

بروز آلودگی با کریپتوسپوریدیوم رایانی در گاوهای ایران

عماد چنگیزی* محمدرضا سلیمی بهجستانی عباس جواهری وایقان

گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

(دریافت مقاله: ۱۵ شهریور ماه ۱۳۹۰، پذیرش نهایی: ۹ آذر ماه ۱۳۹۰)

چکیده

زمینه مطالعه: کریپتوسپوریدیوم، انگل اجباری داخل سلولی است که موجب اسهال شدید در گوساله‌ها می‌گردد. موارد متعددی از ابتلا به کریپتوسپوریدیوزیس در مناطق مختلف ایران گزارش شده است. **هدف:** هدف از این تحقیق مطالعه اپیدمیولوژیکی کریپتوسپوریدیوزیس در گاوداری‌های شهرستان سمنان بود. **روش کار:** در این مطالعه در مجموع از ۲۰۰ راس گاو و گوساله، نمونه مدفوع جمع‌آوری شد تا علل اسهال از جمله کریپتوسپوریدیوزیس در گاوداری‌های شهرستان سمنان بررسی شود. پس از مطالعه نمونه‌ها، آوو سیست کریپتوسپوریدیوم از مدفوع گاوها جدا گردید. **نتایج:** آوو سیست جدا شده شبیه به کریپتوسپوریدیوم پاروم ولی بسیار کوچک‌تر بود. ابعاد ۴۰ عدد از آوو سیست‌های مشاهده شده اندازه‌گیری گردید. میانگین طول و عرض به ترتیب $3/44 \pm 0/06 \mu m$ و $3/55 \pm 0/06 \mu m$ و نسبت طول به عرض آنها $1/03$ بود. با توجه به ابعاد بسیار کوچک این آوو سیست‌ها و در مقایسه با دیگر آوو سیست‌های مطالعه شده، به نظر می‌رسد که آوو سیست جدا شده در این مطالعه کریپتوسپوریدیوم رایانی می‌باشد. هر چند که بایستی مطالعات تکمیلی مولکولی بر روی آن انجام شود. میزان شیوع کلی کریپتوسپوریدیوم در نمونه‌های اخذ شده $17/5\%$ و در گوساله‌های مبتلا به اسهال، تعداد نمونه‌های مثبت به صورت معنی‌داری بیشتر از بقیه گاوهایی تحت مطالعه بود و در مقایسه بین دام‌های غیر اسهالی، میزان آلودگی در گاوها بیشتر از آلودگی تلیسه‌ها و گوساله‌ها بود. هیچ‌گونه ارتباط معنی‌داری میان ابتلا به انگل و نوع گاوداری، منبع تامین آب و ساختمان کف اصطبل و جنسیت گاوها وجود نداشت. اما میان متغیرهای وضعیت نظافت کف اصطبل، نحوه ضد عفونی آن و تعداد گاو با ابتلا به انگل ارتباط معنی‌داری مشاهده شد. **نتیجه‌گیری نهایی:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کریپتوسپوریدیوم رایانی موجب بروز اسهال کریپتوسپوریدیایی در گاوداری‌های شهرستان سمنان شده و مدیریت صحیح به همراه نظافت اصطبل، قابلیت کنترل بیماری را دارد.

واژه‌های کلیدی: گاو، کریپتوسپوریدیوم رایانی، آوو سیست، اسهال، ایران.

