

بررسی میزان شیوع کریپتوسپورییدیوزیس در تک سمی های روستاهای مرزی شهرستان ارومیه

سهراب رسولی^۱، امین خدادادی^{۲*}، محمد صدقیانی^۳، علیرضا مرادپور^۲، رضا
سلمانزاده^۲

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه انگل شناسی، ارومیه، ایران

۲- دانش آموخته دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، دانشکده دامپزشکی ارومیه، ایران

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شبستر، دانشکده دامپزشکی، گروه انگل شناسی، شبستر، ایران

* نویسنده مسئول: aminkhodadadi@gmail.com



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

دوره سوم، شماره اول، بهار ۱۳۹۱

صفحات ۴۹-۴۱

چکیده

در این مطالعه تعداد ۱۴۲ نمونه مدفوع از ۷۰ راس اسب و ۷۲ راس قاطر از روستاهای مرزی اطراف شهرستان ارومیه جمع آوری گردید و از نظر شیوع تک یاخته کریپتوسپورییدیوم مورد بررسی قرار گرفت. شیوع بیماری کریپتوسپورییدیوزیس در اسبهای این روستاها ۱۰/۵۶٪ و در قاطر های این روستاها ۱۲/۵٪ تعیین گردید. بیشترین میزان آلودگی در قاطر ها بود ولی از نظر آماری ارتباط معنی داری بین عفونت در اسب با قاطر وجود نداشت ($p>0.05$). از آنجایی که اووسیت های کریپتوسپورییدیوم یک تهدید جدی برای سلامت آب آشامیدنی بوده و با توجه به اینکه هنوز هیچ درمان دارویی قطعی برای بیماری ناشی از این انگل یافت نشده است، تعیین پراکندگی جغرافیایی، تشخیص به موقع و پیشگیری این بیماری از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد.

واژه های کلیدی: کریپتوسپورییدیوم، تک یاخته، کریپتوسپورییدیوزیس، انگل، ارومیه



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 3(1)41-49, 2012

Equine cryptosporidium prevalence in border line villages of Urmia province

Rasuli, S.¹, Khodadadi, A.^{2*}, Sadagiyani, M.³, Moradpoor, A.², Salman zadeh, R.²

1- Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch,

Islamic Azad University, Urmia, Iran

2- Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch,

Islamic Azad University, Urmia, Iran

3- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shabestar Branch,

Islamic Azad University, Shabestar, Iran

* *Corresponding author:* aminkhodadadi@ymail.com

Abstract

In this study, 142 stool samples from 70 horses and 72 mules were collected from border villages around Urmia province and were evaluated for cryptosporidium oocysts. The prevalence of cryptosporidiosis in the horses was 10.56% and among mules was 12.50%. The highest rate of infection was among mules but there was no statistically significant correlation between horse and mule infection ($p > 0.05$). In our knowledge, this is the first report of cryptosporidium detection in horse fecal samples in Azerbaijan province. Because of difficulties on cryptosporidiosis treatment and as the cryptosporidium oocysts are a serious threat for drinking water purifying, diagnosis of the infection in hosts and applying a preventive policy must consider.

Key words: Cryptosporidium, protozoa, cryptosporidiosis, parasites, Urmia

کریپتوسپوریدیوزیس به عنوان یک بیماری انگلی نوپدید و مشترک بین انسان و حیوانات هست که توسط تک یاخته‌ای کوچک از جنس کریپتوسپوریدیوم ایجاد می‌شود. این تک یاخته گونه‌های متنوعی دارد و طیف وسیعی از میزبانان شامل پستانداران از جمله انسان، پرندگان، خزندگان و ماهی‌ها را آلوده می‌نماید. با ظهور پاندمی ایدز در دهه ۱۹۸۰، این تک یاخته به عنوان یکی از عوامل مهم مرگ و میر در بیماران دچار نقص ایمنی و یکی از عوامل اسهال کودکان اهمیت جهانی یافت (۸). انتقال عفونت به صورت مدفوعی - دهانی، تماس مستقیم یا غیر مستقیم - از طریق مواد غذایی و یا نوشیدنی است. انتقال از انسان به انسان، از حیوان به انسان و از انسان به حیوان گزارش شده است (۳۸) بنابراین در میان اعضای یک خانواده، مهد کودک‌ها، بیمارستان‌ها و آسایشگاه‌های سالمندان و دانشجویان و سربازان احتمال انتقال بیماری وجود دارد. هر چند کریپتوسپوریدیوم و بیماری زائی آن برای اولین بار در کشور آمریکا مورد توجه قرار گرفت ولی امروزه حضور این تک یاخته در تمامی کشورهای جهان (۶ قاره و ۱۰۶ کشور) هم در افراد سالم و هم در حیوانات سالم و هم در انسان و حیوانات مبتلا به نقص سیستم ایمنی به اثبات رسیده است (۲۶).

