JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

دوره سوم، شماره اول، بهار ۱۳۹۱

صفحات ۴۹-۴۱

بررسی میزان شیوع کریپتوسپوریدیوزیس 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@ymail.com

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 کریپتوسپوریدیوم مورد بررسی قرار گرفت. شیوع بیماری کریپتوسپوریدیوزیس 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 کریپتوسپوریدیوم یک تهدید جدی برای سلامت آب آشامیدنی بوده و با توجه به اینکه هنوز هیچ درمان داروئی 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: کریپتوسپوریدیوم، تک یاخته، کریپتوسپوریدیوزیس، 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 oocytes.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 corrolation 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 cryptosporiosis treatment and as the cryptosporidium oocytes 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

مقدمه

کریپتوسپوریدیوزیس به عنوان یک بیماری انگلی نوپدید و مشترک بین انسان و حیوانات هست که توسط تک یاخته‌ای کوچک از جنس کریپتوسپوریدیوم ایجاد می شود. این تک یاخته گونه های متنوعی دارد و طیف وسیعی از میزبانان شامل پستانداران از جمله انسان، پرندگان، خزندگان و ماهی‌ها را آلوده می نماید. 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، بیمارستان ها و آسایشگاه های 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 ویژه ای را به خود اختصاص دهد. با توجه به این نکته که در مواردی بیش از ۹۰% گاوها و بیش از ۵۰% گوساله های یک گاوداری آلوده گزارش شده اند (۱۰) و نیز در یک بررسی بیش از ۴۰۳ هزار نفر در شهر میلواکی ایالات ویسکانسین آمریکا اختلالات ناشی از این عامل را بروز داده اند. 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 می یابد و با علائم کلینیکی مثل اسهال آبکی، کرامپ های شکمی، تهوع، کاهش وزن، خستگی و تب با درجات پایین همراه می باشد (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 می باشد و از آنجائی که هنوز هیچ درمان داروئی قطعی برای این انگل یافت نشده است تشخیص به موقع و پیشگیری بیماری از اهمیت ویژه ای 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 جوجه های پرورشی توسط Current و همکاران در سال۱۹۸۶(۱۲)، در گربه های 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 سال۱۹۷۷(۷)، در حیوانات اهلی مزرعه Degraaf و همکاران در سال۱۹۹۹ (۱۴)، در سگهای خانگی توسط Fayer و همکاران در سال ۲۰۰۱

(۱۷)، در خرگوش های ماده بالغ توسط Inman و همکاران در سال۱۹۷۹ (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 مکزیک توسط Diaz و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۱۵)، در کودکان و افراد شهر پنسیلوانیا توسط مرکز کنترل بیماریها در سال ۱۹۸۴ (۹)، درکودکان کنیا توسط Gati و همکاران در سال ۲۰۰۶ (۱۹).

همچنین در سال ۱۹۹۴در 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، بویژه 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 بار کشی، سواری، کار در مزرعه و اهداف پرورشی می نمایند. در تمامی این روستاها از آب رودخانه‌ها و چشمه ها و آب های 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 کریپتوسپوریدیوم 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 شیتر 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 شیتر سانتریفوژ گردید.

این روش تشخیص، عمدتا بر پایه یافتن اووسیست 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 شیتر پرگردید.

روش تهیه محلول اشباع شیتر: 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 mµ اندازه دارند جستجو گردید. درصورت مثبت بودن لام ها، اقدام به شمارش اوسیست ها گردید.

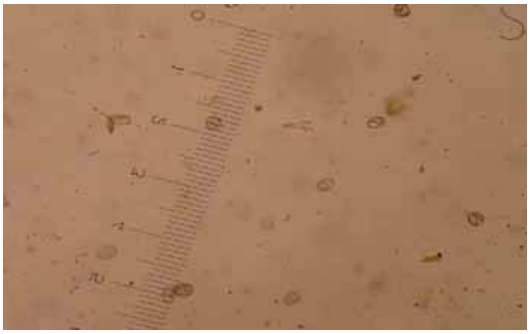
اوسیست های اسپروله، کروی یا بیضی شکل با دیواره ای ضخیم، صاف و بی رنگ هستند که دارای ۴ اسپرورزئیت کشیده می‌باشند و محتویات داخل آن به سختی با میکروسکوپ نوری قابل مشاهده است و چون مورفولوژی معمولا در تعیین گونه اوسیست ها دخیل نیست لذا امکان شناسایی گونه وجود نداشت.

