الباطني والوقائي البيطري

بإشراف

الأستاذ الدكتور

قيس طالب شكر السرحان

الخلاصة

تهدف الدراسة الحالية الى تحديد نسبة الانتشار لـنوعي طفيلي *Theileria lestoquardi* و *Theileria ovis* في الضأن والقراد الناقل لها باستخدام الفحص المجهرى للمسحات الدموية وتقانة البلمرة المتسلسل التقليدي في مدينة الموصل، العراق مع تحديد التوافق بين الاختبارين اعتمادا على قيمة Kappa value وحساب حساسية وخصوصية ودقة الفحص المجهرى بالمقارنة بتقانة البلمرة المتسلسل، ودراسة بعض العوامل المؤهبة المرافقة للمرض، وتحديد وتصنيف انواع القراد المتطفل على الضأن، وتسجيل العلامات السريرية الظاهرة على الحيوانات المصابة بالمرض، ودراسة التنوع الوراثي وتحليلات النشوء للأنواع طفيلي الثايليريا التي تم تشخيصها في هذه الدراسة.

شملت الدراسة 185 رأساً من الضأن (على وفق معادلة حجم العينة) ومن كلا الجنسين وبأعمار ومناشئ ونظم تربية مختلفة، ومن ضمنها 20 رأساً من الضأن السليمة سريريا وسالبة مختبريا عدت كحيوانات سيطرة تم تأمينها جميعا من مناطق مختلفة من مدينة الموصل، للفترة الممتدة من شهر تشرين الاول 2021 الى شهر أيار 2022. استخدمت استمارة خاصة أعدت سابقاً لتسجيل العلامات والفحوصات السريرية المطلوبة، واستحصلت المعلومات الوبائية من مالكي الحيوانات في اثناء مدة جمع العينات. تم جمع 2.5 مليون من 185 رأساً من الضأن من الوريد الوداجي ووضعها في انابيب حاوية على مانع تخرثر لغرض عمل المسحات الدموية الرقيقة والسميكة في حال تعذر عملها من الوريد الاذني للضأن، وتم حفظ الباقي من الدم في المجمدة وبدرجة - 20 م° لحين اجراء تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي والمتعدد. واستعملت التسلسلات الجينية المحلية للجين 18S rRNA لطفيلي *T. ovis* و *T. lestoquardi* المشخصة في هذه الدراسة لتحليل التنوع الجيني وتحليلات النشوء ولغرض انشاء شجرة النشوء والتطور. كما تم عمل مسحات لمفية من الخزع المأخوذة من العقد اللمفية امام لوح الكتف لغرض الكشف عن أجسام كوخ الزرقاء Koch's Blue bodies داخل الخلايا اللمفية. وتم ايضا جمع 65 من القراد المتطفل على الضأن لغرض تصنيفها والكشف عن انواع طفيلي الثايليريا داخلها باستخدام تقانة البلمرة المتسلسل التقليدي والمتعدد.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن نسبة الانتشار الكلية للإصابة بطفيلي الثايليريا في الضأن في مدينة الموصل بلغت 21.6% و 52.4% باستخدام الفحص المجهرى للمسحات الدموية و تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي على التوالي. كما لوحظ وجود توافق طفيف بين الاختبارين في تشخيص الإصابة بطفيلي الثايليريا في الضأن بالاعتماد على قيمة كابا Kappa value والتي بلغت (0.190) مع انخفاض في حساسية ونوعية ودقة طريقة الفحص المجهرى والتي كانت 30% و 88.6% و 52.4% على التوالي مقارنة بتقانة تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي. وظهر الفحص المجهرى للمسحات الدموية و للمفية وجود

الطفيلي داخل كريات الدم الحمر والخلايا اللمفية وبأشكال مختلفة مع نسبة تطفل تراوحت 2%- 18% و 1% - 15% على التوالي. فضلا عن ان نسبة انتشار الإصابة المختلطة بكلا النوعين بلغت 22.7% والإصابة المفردة بطفيلي *T. lestoquardi* بلغت 20%، وكانت أعلى معنويا ($P < 0.05$) من الإصابة المفردة بطفيلي *T. ovis* التي بلغت 9.7% باستخدام تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل المتعدد، كما أظهرت النتائج وبالاغتماد على تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي وجود عوامل مؤهبة مرتبطة بحدوث زيادة في نسبة انتشار طفيلي الثايليريا في الضأن، وعانت الضأن المصابة بطفيلي الثايليريا نوع *T. lestoquardi* والإصابة المختلطة من الشكل الحاد من المرض، في حين لم يظهر الضأن المصاب بطفيلي *T. ovis* أية علامات سريرية.

تم في هذه الدراسة تحديد وتصنيف ثلاثة أنواع من القراد الصلب المتطفل على الضأن تضمنت *Hyalomma anatolicum anatolicum* و *Rhipicephalus sanguineus* و *Rh. turanicus* وبنسب تطفل بلغت 56.9% و 24.6% و 18.4% على التوالي، وكان النوع *H. anatolicum* هو النوع الشائع، واعتمادا على تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل المتعدد تم تشخيص طفيلي الثايليريا نوع *T. lestoquardi* و *T. ovis* في اناث القراد المحتقنة من نوع *H. anatolicum* *Rh. sanguineus* و *anatolicum*، فضلا عن تشخيص *T. lestoquardi* فقط في *Rh. turanicus*.