مشترک بودن کریپتوسپوریدیوم بین انسان و دام باعث شده است که در دنیای پزشکی و دامپزشکی جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص دهد. با توجه به این نکته که در مواردی بیش از ۹۰٪ گاوها و بیش از ۵۰٪ گوساله‌های یک گاوداری آلوده گزارش شده‌اند (۱۰) و نیز در یک بررسی بیش از ۴۰۳ هزار نفر در شهر میلوکی ایالات ویسکانسین آمریکا اختلالات ناشی از این عامل را بروز داده‌اند. بروز اشکال مختلف عفونت کریپتوسپوریدیوزیس در کودکان نشان می‌دهد که ایمنی ناشی از این انگل پایدار نیست (۹).

در کشورهای صنعتی اپیدمی کریپتوسپوریدیوزیس می‌تواند

از طریق آلودگی غذا و یا آب اتفاق بیفتد (۹).

کریپتوسپوریدیوزیس به صورت یک بیماری خود محدود شونده است که با یک دوره ۹ الی ۱۵ روزه که اغلب بطور خود به خود در افراد با ایمنی طبیعی بهبود می‌یابد و با علائم کلینیکی مثل اسهال آبکی، کرامپ‌های شکمی، تهوع، کاهش وزن، خستگی و تب با درجات پایین همراه می‌باشد (۲۸).

در افراد دچار نقص سیستم ایمنی، افراد مبتلا به ایدز، بیماران پیوندی و بیماران سرطانی، دفع اووسیست شدید است، اسهال شدید با دفع آب زیاد همراه است که در صورت عدم درمان سبب سوء تغذیه و حتی مرگ خواهد شد. کریپتوسپوریدیوزیس دارای بیش از ۱۸ گونه متفاوت می‌باشد و از آنجائی که هنوز هیچ درمان دارویی قطعی برای این انگل یافت نشده است تشخیص به موقع و پیشگیری بیماری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

اولین بار این تک یاخته توسط Clark در سال ۱۸۹۵ گزارش گردید ولی پس از آن گزارشهایی متعددی در مورد جدا کردن این انگل از حیوانات مختلف در نقاط مختلف دنیا گزارش شده است:

از غده بزاقی و دستگاه گوارش موش توسط Tyzzer در سال ۱۹۰۷ (۴۰)، در بره، گاو و گوساله توسط Barker و همکاران در سال ۱۹۷۴ (۵)، در سگ سانان توسط Bearup در سال ۱۹۵۴ (۶)، در جوجه‌های پرورشی توسط Current و همکاران در سال ۱۹۸۶ (۱۲)، در گربه‌های وحشی جنگل‌های هندوستان توسط Dubey و Pande در سال ۱۹۶۳ (۱۶)، در مینک توسط Current و همکاران در سال ۱۹۸۶ (۱۱)، در آزاد ماهیان توسط Alvarez-pellitero و همکاران در سال ۲۰۰۲ (۳)، در گاوهای شیری کالیفرنیا توسط Anderson در سال ۱۹۸۷ (۱)، در مارها توسط Brownstein و همکاران در سال ۱۹۷۷ (۷)، در حیوانات اهلی مزرعه Degraaf و همکاران در سال ۱۹۹۹ (۱۴)، در سگهای خانگی توسط Fayer و همکاران در سال ۲۰۰۱

(۱۷)، در خرگوش‌های ماده بالغ توسط Inman و همکاران در سال ۱۹۷۹ (۲۵)، در حیوانات آزمایشگاهی توسط Iseki و همکاران در سال ۱۹۸۹ (۲۷)، در مارمولک توسط Koudela و همکاران در سال ۱۹۸۹ (۳۱)، در گاوهای شهرستان اصفهان توسط اعظمی در سال ۲۰۰۷ (۴)، در افراد HIV مثبت توسط Blanshard و همکاران در سال ۱۹۹۲ (۸)، در کودکان مکزیکی توسط Diaz و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۱۵)، در کودکان و افراد شهر پنسیلوانیا توسط مرکز کنترل بیماریها در سال ۱۹۸۴ (۹)، در کودکان کنیا توسط Gati و همکاران در سال ۲۰۰۶ (۱۹).