نتایج

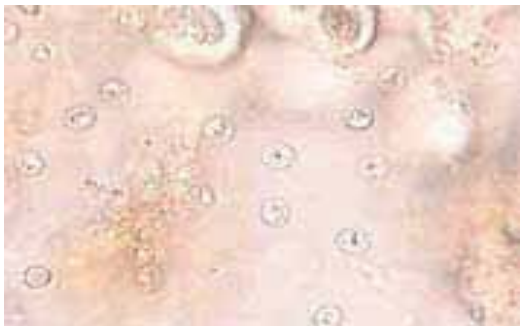
در این بررسی از میان ۱۴۲ نمونه مدفوع که همگی به روش تصادفی از اسب های کاری و قاطر ها نمونه برداری گردید در مجموع ۱۵ نمونه آلوده به انگل کریپتوسپوریدیوم بودند که در این میان ۶ نمونه مربوط به اسب ها و ۹ نمونه مربوط به قاطر بودند که نتایج حاصل در جدول شماره ۱ به صورت زیر آمده است.

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

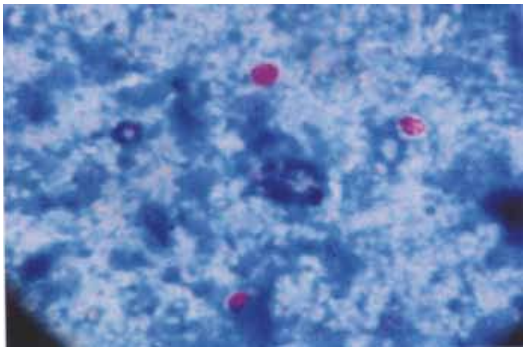
میزبان	*تعداد حیوان مورد مطالعه*	*میانگین آلودگی*	*درصد شیوع بیماری*	*میانگین کل آلودگی در هر گونه از حیوان*	*میانگین کل آلودگی در کل حیوانات*
نریان	۴۸	۵	٪ ۱۰/۴۱	٪ ۱۰/۵۶	٪۱۰/۵۵
مادیان	۲۲	۱	٪ ۴/۵۴		
قاطر نر	۵۶	۷	٪ ۱۲/۵	٪ ۱۲/۵	
قاطر ماده	۱۶	۲	٪ ۱۲/۵		



تصویر شماره ۱- اندازه کوچک اووسیت های انگل کریپتوسپوریدیوم در اندازه ۴ تا ۶ میکرون.



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



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

بحث و نتیجه گیری

کریپتوسپوریدیوم 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، عموما به عنوان یک زئونوز فرصت طلب در نظر گرفته می شد(۲۰). بررسی های انجام شده در اوایل سال های۱۹۸۰، اهمیت این انگل را به عنوان عامل مسبب گاستروآنتریت 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 کریپتوسپوریدیوم 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 نمی‌تواند 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 نسبتا کوچک اووسیست های انگل: اندازه اووسیت‌های این انگل در حدود ۴ تا ۶ میکرون است که در حدود یک سوم اندازه کیست های آمیب (Amoeba) و ژیاردیا (Giardia) می باشد، می توان فهمید که روش‌های فیلتراسیون معمولی روی آن موثر نیست. پس اووسیت‌های کریپتوسپوریدیوم یک تهدید جدی برای تصفیه آب می‌باشد، به طوری که برای پیشگیری معیارهای توسعه یافته و قوی برای استانداردهای توربیدیتی (Turbidity) پیشنهاد شده است. بنابراین برای تصفیه آب از نظر کریپتوسپوریدیوم بایستی روش های خاصی را اعمال کرد.

–دوز پایین: بطور متوسط ۱۴۰–۱۳۰ اووسیت برای اولین بار گزارش شده که بر اساس تجویز تک دوز اووسیت کریپتوسپوریدیوم پاروم به افراد داوطلب بوده است(۱۴) اکنون مشخص شده است که بروز عفونت با رنج اووسیت بین ۹ تا ۱۰۴۳ در سویه های گاوی برای انسان سبب درگیری و آلودگی می شود. همان طور که از اپیدمی میلواکی برداشت می شود دوز عفونت در برخی از افراد ۱ تا ۱۰ عدد اووسیت 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. ظاهرا گونه ها و ژنوتیپ های کریپتوسپوریدیوم مخصوصا کریپتوسپوریدیون پاووم 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 ویا 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

گوارشی به آزمایشگاه بوده است. با این وجود در ایالات متحده امریکا تقریبا ۲% تمام نمونه های مدفوع آزمایش شده از نظر کریپتوسپوریدیوم مثبت گزارش شدند(۱۱). همچنین از ۱۵ میلیون مورد مبتلا به اسهال، ۳۰۰ هزار نفر مبتلا به کریپتوسپوریدیوم 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 کریپتوسپوریدیوم 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 بچه‌ها، پرسنل مهدهای کودک، کشاورزان، دامداران و کسانیکه در مراکز مراقبتی و بیمارستانها کار می کنند. مسافرت از کشورهای درحال توسعه به کشورهای توسعه یافته می تواند بعنوان یک فاکتور خطر در شیوع کریپتوسپوریدیوم 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 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 کریپتوسپوریدیوزیس.

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.

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) Spontaneuse 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-Hoetzeneder, 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