أظهرت نتائج تحليل التسلسلات الجينية المحلية لطفيلي الثايليريا نوع *T. ovis* (3 تسلسلات) والمسجلة في بنك الجينات بأرقام تسلسلية (OP001587 و OP001588 و OP001589)، وجود نسبة تشابه 100% مع التسلسلات الجينية المسجلة في باكستان والهند. كما أظهرت نتائج تحليل التسلسلات الجينية المحلية لطفيلي الثايليريا نوع *T. lestoquardi* (3 تسلسلات) والمسجلة في بنك الجينات بأرقام تسلسلية (OP001630 و OP001631 و OP001632)، وجود نسبة تشابه 100% مع التسلسلات الجينية المسجلة في إقليم كردستان-العراق ومحافظة السليمانية ومصر والسودان وإيطاليا. وبينت شجرة النشوء الجيني بعد إجراء إعادة تشكيل التسلسلات النيوكليوتيدية 100 مرة باستعمال تحليل Bootstrap وجود علاقة تطورية عالية بين التسلسلات الجينية المحلية لطفيلي *T. lestoquardi* و *T. ovis* مع التسلسلات العالمية لنفس الطفيليات نفسها المشار إليها في اعلاه. استنتجنا من الدراسة أن كل من طفيلي *T. lestoquardi* و *T. ovis* واسعا الانتشار في الضأن والقراد الناقل لها في مدينة الموصل، العراق.

University of Mosul
College of veterinary medicine



Prevalence and Some Risk Factors of Theileria Species in Ovine and Ticks Vector in Mosul City, Iraq

Mohammed Mahmoud Hamid Abdulla Al-Haji

M.Sc. Thesis

Veterinary Medicine / Internal and Preventive Veterinary Medicine

Supervised by

Professor

Dr. Qaes Talb Shukur Alsarhan

1444 A.H.

2022A.D.

Abstract

The current study aims to determine the prevalence of *Theileria lestoquardi* and *Theileria ovis* parasites in infected sheep and its transmitted ticks using microscopic examination of blood smears (ME) and conventional polymerase chain reaction (c-PCR) technique in Mosul city, Iraq, to determine the agreement between the two tests based on Kappa value and calculating sensitivity, specificity and accuracy of ME in comparison with the c-PCR technique, to investigate some of the predisposing factors associated with the prevalence of the disease, to identify and classify the types of ticks infested sheep, to record the clinical signs appearing on animals infected, and to study the genetic diversity and phylogenetic analysis of the *Theileria* spp. which were detected in this study.

The study included 185 sheep of both sexes, with different ages, origins and management, including 20 sheep which were clinically healthy and laboratory negative used as control animals, were obtained randomly from sheep in different regions in Mosul city. During the period from October 2021 to May 2022. A special clinical examination card was used to record the clinical signs, and epidemiological information was obtained through an interview with the owners during sample collection. A 2.5ml of 185 sheep were collected from the jugular vein and placed in tubes containing anticoagulant used for preparing thick and thin blood smears, if it could not be prepared via the ear vein puncture, and the rest of the blood was kept at -20°C until the used in c-PCR and multiplex-PCR(m-PCR) techniques. The local sequences of the 18S rRNA gene of *T. lestoquardi* and *T. ovis* which were identified in this study, and used for genetic diversity, phylogenetic analyses and phylogenetic tree. In addition, lymph smears were prepared from prescapular lymph nodes biopsy to detect Koch's Blue bodies inside the lymphocytes. Sixty-five ticks infested sheep

were collected for classification and detection of *Theileria* spp. inside them using c-PCR and m-PCR techniques.

The results of this study showed that the overall prevalence of *Theileria* spp. In sheep in Mosul city was 21.6% and 52.4% using ME and c-PCR technique respectively. A slight agreement was observed between ME of blood smears and c-PCR technique according to Kappa value (0.190), with low sensitivity, specificity and accuracy of ME method were 30%, 88.6%, 52.4% respectively compared with c-PCR technique. In this study, ME of blood and lymphatic smears observed that the presence of the *Theileria* spp. inside red blood cells and lymphocytes in different forms with parasitemia ranging from 2%-18% and 1%-15%, respectively. As well as, the prevalence of mixed infection with both types was 22.7% and single infection with *T. lestoquardi* was 20%, which was significantly ($P < 0.05$) higher than single infection with parasite 9.7% using the m-PCR technique. The results, based on the c-PCR technique, administrated that the presence of predisposing factors associated with the high prevalence of *Theileria* spp. in infected sheep, and infected sheep with *T. lestoquardi* and mixed infection suffered from the acute form of the disease. While, sheep infected with *T. ovis* were absent clinical signs.

In this study, three species of hard ticks infested sheep were identified and classified includes *Hyalomma anatolicum anatolicum*, *Rhipicephalus sanguineus*, and *Rh. Turanicus* 56.9%, 24.6% and 18.4% respectively, With most common *H. anatolicum anatolicum* species. Moreover, based on the m-PCR technique, *T. lestoquardi* and *T. ovis* were detected within engorged female ticks of *H. anatolicum anatolicum* and *Rh. sanguineus* species, as well as, *T. lestoquardi* only was detected within *Rh. Turanicus*.

The results of the local sequences analysis of the *T. ovis* (3 Sequences) which were recorded in the gene bank with accession numbers (OP001587, OP001588 and OP001589) showed a 100% identity with the sequences recorded in

Pakistan and India. As well as, local sequences of the *T. lestoquardi* (3 sequences) which were recorded in the gene bank with accession numbers (OP001630, OP001631 and OP001632), showed a 100% identity with the sequences recorded in the Kurdistan regions-Iraq, Sulaymaniyah governorate, Egypt, Sudan and Italy. The phylogenetic tree after performing 100 nucleotide sequence reconstructing using Bootstrap analysis showed a high developmental relationship between the local sequences of *T. lestoquardi* and *T. ovis* with other global sequences same parasites indicated above.

We concluded that both *T. lestoquardi* and *T. ovis* are widespread among sheep and it's transmitted ticks in Mosul city, Iraq.