همچنین در سال ۱۹۹۴ در افراد شهرستان اهواز توسط حقوقی راد (۲۳) و در کودکان دچار سوء هاضمه در جنوب ایران توسط حمیدی و همکاران (۲۰) و در افراد دیالیزی در ایران توسط حضرتی تپه و همکاران در سال ۲۰۰۶ (۲۱)، و در کودکان دهیدراته شهرستان های تهران و قزوین توسط کشاورز و همکاران در سال ۲۰۰۸ (۲۹)، منتشر گردیده است.

به دلیل عدم وجود مطالعات کافی در کشورمان، ویژه در منطقه آذربایجان اقدام به بررسی میزان شیوع این انگل گردید تا گامی هر چند کوتاه در جهت توسعه بهداشت جامعه برداشته شود.

مواد و روش کار

در این بررسی ۱۰ روستا مورد بررسی قرار گرفت که همگی آنها در نوار مرزی مناطق کوهستانی حاشیه شهرستان ارومیه بودند که به دلیل راههای کوهستانی و همچنین مقاوم بودن حیواناتی از قبیل اسب و قاطر، اقدام به نگه داری این حیوانات برای بارکشی، سواری، کار در مزرعه و اهداف پرورشی می نمایند. در تمامی این روستاها از آب رودخانه‌ها و چشمه‌ها و آب‌های زیر زمینی جهت مصارف روزانه از قبیل آشپزی، نظافت و شرب استفاده میگردد و چون منابع آب روستا و حیوانات نگهداری شده یکسان می باشد،

احتمال شیوع بیماری های انگلی و بیماری های مشترک و به ویژه کریپتوسپوریديوم بیشتر می باشد. در این بررسی از میان ۱۴۲ عدد نمونه مدفوع که همگی به روش تصادفی از اسب‌های کاری و قاطر ها نمونه برداری گردید. نمونه‌های مدفوع به محض دفع شدن از حیوان، با قاشقک های استریل یک بار مصرف در ظروف پلاستیکی مخصوص نمونه برداری جمع آوری شد و سپس با فرمالین ۱۰٪ اقدام به فیکس کردن نمونه ها گردید. پس از ثبت مشخصات نمونه از قبیل نام روستا، نام منطقه، نوع و جنس حیوان و تاریخ نمونه برداری، کلیه نمونه ها به آزمایشگاه انگل شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه منتقل شد و از محلول اشباع شیتتر جهت شناور سازی استفاده گردید.

برای شناسایی اوسیست های انگل نمونه های مدفوع به صورت جداگانه در هاون چینی با آب مقطر به صورت محلول یک درصد آماده گردید. پس از آن، محلول از الک به قطر ۱۰۰-۲۰۰-۳۰۰ μ عبور داده شد تا پلاک های چربی، مواد غذایی و مواد اضافی جمع آوری گردد. محلول بدست آمده در لوله آزمایش قرار داده شد و در سانتریفوژ با دور ۱۵۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه جهت انجام آزمایش فلوتاسیون سوکروز شیتتر سانتریفوژ گردید.

این روش تشخیص، عمدتاً بر پایه یافتن اوسیست در نمونه های مدفوع استوار است. پس از سانتریفوژ، محلول بالایی و شفاف لوله آزمایش دور ریخته می شود و فقط رسوب باقی مانده از محلول در لوله آزمایش باقی می ماند. پس از آن لوله ها با محلول اشباع شیتتر پرگردید.

