University of Mosul

College of Veterinary Medicine

Clinical and Diagnostic Study of *Ovine Heamotropic Mycoplasma* in Mosul City, Iraq

Sufyan Safar Khudhur Al-Shamo

MSc. / Thesis

Veterinary Medicine / Internal and Preventive Medicine

Supervised by

Assistant Professor

Dr. Salam Abd Esmaeel

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

ABSTRACT

Hemoplasmosis (*hemotropic mycoplasma*) is a global affliction involving sheep. It is caused by *hemotropic mycoplasma*, a prevalent zoonotic illness that can lead to moderate to severe erythrocyte destruction, anemia, jaundice, and insufficient mass growth in mammals. This study aims to document the clinical findings associated with *ovine hemotropic mycoplasma* infection, to record some changes in hematological parameters, and to identify the prevalence of *ovine hemotropic mycoplasma* in sheep using blood smears stained with modified Giemsa (RAL 555 rapid stain kit) and conventional polymerase chain reaction (PCR) in Mosul city. Additionally, to make a comparison between the blood smear and the PCR technique by kappa, sensitivity, and specificity. Also, it seeks to investigate various epidemiological risk factors related to the disease's prevalence, such as age, gender, origin, husbandry system, seasons, and regions, and identify and classify ticks, which are considered vectors for hemoplasma. Moreover, an examination of the genetic diversity and phylogenetic analysis of *ovine hemotropic Mycoplasma* was conducted. Between July 2024 and January 2025, 300 blood samples were analyzed from sheep of various sexes, ages, and origins subjected to diverse management techniques; also, 100 engorged ticks were obtained from depressed animals. The animals were sourced from several regions in Nineveh, Iraq, including the central, northern, southern, eastern, and western areas of the city. Five milliliters of blood samples were obtained from the jugular vein of sheep for disease diagnosis and hematological analysis, while thirty blood samples from apparently healthy animals, confirmed negative for the disease, were preserved as a control group. A clinical examination card was utilized to document the clinical findings for all sheep during the examination process. Furthermore, epidemiological data were obtained via interviews with the

farm owners. The 16S rRNA gene of *ovine heamotropic Mycoplasma*, isolated from blood and tick samples, was utilized to assess genetic diversity and construct a phylogenetic tree utilizing the Neighbor-Joining (NJ) method via online NCBI BLAST and Clustal Omega.

The current study demonstrated that sheep afflicted with the disease exhibited anorexia, generalized weakness, emaciation, hypertrophied superficial lymph nodes, pale or icteric mucous membranes, diminished milk yield, coarse wool, and anemia, in addition to a statistically significant elevation ($P<0.05$) in body temperature, heart rate, and respiratory rate within the infected animals in comparison to the control group. Data regarding the hematological parameters of sheep infected with *ovine hemotropic Mycoplasma* revealed a significant reduction ($P<0.05$) in total erythrocyte count, hemoglobin concentration, and packed cell volume (PCV) in infected animals compared to control, together with a significant increase ($P<0.05$) in mean corpuscular volume (MCV) and a significant decrease ($P<0.05$) in mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) relative to control animals, indicating a macrocytic hypochromic anemia type. Furthermore, ticks were detected in several regions of afflicted animals, with a prevalence of 66.6%. The study demonstrates that ticks are the primary vectors of the disease through the detection of *hemotropic mycoplasma* using the polymerase chain reaction. *Rhipicephalus sanguineus* and *Rhipicephalus turanicus* were the two tick species found. The findings indicated that the prevalence of *ovine heamotropic Mycoplasma*, as determined through blood smears stained via modified Giemsa (RAL 555 fast stain kit) and the C-PCR technique (Universal Primer), was 79.6% and 80.3%, respectively. The illness prevalence in tick samples was 86%, as determined by the PCR method. The results showed that 52.6% of the samples had

Mycoplasma ovis, and 23.2% had *Candidatus Mycoplasma haemovis*. This was found using the C-PCR method and species-specific primers.

According to the PCR technique, the risk factors related to animal increased prevalence of *ovine hemotropic Mycoplasma* in sheep aged 1–30 days were 100% (odds ratio: 1.5) for newborns and 93.5% (odds ratio: 7.8) for adults over three years. There was no significant difference based on gender and origin. At the same time, indoor animals exhibited a prevalence of 84% (odds ratio: 1.7). The prevalence of disease differed by region, with the highest rate in the eastern areas of the city at 91.2% (odds ratio: 3), while the lowest rate was in the northern regions at 77.2% (odds ratio: 1). Further, the highest prevalence was observed in autumn at 90.5% (odds ratio: 5), compared to winter and summer rates of 86% and 65.4% (odds ratio: 3.2, 1), respectively.