کریپتوسپوریدیوم آندر سونی و کریپتوسپوریدیوم شبیه به ژنوتیپ گوزن جدا شده است (۱۱). کریپتوسپوریدیوم کانیس و کریپتوسپوریدیوم فلیس نیز به صورت انفرادی از گاو گزارش شده است (۲، ۱۲). بعضی از گونه‌های مختلف این تک یاخته از جمله کریپتوسپوریدیوم پاروم به سلول‌های روده باریک حمله کرده و در فضاهای زیر غشایی زندگی می‌کند و باعث آتروفی پرزهای آن می‌گردد (۱۱). در حالیکه کریپتوسپوریدیوم آندر سونی در سلول‌های مخاط شیردان جایگزین می‌شود (۱۶). کریپتوسپوریدیوم بویس نیز از گونه‌هایی است که در گوساله اسهال ایجاد می‌نماید. کریپتوسپوریدیوم پاروم در انسان توانایی ایجاد اسهال دارد. این در حالی است که کریپتوسپوریدیوم آندر سونی تنها در نشخوارکنندگانی مانند گاو و گوسفند بیماریزا است (۲۸). بر اساس مطالعات انجام شده توسط فایر، گونه کریپتوسپوریدیوم شبیه به ژنوتیپ گوزن، گونه‌ای جدید بوده و تحت عنوان کریپتوسپوریدیوم رایانی نامگذاری گردیده است (۱۰).

مواد و روش کار

جهت بررسی، نمونه‌گیری از ۱۵ واحد گاوداری شیری، گوستی و مخلوط انجام پذیرفت و از هر واحد حداقل ۱۳ نمونه (جمعاً ۲۰۰ نمونه) بصورت تصادفی گرفته شد. با توجه به این که واحدهای تحت مطالعه در

مقدمه

وجود گزارش‌های متعدد مبنی بر ابتلا به گونه‌های مختلف تک یاخته کریپتوسپوریدیوم در طیف وسیعی از مهره داران مختلف از ماهیان تا پستانداران عالی حاکی از قدرت تطابق بالای این انگل با جانوران اطراف خود می‌باشد. گستردگی میزبان‌های مختلف برای تک یاخته کریپتوسپوریدیوم نشان از حضور بلند مدت این انگل در میان موجودات زنده دارد، ولی سابقه آن در مطالعات علمی به سال ۱۹۰۷ می‌رسد. در آن سال ارنست ادوارد تایزر برای نخستین بار آوو سیست کریپتوسپوریدیوم را از موش‌های آزمایشگاهی خود جدا نمود و نام کریپتوسپوریدیوم موریس را برای آن نهاد (۲۷).

در طول یک قرن پس از یافته تایزر، گونه‌های مختلفی از کریپتوسپوریدیوم بر اساس نوع میزبان و مورفولوژی آوو سیست گزارش شده‌اند. تاکنون ۱۹ گونه از جنس کریپتوسپوریدیوم از حیوانات مختلف شامل ماهیان، خزندگان، پرندگان و پستانداران جدا شده است (۸، ۹). در ایران اولین بار قراگزلوو و خدا شناس (۱۴-۱۳) وجود کریپتوسپوریدیوم را از یک خروس گزارش کردند. تاکنون از گاو ۴ گونه مختلف از کریپتوسپوریدیوم بویس، کریپتوسپوریدیوم پاروم،



نمونه‌های اخذ شده بر حسب گاو و گوساله به دو گروه و هر گروه بر حسب اسهالی و غیر اسهالی بودن به دو زیر گروه تقسیم بندی شدند. حضور ۳۸/۹٪ نمونه‌های مثبت در گوساله‌های مبتلا به اسهال در مقابل ۱۶/۵٪ نمونه‌های مثبت در گوساله‌های غیر اسهالی نشان از وجود اختلافی معنی دار در ابتلا گوساله‌های اسهالی به کریپتوسپوریدیوم نسبت به گوساله‌های غیر اسهالی داشت ($p < 0/01$) در حالی که بین تعداد نمونه‌های مثبت گاوهای مبتلا به اسهال با تعداد نمونه‌های مثبت در گاوهای با مدفوع معمولی اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0/05$). نتایج نشان داد که در دامداری‌های بالاتر از ۵۰ راس، شانس آلودگی بیشتر از گله‌های کوچک تر است ($p < 0/05$).

۷٪ از دام‌های مطالعه شده آستان بودند ولی رابطه معنی داری میان آستانی و ابتلا به انگل در برآورد آماری دیده نشد ($p > 0/05$).