روش تهیه محلول اشباع شیتتر: ۵۰۰ گرم شکر را در ۳۲۰ میلی لیتر آب حل کرده و سپس ۶/۵ گرم فنل به آن اضافه گردد. سپس لاملی بر روی لوله های آزمایش قرار داده شد و پس از گذشت ۳۰ دقیقه، لامل ها برداشته و بر روی لام قرار داده شدو سپس با عدسی ۴۰ و ۱۰۰ اوسیست ها که در حدود ۴ تا ۶ μm اندازه دارند جستجو گردید. در صورت مثبت بودن لام ها، اقدام به شمارش اوسیست ها گردید.

بررسی میزان شیوع کریپتوسپورییدیوزیس در تک سمی های روستاهای مرزی شهرستان ارومیه

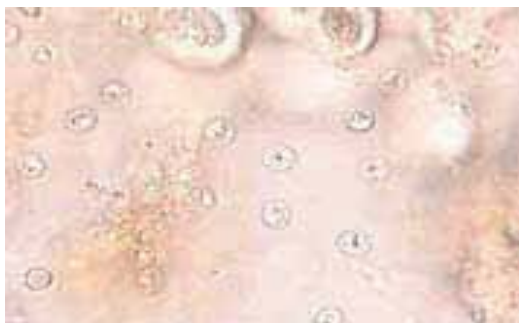
نتایج

در این بررسی از میان ۱۴۲ نمونه مدفوع که همگی به روش تصادفی از اسب های کاری و قاطر ها نمونه برداری گردید در مجموع ۱۵ نمونه آلوده به انگل کریپتوسپورییدیوم بودند که در این میان ۶ نمونه مربوط به اسب ها و ۹ نمونه مربوط به قاطر بودند که نتایج حاصل در جدول شماره ۱ به صورت زیر آمده است.

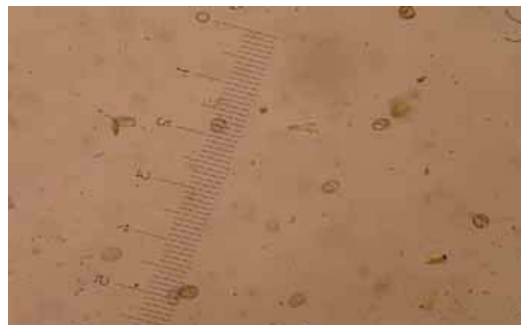
اوسیت های اسپروله، کروی یا بیضی شکل با دیواره ای ضخیم، صاف و بی رنگ هستند که دارای ۴ اسپروزیت کشیده می باشند و محتویات داخل آن به سختی با میکروسکوپ نوری قابل مشاهده است و چون مورفولوژی معمولاً در تعیین گونه اوسیت ها دخیل نیست لذا امکان شناسایی گونه وجود نداشت.

جدول ۱- جدول میانگین آلودگی بررسی نمونه مدفوع های مورد آزمایش به انگل کریپتوسپورییدیوم.

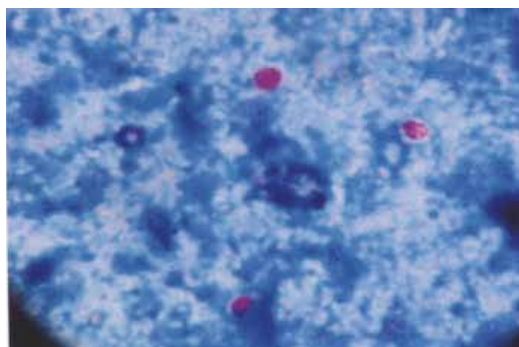
میزان	تعداد حیوان مورد مطالعه	میانگین آلودگی	درصد شیوع بیماری	میانگین کل آلودگی در هر گونه از حیوان	میانگین کل آلودگی در کل حیوانات
نریان	۴۸	۵	٪۱۰/۴۱	٪۱۰/۵۶	٪۱۰/۵۵
مادیان	۲۲	۱	٪۴/۵۴		
قاطر نر	۵۶	۷	٪۱۲/۵	٪۱۲/۵	
قاطر ماده	۱۶	۲	٪۱۲/۵		



تصویر شماره ۲ - اوسیت های اسپروله، کروی یا بیضی شکل با دیواره ای ضخیم، صاف و بی رنگ.