The study deposits four sequences of 16S rRNA genes from *ovine heamotropic Mycoplasma* (*Mycoplasma ovis*) in GenBank under accession numbers (PV273224, PV273225) and (PV273226, PV273227) for *Candidatus Mycoplasma haematovis*. The local isolate of *ovine hemotropic Mycoplasma* was found to be 99-100% comparable to the isolates found worldwide.

The study concludes that the two species of sheep mycoplasma, *M. ovis* and *Candidatus Mycoplasma haemovis*, are prevalent among sheep in Mosul, Iraq. The most effective techniques for diagnosing sheep mycoplasma (haemoplasmosis) are C-PCR and blood smear microscopy. Several risk factors contribute to the increased prevalence of this condition. Ticks are an important vector for disease transmission. As shown by the study's clinical observations and blood tests, sheep mycoplasma (haemo-

plasmosis) usually shows several signs, especially anemia. Infected animals represent a potential reservoir for sheep mycoplasma transmission. Infected sheep facilitate the spread of sheep mycoplasma haemoplasmosis. Studying the local genetic sequences found in Mosul is crucial for effectively managing sheep mycoplasma (haemoplasmosis) in the research areas.

جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

دراسة سريرية وتشخيصية للمايكوبلازما الضأنية المحبة للدم في مدينة الموصل العراق

سفيان سفر خضر ال شمو

رسالة ماجستير
الطب البيطري / الطب الباطني والوقائي

بإشراف
الأستاذ المساعد الدكتور
سلام عبد اسماعيل

1447 هـ
2025 م

الخلاصة

داء الهيموبلازما (المايكوبلازما الدمية) مرضٌ عالمي يصيب الأغنام. يُسببه الميكوبلازما الدمية، وهو مرضٌ حيوانيٌّ شائعٌ قد يُسبب تلفًا متوسطًا إلى شديدًا في كريات الدم الحمراء، وفقر دم، ويرقانًا، ونقصًا في نموّ الجسم لدى الثدييات. هدفت هذه الدراسة إلى توثيق النتائج السريرية المرتبطة بعدوى الميكوبلازما الدموية في الأغنام، مع تسجيل التغيرات في المعايير الدموية، وتحديد مدى انتشارها في الأغنام باستخدام لطاخات دم مُصبوغة بصبغة جيمسا المُعدّلة (طقم صبغة سريع RAL 555) وتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي (PCR) في مدينة الموصل. بالإضافة إلى ذلك، مقارنة بين مسحة الدم وتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل حسب الكابا والحساسية والخصوصية وايضا سعت الدراسة إلى دراسة عوامل الخطر الوبائية المُختلفة المُرتبطة بانتشار المرض، مثل العمر، والجنس، والأصل، ونظام التربية، والمواسم، والمناطق، وتحديد وتصنيف القراد، الذي يُعتبر نواقلًا لمرض الهيموبلازما. كما أُجريت دراسةٌ للتنوع الجيني والتحليل التطوري للميكوبلازما الدموية في الأغنام. بين تموز 2024 وكانون الثاني 2025، تم تحليل 300 عينة دم من أغنام من أجناس وأعمار وأصول مختلفة، خضعت لتقنيات إدارة متنوعة؛ كما تم الحصول على 100 قرادة محتقنة من حيوانات مصابة. تم الحصول على الحيوانات من عدة مناطق في نينوى، العراق، بما في ذلك المناطق الوسطى والشمالية والجنوبية والشرقية والغربية من المدينة. تم جمع خمس ملليلترات من عينات الدم من الوريد الوداجي للاغنام لتشخيص المرض وتحليل الدم، بينما تم الاحتفاظ بثلاثين عينة دم من حيوانات سليمة ظاهريًا، تم تأكيد سلبيتها للمرض، كمجموعة سيطرة. تم استخدام بطاقة فحص سريري لتوثيق النتائج السريرية لجميع الأغنام أثناء عملية الفحص. بالإضافة إلى ذلك، تم الحصول على البيانات الوبائية من خلال المقابلات مع أصحاب المزارع. تم استخدام جين 16S rRNA من الميكوبلازما الدمية في الأغنام، المعزول من عينات الدم والقراد، لتقييم التنوع الجيني وإنشاء شجرة تطورية باستخدام طريقة Neighbor-Joining (NJ) عبر الإنترنت NCBI BLAST و Clustal Omega. أظهر التحقيق الحالي أن الأغنام المصابة بالمرض أظهرت فقدان الشهية والضعف العام والهزال وتضخم الغدد الليمفاوية السطحية والأغشية المخاطية الشاحبة أو الاصفرار وانخفاض إنتاج الحليب والصوف الخشن وفقر الدم بالإضافة إلى ارتفاع كبير إحصائيًا ($P < 0.05$) في درجة حرارة الجسم ومعدل ضربات القلب ومعدل التنفس بين الحيوانات المصابة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. كشفت البيانات المتعلقة بالمعايير الدمية للأغنام المصابة بالميكوبلازما الدمية في الأغنام عن انخفاض كبير ($P < 0.05$) في إجمالي عدد كريات الدم الحمراء وتركيز الهيموجلوبين وحجم