بحث

کریپتوسپوریدیوم رایجی اولین بار بعنوان گونه ایی جدید توسط فایر مطرح گردید (۱۰). اوو سیست‌های کریپتوسپوریدیوم رایجی، قبلاً بعنوان کریپتوسپوریدیوم شبه ژنوتیپ گوزنی نام برده می‌شد که با مطالعاتی که فایر بر روی مشخصات سلولی مولکولی و نحوه سیر تکاملی آن انجام داد، نام کریپتوسپوریدیوم رایجی را بر این گونه نهاد. مشخصات کریپتوسپوریدیوم رایجی از کریپتوسپوریدیوم پاروم، کریپتوسپوریدیوم بویس و کریپتوسپوریدیوم آندر سونی که معمولاً از دستگاه گوارش گاو جدا می‌گردد، کاملاً قابل تشخیص است. به علت اندازه کوچک اوو سیست کریپتوسپوریدیوم رایجی، تمایز اسپروسیست‌ها در داخل اوو سیست از یکدیگر بر احتی امکان پذیر نیست (۱۰). میانگین ابعاد ۴۰ اوو سیست کریپتوسپوریدیوم رایجی به ترتیب $3/44 \pm 0/06 \mu$ و $3/55 \pm 0/06 \mu$ با نسبت طول به عرض اوو سیست ۱/۰۳ بود (تصویر ۱). در حالیکه میانگین ابعاد ۴۰ اوو سیست کریپتوسپوریدیوم پاروم که با روش‌های مولکولی به اثبات رسیده بود و توسط شخص مشابهی اندازه‌گیری شده بود به ترتیب $4/57 \pm 0/29 \mu$ و $4/32 \pm 0/32 \mu$ با انحراف معیار ۰/۳۲ تعیین گردید. نسبت طول به عرض در اوو سیست مربوطه ۱/۰۸ بود (تصویر ۲).

ابعاد اوو سیست کریپتوسپوریدیوم پاروم در منابع معتبر $4/5 - 5/4 \mu$ و $4/2 - 5/2 \mu$ ذکر شده است (۸) که با اعداد به دست آمده از اندازه‌گیری اوو سیست کریپتوسپوریدیوم پاروم از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، در مطالعه حاضر اختلاف معنی داری ندارد. همان طور که مشاهده می‌گردد، ابعاد اوو سیست بدست آمده از دام‌های مبتلا در مطالعه اخیر بسیار کوچک‌تر از همه گونه‌های موجود کریپتوسپوریدیوم می‌باشد (تصویر ۳) و با اندازه‌های اعلام شده برای اوو سیست کریپتوسپوریدیوم رایجی مطابقت دارد. اوو سیست‌های این گونه از کریپتوسپوریدیوم به لحاظ اندازه بسیار کوچک‌تر از اوو سیست‌های کریپتوسپوریدیوم پاروم،

شهرستان سمنان و شرایط محیطی و اقلیم مشابه (دما، رطوبت و ...). قرار دارند، تعداد ۲۰۰ نمونه تصادفی اخذ شده برآورد مناسبی از جامعه اصلی را در اختیار قرار می‌دهد. تجزیه آماری داده‌های این پژوهش با استفاده از بسته نرم افزاری SPSS (نسخه ۱۲) انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دو دامنه‌ای t-student ($p = 0/05$) استفاده گردید.

در هنگام اخذ نمونه، مشخصات مدفوع و مشخصات دام شامل سن، جنس و وضعیت آبستنی و مشخصات محل نگهداری دام شامل نوع دامداری، تعداد دام، منبع تامین آب، وضعیت نگهداری گوساله‌ها (انفرادی و یا دسته جمعی)، جنس کف اصطبل و وضعیت نظافت و نحوه شستشوی کف اصطبل ثبت گردید.

از نمونه‌های مدفوع جمع‌آوری شده، با روش فرمل اتر، رسوب تهیه شد و از رسوب حاصل گسترش تهیه گردید. سپس گسترش‌های تهیه شده به روش ذیل نلسون تعدیل یافته رنگ آمیزی شدند و با بزرگنمایی $1000 \times$ مورد مطالعه قرار گرفتند.