تصویر شماره ۱- اندازه کوچک اوسیت های انگل کریپتوسپورییدیوم در اندازه ۴ تا ۶ میکرون.



تصویر شماره ۳- اوسیت های اسپروله شده به رنگ قرمز X=۱۰۰۰ (رنگ آمیزی به روش اسید فاست ذیل نیلسون)

بحث و نتیجه گیری

کریپتوسپوریديوم یک عامل بیماری زای روده ای مهم با پراگندگی گسترده در دامهای جوان و انسان در سطح جهان است (۱۱). در بسیاری از گزارشات اولیه، این عفونت در انسان محدود به افراد با نقص سیستم ایمنی بوده و حتی زمانی که منبع این عفونت در انسان محدود به افراد با نقص سیستم ایمنی بوده و حتی زمانی که منبع این عفونت مشخص نبود، عموماً به عنوان یک زئونوز فرصت طلب در نظر گرفته می شد (۲۰). بررسی های انجام شده در اوایل سال های ۱۹۸۰، اهمیت این انگل را به عنوان عامل مسبب گاستروآتریت حاد و تک گیر در افرادی که سالم بوده اند، به ویژه کودکان آشکار ساخت (۲۸). برآورد شده که سالانه میلیون ها مورد از بیماری در کشورهای در حال توسعه و توسعه نیافته رخ می دهد. این انگل عاملی برای عفونت های اندمیک تک گیر، اسهال مسافران، همه گیری ها به حساب می آید. الگوی فراوانی بیماری براساس سن، فصل، موقعیت جغرافیایی و راه های انتقال تشریح شده است. در دامها، عفونت باعث ابتلا و گاهی اوقات باعث مرگ و میر شده و لذا از نظر بالینی و اقتصادی حائز اهمیت است.

شاخص های اپیدمیولوژیک برای گسترش کریپتوسپوریديوم مشخص شده است که می توان به موارد زیر اشاره نمود:

- مقاومت اووسیست های این انگل در برابر کلر و اسید: مقاوم بودن اووسیست های انگل در برابر کلر و اسید سبب می شود تا ضد عفونی آب های مورد مصرف برای مصارف شرب و خانگی استریل نشده و سبب گسترش بیماری شود و از آنجایی که pH معده انسان اسیدی می باشد و یک سد طبیعی دفاعی بدن در برابر عوامل پاتوژن می باشد نمی تواند تاثیری روی انگل بگذارد و انگل در معده و در دستگاه گوارش به حیات خود ادامه داده و سبب نفوذ به اندام هدف یعنی پرزهای روده باریک شده و ایجاد بیماری نماید (۵).

- اندازه نسبتاً کوچک اووسیست های انگل: اندازه اووسیست های این انگل در حدود ۴ تا ۶ میکرون است که

در حدود یک سوم اندازه کیست های آمیب (Amoeba) و ژیا ردیا (Giardia) می باشد، می توان فهمید که روش های فیلتراسیون معمولی روی آن موثر نیست. پس اووسیست های کریپتوسپوریديوم یک تهدید جدی برای تصفیه آب می باشد، به طوری که برای پیشگیری معیارهای توسعه یافته و قوی برای استانداردهای توریدیتی (Turbidity) پیشنهاد شده است. بنابراین برای تصفیه آب از نظر کریپتوسپوریديوم بایستی روش های خاصی را اعمال کرد.

- دوز پایین: بطور متوسط ۱۴۰-۱۳۰ اووسیست برای اولین بار گزارش شده که بر اساس تجویز تک دوز اووسیست کریپتوسپوریديوم پارووم به افراد داوطلب بوده است (۱۴) اکنون مشخص شده است که بروز عفونت با رنج اووسیست بین ۹ تا ۱۰۴۳ در سویه های گاوی برای انسان سبب درگیری و آلودگی می شود. همان طور که از اپیدمی میلوآکی برداشت می شود دوز عفونت در برخی از افراد ۱ تا ۱۰ عدد اووسیست بوده است که نشان دهنده احتمال افزایش همه گیری این بیماری و گسترش آن می باشد و عامل تهدید اصلی برای جوامع انسانی می باشد (۲۸).