الخلايا المرصوصة (PCV) في الحيوانات المصابة مقارنة بحيوانات السيطرة، إلى جانب زيادة كبيرة ($P < 0.05$) في متوسط حجم الكريات (MCV) وانخفاض كبير ($P < 0.05$) في متوسط تركيز الهيموجلوبين في الكريات (MCHC) بالنسبة إلى الحيوانات السيطرة، مما يشير إلى نوع فقر الدم كبير الخلايا قليل الصباغ. علاوة على ذلك، تم اكتشاف القراد في عدة مناطق من الحيوانات المصابة، بمعدل انتشار بلغ 66.6%. أظهرت الدراسة أن القراد هو الناقل الرئيسي للمرض من خلال الكشف عن الميكوبلازما الدمية باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل. تم تحديد نوعين من القراد *Rhipicephalus turanicus* و*Rhipicephalus sanguineus*. أشارت النتائج إلى أن معدل انتشار الميكوبلازما الدمية في الأغنام، كما تم تحديده من خلال مسحات الدم المصبوغة بصبغة كيمزا المعدلة (طقم صبغة RAL 555 السريع) وتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي (البادئ العام)، بلغ 79.6% و80.3% على التوالي. بلغ معدل انتشار المرض في عينات القراد 86% وأظهرت النتائج أن 52.6% من العينات كانت مصابة بالميكوبلازما الغنمية و23.2% مصابة بالمبيضات الدمية وذلك باستخدام طريقة تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي وبادئات خاصة بالأنواع. وفقًا لتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل، بلغت عوامل الخطر المرتبطة بالحيوان زيادة انتشار ميكوبلازما الدم الغنمية في الأغنام التي تتراوح أعمارها بين يوم واحد و30 يومًا 100% (بمعدل احتمالات 1.5) للمواليد الجدد و93.5% (بمعدل احتمالات 7.8) للحيوانات البالغة فوق سن 3 سنوات. ولم يُلاحظ اي فرق يُذكر بين الاجناس أو اصل الحيوانات محلية ام مستوردة، بينما بلغ معدل انتشار الحيوانات المنزلية 84% (بمعدل احتمالات 1.7). واختلف معدل انتشار المرض باختلاف المناطق، حيث سُجِّل أعلى معدل في المناطق الشرقية من المدينة بنسبة 91.2% (بمعدل احتمالات 3)، بينما سُجِّل أدنى معدل في المناطق الشمالية بنسبة 77.2% (بمعدل احتمالات 1). كما سُجِّل أعلى معدل انتشار في فصل الخريف بنسبة 90.5% (بمعدل احتمالات 5)، مقارنةً بمعدلي الشتاء والصيف اللذين بلغا 86% و65.4% (بمعدل احتمالات 3.2 ، 1) على التوالي. أودعت الدراسة أربع تسلسلات من جينات rRNA 16S من الميكوبلازما الدمية الغنمية (*Mycoplasma ovis*)في بنك الجينات بأرقام الوصولPV273224 ، PV273225و *Candidatus Mycoplasma haematovis* PV273226 ، PV273227 ولوحظ تشابه بنسبة 99-100% بين العزلة المحلية للميكوبلازما الدموية الغنمية والعزلات الموجودة في العالم.

نستنتج من هذه الدراسة، ان نوعا الميكوبلازما الدموية الضأنية *M. ovis* و *Candidatus Mycoplasma haemovis* ينتشر بين الأغنام في مدينة الموصل بالعراق. وتُعد تقنية تفاعل البلمرة التقليدي ومسحات الدم المجهرية أكثر فعالية في تشخيص الميكوبلازما الدموية الضأنية.

وتساهم العديد من عوامل الخطر في زيادة انتشار هذه الحالة. ويُعد القراد من النواقل المهمة لانتقال المرض. وكما هو موضح من خلال الملاحظات السريرية والتحاليل الدموية في الدراسة، فإن الأغنام المصابة بالميكوبلازما الدموية الضأنية عادةً ما تظهر عليها عدد من الأعراض، وخاصة فقر الدم. وتمثل الحيوانات المصابة مستودعًا محتملاً لانتقال الميكوبلازما الضأنية. تسهل الأغنام المصابة انتشار الميكوبلازما الدموية الضأنية. ويثبت التحليل التطوري للتسلسلات المحلية المسجلة في الدراسة في مدينة الموصل أنه ضروري للإدارة الاستراتيجية للميكوبلازما الدموية الضأنية في مناطق البحث.