از نمونه‌های مثبت به صورت کاملاً تصادفی ۴۰ اوو سیست کریپتوسپوریدیوم انتخاب و ابعاد آنها با استفاده از لام میکرومتری اندازه‌گیری و ثبت گردید. همچنین یک لام از گسترش تهیه شده از کریپتوسپوریدیوم پاروم که با روش‌های مولکولی تأیید شده بود (۴)، از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران اخذ و اندازه ۴۰ عدد از اوو سیست‌های آن با روش فوق اندازه‌گیری و ثبت گردید.

نتایج

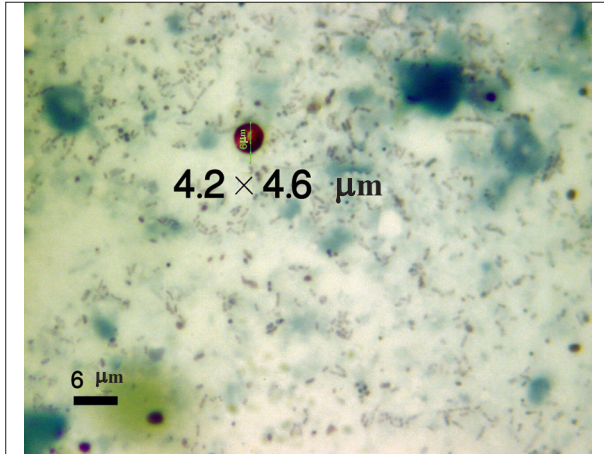
در مجموع از ۲۰۰ گاو در ۱۵ گاو داری از نقاط مختلف شهرستان سمنان نمونه‌گیری به عمل آمد (جدول ۱). از این تعداد ۱۲ دامداری آلوده به تک یاخته کریپتوسپوریدیوم بودند و میزان شیوع کلی کریپتوسپوریدیوم در گاوهای مورد بررسی ۱۷/۵٪ بود. میزان شیوع در گاو داری‌های آلوده از ۶/۲۵٪ تا ۵۶/۲۵٪ متغیر بود.

میانگین طول و عرض ۴۰ اوو سیست اندازه‌گیری شده به ترتیب $3/44 \pm 0/06 \mu$ و $3/55 \pm 0/06 \mu$ با نسبت طول به عرض اوو سیست ۱/۰۳ بود (تصویر ۱). طول و عرض ۴۰ اوو سیست کریپتوسپوریدیوم پاروم اخذ شده از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران نیز $4/57 \pm 0/29 \mu$ و $4/32 \pm 0/32 \mu$ با انحراف معیار ۰/۳۲ تعیین گردید. نسبت طول به عرض در اوو سیست مربوطه ۱/۰۸ بود (تصویر ۲).

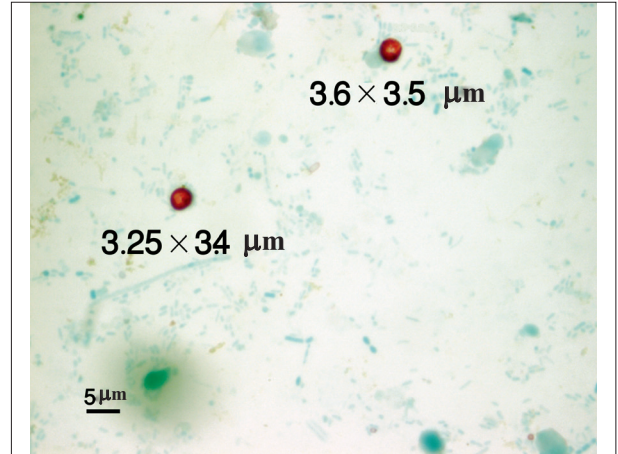
از ۲۰۰ راس گاو و گوساله نمونه‌گیری شده، ۸۰ راس (۴۰٪) نر و ۱۲۰ راس (۶۰٪) ماده بودند ولی هیچگونه ارتباط معنی داری میان جنسیت و ابتلا به انگل مشاهده نگردید ($p > 0/05$).