توانایی زئونوتیک بودن این بیماری یکی از موارد بسیار مهم می باشد. ظاهراً گونه ها و ژنوتیپ های کریپتوسپوریديوم مخصوصاً کریپتوسپوریديون پارووم به میزبان خاصی، اختصاص ندارد و رنج قابل ملاحظه ای از میزبان در حدود ۱۵۴ گونه از پستانداران گزارش شده است (۲۴). در بسیاری از موارد آلودگی گزارش از منبع آلودگی حیوانی بوده است (۲۴) با بررسی راهنمای انتقال این بیماری میتوان به اهمیت این بیماری پی برد بطوریکه این بیماری از طریق انتقال مستقیم مانند تماس شخص به شخص یا انتقال غیر مستقیم مانند تماس جنسی، انتقال از حیوان به انسان، از راه آب های آشامیدنی یا آب های مراکز تفریحی، از راه غذ و یا از راه هوا قابل انتقال می باشد.

به جز موارد اپیدمی، بیشتر نمونه های انسانی در کشورهای توسعه یافته ناشی از مراجعه افراد به علت ناراحتی های

نکته که فریز کردن در حذف اووسیت ها موثر نمی باشد.
۴- استفاده از آب های معدنی تجاری مورد تایید سازمان بهداشت برای مصارف آشامیدنی و خانگی.
۵- آگاهی دادن از طریق رسانه های اطلاع جمعی در مورد خطرات کریپتوسپورییدیوزیس.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم میدانند که از زحمات مسئول آزمایشگاه انگل شناسی جناب آقای مهندس اسماعیل ولیزاده و همچنین مردم بومی و نیروهای نظامی منطقه کمال تشکر و قدردانی را داشته باشند.

گوارشی به آزمایشگاه بوده است. با این وجود در ایالات متحده امریکا تقریباً ۲٪ تمام نمونه های مدفوع آزمایش شده از نظر کریپتوسپورییدیوم مثبت گزارش شدند (۱۱). همچنین از ۱۵ میلیون مورد مبتلا به اسهال، ۳۰۰ هزار نفر مبتلا به کریپتوسپورییدیوم بودند. آدل و همکارانش در ۴۳ مطالعه در مناطق در حال توسعه (آسیا، آفریقا و امریکای لاتین) و ۳۵ مطالعه در کشورهای صنعتی (اروپا، امریکای شمالی و استرالیا) بیش از ۱۳۰,۰۰۰ بیمار مبتلا به اسهال با ایمنی کامل را مورد مطالعه قرار دادند و عفونت کریپتوسپورییدیوم را به ترتیب در ۶/۱٪ بیماران اسهال مناطق در حال توسعه و ۲/۱٪ بیماران مناطق توسعه یافته گزارش کردند. در حالی که عفونت در افراد بدون اسهال به ترتیب ۱/۵٪ و ۰/۱۵٪ بوده است (۲۶).

در انسان شدت و دوره بیماری بستگی به سیستم ایمنی میزبان دارد. گروه هایی که در معرض خطر هستند عبارتند از بچه ها، پرسنل مهدهای کودک، کشاورزان، دامداران و کسانی که در مراکز مراقبتی و بیمارستانها کار می کنند. مسافرت از کشورهای در حال توسعه به کشورهای توسعه یافته می تواند بعنوان یک فاکتور خطر در شیوع کریپتوسپورییدیوم به حساب آید.

هدف اصلی اپیدمیولوژی، شناسایی منبع عفونت، کنترل همه گیری و آموختن راه های پیشگیری است که می توانند به پیشگیری از وقوع همه گیری های آینده کمک کنند. نیاز اصلی در شناسایی و کنترل یک همه گیری، غربالگری کافی، مطمئن و تفسیر دقیق اطلاعات است.

