Cairo University
Faculty of Veterinary Medicine
Department of Parasitology

Name : Souzan Girgis Ghattas.
Date of birth: 3/9/1961.
Degree : Doctor of Philosophy In Veterinary Medical Science.
Specilization : Parasitology.
Supervisors :

Prof. Dr. Mosaad A. Hilali.
Professor of Parasitology, Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University
Prof. Dr. Ahmed M. Nassar.
Professor of Parasitology, Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University
Dr. Gamal H. Salem.
Chief Researcher, Department of Biotechnolgy, Animal Health Research Institute, Doki, Giza.

Title of thesis : Studies on *Giardia* species infecting water buffalo calves (*Bubalus bubalis*) in Egypt.

Abstract

The overall prevcalence of *Giardia* in water buffalo calves was 11.5 % and 12.8 % by direct wet and floatation concentration technique respectively. The morphology of *Giardia* trophozoites and cysts was examined by Mallory's haematoxyline stain, and the ultrastructure by TEM. *Giardia* trophotoites were successefully cultivated in axenic culture (TYI-S-33). SDS-PAGE of *Giardia* cyst showed 5 polypeptide bands ranging from 112.19 to 21.27 KDa, while 12 bands were reported in *Giardia* trophozoites antigen ranging from 243.62 to 7.27 KDa. DNA was extracted from *Giardia species* cysts. PCR method was employed to amplify and sequence a 293 fragment of the small subunit ribosomal RNA (16S- rRNA) gene. Our isolate showed little degree of divergence in sequences from other previous studies with similarity 96.6%. PCR and DNA sequencing showed the species under investigation is *Giardia duodenalis* .

جامعة القاهرة
كلية الطب البيطري
قسم الطفيليات

الاسم :سوزان جرجس غطاس.
تاريخ وجهة الميلاد : ١٩٦١/٩/٣ القاهرة.
الدرجة العلمية : دكتوراه الفلسفة في العلوم الطبية البيطرية
التخصص : طفيليات.
السادة المشرفين:
١- أ. د **مســـعد عبد الحميد هلالى**، أستاذ الطفيليات ، كلية الطب البيطرى، جامعة القاهرة
٢- أ.د **أحمد صديق حسانين نصار** ، أستاذ الطفيليات، كلية الطب البيطرى، جامعة القاهرة
٣- د. **جمال حلمى سالم**، رئيس بحوث بقسم البيوتكنولوجى، معهد بحوث صحة الحيوان ، الدقى.
عنوان الرسالة : دراسات عن أنواع الجياردیا التى تصيب عجول الجاموس بمصر.

المستخلص

وجد أن نسبة حدوث الجياردیا فى عجول الجاموس ١١,٥ % و ١٢,٨ % بطريقة الفحص المباشر والتركيز والتعويم على التوالى. تم الفحص المورفولوجى للطور النشيط والطور المتكيس بالميكروسكوب المجهرى والألكترونى. تم زراعة الطور النشيط للجياردیا بنجاح فى الوسط المناسب له (TYI-S-33). أظهر التحليل الكهربائى لأنتيجين الطور المتكيس للجياردیا وجود ٥ أنواع من البروتين تتراوح بين ١١٢,١٩ الى ٢١,٢٧ كيلودالتون بينما كانت فى أنتيجين الطور النشيط ١٢ نوع من البروتين تتراوح بين ٢٤٣,٦٢ الى ٢٧,٧ كيلودالتون. تم عزل الحامض النووى الديوكسى ريبوزى من الطور المتكيس. كما تم استخدام طريقة التتابع الجينى على حجم الجين المستخدم (16S-rRNA) فى البوادى عند ٢٩٣ قاعدة نيتروجينية. كما أوضحت النتائج وجود نسبة تشابة بين العترة المستخدمة والعترات الأخرى بنسبة ٩٦,٦ %. وجد أن العترة المستخدمة تنتمى الى الجياردیا ديوديناليز. مما يشير الى أهميتها فى الأمراض المشتركة.

LIST OF CONTENTS

	Page
1. Introduction	**1**
2. Review of literature	**4**
2.1. Nomenclature	4
2.2. Taxonomy	5
2.3. Prevalence of *Giardia duodenalis*	7
2.4. Life cycle and transmission	16
2.5. Diagnosis of G. duodenalis infection in water buffalo calves:	19
2.6. Morphology of *G. duodenalis*	28
2.7. Axenic cultivation of *G. duodenalis* trophozoites	38
2.8. Electrophoresis of *G. duodenalis* trophozoites and cysts by sodium Dodecyl Sulphate Polacrylamide Gel Electrophoresis (SDS–PAGE)	43
2.9. Detection of *G. duodenalis* DNA using Polymerase Chain Reaction (PCR) and DNA sequencing	46
3. Materials and Methods	**58**
3.1. Collection of Samples	58
3.2. Diagnosis of *Giardia* infection	61
3.3. Morphology of the investigated *Giardia* species	63
3.4. Preparation of *Giardia* inoculum	65
3.5. Cultivation of *Giardia* trophozoites	68
3.6. Serological diagnosis of *Giardia* infection by Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	71
3.7. Determination of molecular weight of *Giardia* trophozoites and cysts by sodium dodecyl sulphate polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)	73
3.8. Identification and genetic characterization of the investigated *Giardia spp.* isolate from newly born buffalo calves using PCR and gene sequencing	78

	Page
4. Results	**93**
4.1. Incidence of *Giardia* infection among naturally infected buffalo calves	93
4.2. Comparison between the incidence of *Giardia* infection in faecal and intestinal samples by using the two parasitological methods	104
4.3. Serological diagnosis of *Giardia* infection by using Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	105
4.4. Comparison between the incidence of *Giardia* species infection among 92 buffalo calves by using the two parasitological tests and serological method	106
4.5. Morphology of the investigated *Giardia* species by light and transmission electron microscopy (TEM)	108
4.6. Results of experimental infection of mice with *G. duodenalis* cysts isolated from water buffalo calves	119
4.7. Axenic status of *G. duodenalis* trophozoites	119
4.8. Determination of molecular weights of *Giardia* trophozoites and cysts using Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)	120
4.9. Identification of *G. duodenalis* isolates from newlyborn calves using PCR technique and gene sequencing	126
5. Discussion	**132**
6. Summary	**147**
7. References	**151**
8. Arabic summary	