هیچگونه ارتباط معنی داری میان ابتلا به انگل و نوع گاو داری، منبع تامین آب و ساختمان کف اصطبل وجود نداشت ($p > 0/05$) ولی بین کیفیت و فاصله زمانی نظافت کف اصطبل با میزان ابتلا به انگل ارتباط معنی دار مشاهده شد ($p < 0/05$).





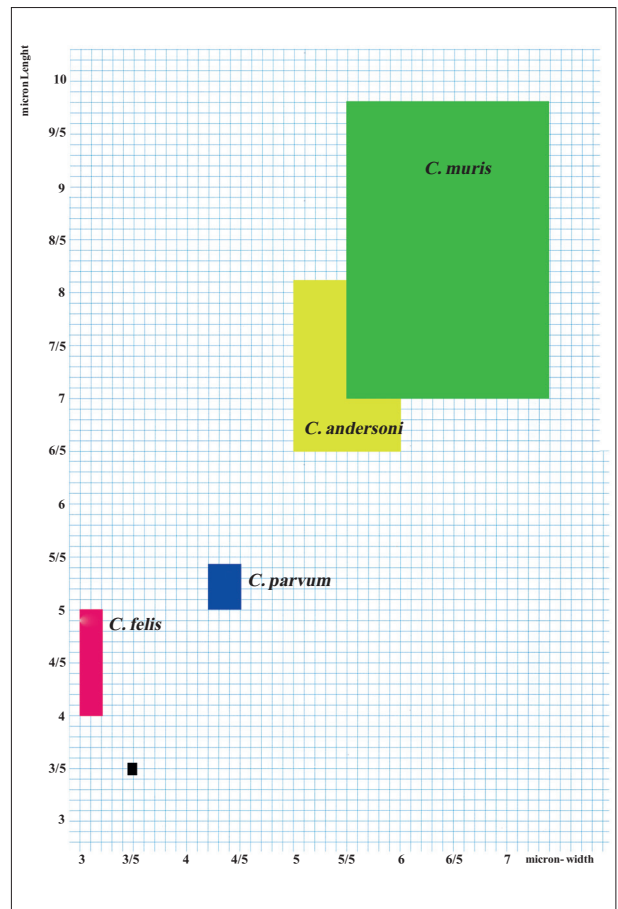
تصویر ۲- اووسیست کریپتوسپوریدیوم پاروم درشت نمایی $1000\times$ ، رنگ آمیزی ذیل نلسون اصلاح شده.



تصویر ۱- اووسیست کریپتوسپوریدیوم جدا شده در این مطالعه، درشت نمایی $1000\times$ ، رنگ آمیزی ذیل نلسون اصلاح شده.

از آنها قابل تمایز می‌باشد. بر اساس گزارشات ارائه شده این اووسیست تنها از گاو جدا شده است و آلودگی آزمایشگاهی بره و موش با این گونه، با موفقیت همراه نبوده است (۱۰). تک یاخته مذکور از گاو از سنین مختلف جدا شده و تفاوت بیولوژیکی دیده شده میان دو گونه کریپتوسپوریدیوم پاروم و کریپتوسپوریدیوم رایانی بر اساس سن ابتلا است. از ۸۵٪ گوساله‌های شیری مبتلا به کریپتوسپوریدیوم با سن ۲ ماه و یا کمتر کریپتوسپوریدیوم پاروم جدا شده است. در حالیکه ۹۵٪ گوساله‌های شیری مبتلا به کریپتوسپوریدیوم رایانی سنی بیش از ۲ ماه دارند و ۳۱٪ گوساله‌های شیری مبتلا به کریپتوسپوریدیوم رایانی سنی در حدود ۳ تا ۱۱ ماه دارند در حالی که تنها ۱٪ گوساله‌های شیری مبتلا در این سن به کریپتوسپوریدیوم پاروم مبتلا هستند (۱۰). در مطالعه اخیر ۳۱/۴٪ مبتلایان به انگل بالای ۳ ماه داشتند. بنابراین با توجه به اندازه بسیار کوچک این اووسیست و سن گوساله‌های مبتلا به نظر می‌رسد که گونه جدا شده کریپتوسپوریدیوم رایانی می‌باشد، هر چند که برای تأیید نهایی این نظریه باید بررسی‌های مولکولی انجام پذیرد. در ایران بر اساس مطالعات مولکولی انجام شده تاکنون کریپتوسپوریدیوم پاروم، کریپتوسپوریدیوم بویس و کریپتوسپوریدیوم آندرسونی جدا شده است (۱-۵-۶-۱۵-۱۹-۲۵).