در پایان اقدامات زیر برای پیشگیری از وقوع همه گیری پیشنهاد می شود:

- ۱- به کار گیری موسسات معتبر و استاندارد برای پالایش و فیلتراسون آب.
- ۲- انجام تست های روتین برای احتمال حضور اووسیت در آب تصفیه شده مثل تست های EIA.
- ۳- جوشاندن آب برای مصارف آشامیدنی و توجه به این

References

- 1- Anderson, B.C. (1987), A preliminary report on Prevalence of *cryptosporidium muris* oocysts in dairy cattle feces, California Veterinarian. 87:11-13
- 2- Anderson, B.C. (1991) Prevalence of *Cryptosporidium muris* like oocysts among cattle population of the United States- Preliminary report, J protozool., 38:154-155
- 3- Alvarez-pellitero, P., Sitija-Bobadilla, A. (2002) *Cryptosporidium molnari n.sp* infecting two marine fish speices, Sparus auratal and Dicentrarchus labrax. Int. parasitol. 32: 1007-1021
- 4- Azami, m. (2007) prevalence of Cryptosporidium infection in cattle in Isfahan, iran. j. Eukaryote. Microbiol. 54(1)100-105
- 5- Barker IK, Carbonell PL. (1974) *Cryptosporidium Agni sp. N.* from lambs and *Cryptosporidium bovis n.sp* from a calf, with observation on the oocyst, Z parasitenkd. 44:289-299
- 6- Bearup, A. J. (1954)The coccidian of carnivores of Sydney. Aust. Vet. J. 30:185-187
- 7- Brownstein D.G. (1977) Cryptosporidium in snakes with hypertrophic gastric. Vet parasitol. 14:606-614
- 8- Blanshard, C., jakson, A.M., Shanson, D.C., Francis, N., Gazzard, B.C. (1992) Cryptosporidiosis in HIV sero-positive patients. Quarterly J. Med. 85: 813-823
- 9- Center for Disease control (1984) Cryptosporidiosis among children attending day care centers Georgia, Pensilvania, Michigan, California, and morbid-mortal, weakly Rep, 33:559-601
- 10- Chen, X.M., keithly, J.S., Pay, AC.V (2002), *Cryptosporidiosis. N* , Engl. J. Med. 346(22)1723-1731
- 11- Current, W.L. Reese, N.C., (1986) A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in mic, J. parasitol. 33:98-108
- 12- Current, W.L., Upton, S.J., Haynes, T.B., (1986) The life cycle of *Cryptosporidium baileyi n.sp* infecting chickens, 33:289-296
- 13- Current, W.L., Garcia.L.S., (1991) Cryptosporidiosis, Clin. Microbial. Rev, 4:325-358
- 14- Degraaf, D.C. (1999) A review of importance of Cryptosporidiosis in farm animals, Int. J. Parasitol, 29:1269-1287
- 15- Diaz, E. (2003) Epidemiology and control of intestinal parasites with nitazoxanide in children in Mexico. Am. J. Trop. Med. Hyg. 68(4) 384-386
- 16- Dubey, J.P., Pande, B.P.(1963) Observation on the coccidian oocysts from Indian jungle cat (*felis chaus*). Ind. J. Microbial, 3:103-108
- 17- Fayer, R., Xiao, L. (2003) *Cryptosporidium* and *Cryptosporidiosis*. Second edition. CRC Press.
- 18- Gati, W., Ashford, R.W., Beeching, N.J., Geevas, S.I., Parry, C.H.M., Canliffe, N.A. (2003) Molecular analysis of the 18s r RNA gene of *Cryptosporidium* parasites from patients with or without HIV infections living Kenya. 41:1456-1462
- 19- Gati, W., Ashford, R.W., Beeching, N.J., Mbae, C., Revathi, G. (2006) *Cryptosporidiosis* from children in Kenya, Ant. J. Trop. Med. Hyg. 75(1): 78-82
- 20- Hamedi, y. Safa, O., Haydari, M. (. 2005) *Cryptosporidium* infection in children in Iran. Pediatr. Infect. Dis. J., 24: 86-88
- 21- Hazrati Tappeh, K.H., Gharavi, M.J., Makhdoumi, K. (2006) prevalence of cryptosporidium spp. Infection in renal transplant and hemodialysis patients. Iranian J. publ. Health, 35:54-57
- 22- HILL, B.D., BLEWETT, D.A., DAWSON, A.M., WRIGHT, S.E. (1990). Analysis of the kinetics, isotype and specificity of serum and coproantibody in lambs infected with *Cryptosporidium parvum*, Res. Vet. Sci., 48: 76-81
- 23- Hoghooghi- Rad, N. (1994) Some epidemiologi-

- cal aspects of cryptosporidiosis in Ahvaz, capital of khoozestan province, Islamic Republic of Iran. Med. J. Islam. Repub. Iran. 1: 17-22
- 24- HOMAN, W., VAN GORKOM, T., KAN, Y.Y., HEPENER, J. (1999). Characterization of *Cryptosporidium parvum* in human and animal feces by single-tube nested polymerase chain reaction and restriction analysis. Parasitol. Res., 85: 707-712
- 25- Inman, L.R., Takeachi, A. (1979) Spontaneous cryptosporidiosis in an adult female rabbit, Vet. pathol., 16:89-95
- 26- INTERNATIONAL AIR TRANSPORT ASSOCIATION (2003). Dangerous goods regulations, 44th Ed. International Air Transport Association, 800 Place Victoria, P.O. Box 113, Montreal, Quebec H4Z 1M1, Canada, p:815
- 27- Iseki, M., Maekawa, T., Uni, S., Takada, S. (1989) Infectivity of *Cryptosporidium muris* in various laboratory animals. Parasitol Res, 75:218-222.
- 28- JOHNSON, D.W., PIENIAZEK, N.J., GRIFFIN, D.W., MISENER, L., ROSE J.B. (1995) Development of a PCR protocol for sensitive detection of *Cryptosporidium* in water samples, Appl. Environ. Microbiol., 61: 3849-3855
- 29- Keshavarz, A., Athari, A., Haghighi, A., kazemi, B. (2008) Genetic characterization of *Cryptosporidium spp.* Among children with diarrhea in Tehran and Qazvin provinces, Ira., Iranian J. Parasitology 3:30-36
- 30- KORICH, D.G., MARSHALL, M.M., SMITH, H.V., O'GRADY, J., BUKHARI, Z., FRICKER, C.R., ROSEN, J.P., CLANCY, J.L. (2000). Inter-laboratory comparison of the CD-1 neonatal mouse logistic dose-response model for *Cryptosporidium parvum* oocysts, J. Eukaryot. Microbiol. 47: 294-298
- 31- Koudela, B., Modry, D., New Species of *Cryptosporidium* form lizards. Folia parasitol. 1998; 45:93-100
- 32- McLAUCHLIN, J., PEDRAZA-DIAZ, S., AMAR-HOETZENER, C., NICHOLS, G.L. (1999) Genetic characterization of *Cryptosporidium* strains from 218 patients with diarrhea diagnosed as having sporadic cryptosporidiosis, J. Clin. Microbiol. 37: 3153-3158
- 33- NICHOLS, R.A.B., CAMPBELL, B.M., SMITH, H.V. (2003) Identification of *Cryptosporidium spp.* oocysts in UK still natural mineral waters and drinking waters using a modified nested PCR-RFLP assay, Appl. Environ. Microbiol. 69: 4183-4189.
- 34- NICHOLS, R.A.B., SMITH, H.V. (2004) Optimisation of DNA extraction and molecular detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in natural mineral water sources. J. Food Protect. 67: 524-532
- 35- OKHUYSEN, P.C., CHAPPELL, C.L., CRABB, J.H., STERLING, C.R., DUPONT H.L. (1999) Virulence of three distinct *Cryptosporidium parvum* isolates for healthy adults, J. Infect. Dis., 180: 1275-1281
- 36- ROBERT, B., GINTER, A., COLLARD, A., COPPE, P. (1990) Diagnosis of bovine cryptosporidiosis by enzyme-linked immunosorbent assay, Vet. Parasitol., 37: 1-8
- 37- SMITH, H.V. (1992) Intestinal protozoa. In: Medical Parasitology- a Practical Approach, Hawkey P.M. & Gillespie S.H., IRL Press at Oxford University Press, Oxford, UK, pp:79-118
- 38- SMITH H.V. (1998) Detection of parasites in the environment. Parasitology, 117: S113-S141
- 39- SMITH, H.V., CAMPBELL, B.M., PATON, C.A., NICHOLS, R.A.B. (2002) Significance of enhanced morphological detection of *Cryptosporidium sp.* oocysts in water concentrates using DAPI and immunofluorescence microscopy, Appl. Environ. Microbiol, 68: 5198-5201
- 40- Tyzzer, E.E. (1907) A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse, Proceeding of the society for Experimental Biology and Medicine, 5:12-13