تاکنون مطالعات متعددی بر روی ابتلا گوساله و گاو به کریپتوسپوریدیوم و نقش این انگل در بروز اسهال در گوساله‌ها در ایران صورت گرفته است (۷، ۱۷، ۱۸، ۲۰، ۲۱، ۲۳، ۲۹، ۳۰). در طی این مطالعه در شهرستان سمنان میزان شیوع کلی کریپتوسپوریدیوم در نمونه‌های گرفته شده در گاو و گوساله ۱۷/۵٪ برآورد گردید و بیش از ۶۵٪ آلودگی از حیواناتی جدا شد که هیچگونه علائمی از اسهال را نشان نمی‌دادند. در جمعیت گاو و گوساله‌های بدون ابتلا به اسهال به ترتیب ۱۵/۵٪ و ۱۶/۵٪ موارد آزمایش شده از نظر انگل کریپتوسپوریدیوم مثبت تشخیص داده



تصویر ۳- مقایسه شماتیک اندازه اووسیست گونه‌های مختلف کریپتوسپوریدیوم به میکرون (Fayer, R 2010).

- کریپتوسپوریدیوم پاروم ($4/5 \pm 5/4 \times 4/2 \pm 5/0$)
- کریپتوسپوریدیوم موریس ($7/5 \pm 9/8 \times 5/5 \pm 7/0$)
- کریپتوسپوریدیوم آندرسونی ($6/0 \pm 8/1 \times 5/0 \pm 6/5$)
- کریپتوسپوریدیوم فلیس ($3/2 \pm 5/1 \times 3/0 \pm 4/0$)
- کریپتوسپوریدیوم (جدا شده از سمنان) ($3/5 \pm 5/0 \times 3/4 \pm 0/06$)

کریپتوسپوریدیوم بویس و کریپتوسپوریدیوم آندرسونی بوده و به راحتی



جدول ۱- مشخصات و درصد آلودگی دامداری‌هایی که نمونه مدفوع اخذ شده است. *: اختلاف مشاهده شده معنی دار می باشد $p < 0/05$; sn: اختلاف مشاهده شده معنی دار نمی باشد ($p > 0/05$).

مکان دامداری	نوع دامداری	تعداد دام	نحوه نگهداری گوساله	آب شرب	کف اصطبل	نظافت	درصد آلودگی به کریپتوسپوریدیوم
۱	سمنان	۲۸۰	انفرادی	جوی آب	خاک	خوب	۲۹/۱۶٪
۲	سمنان	۵۰	انفرادی	جوی آب	خاک	خوب	۱۰۰٪
۳	سمنان	۳۰	انفرادی	جوی آب	سیمان	خوب	۰٪
۴	سمنان	۵۰	انفرادی	چاه	سیمان	خوب	۱۶/۶٪
۵	سمنان	۳۰	انفرادی	چشمه	خاک	خوب	۰٪
۶	سمنان	۲۰	انفرادی	چشمه	خاک	خوب	۵۰٪
۷	سمنان	۳۰۰	دسته جمعی	جوی آب	خاک	بد	۲۶/۶٪
۸	درجزین	۷۵	انفرادی	چاه	سیمان	خوب	۶/۶۶٪
۹	درجزین	۱۴۰	دسته جمعی	چاه	خاک	خوب	۰٪
۱۰	سمنان	۷۵	دسته جمعی	جوی آب	خاک	بد	۶/۲۵٪
۱۱	سمنان	۵۰	انفرادی	جوی آب	خاک	بد	۱۲/۵٪
۱۲	سمنان	۹۰	انفرادی	جوی آب	خاک	بد	۶/۲۵٪
۱۳	سمنان	۴۰	انفرادی	جوی آب	خاک	بد	۲۵٪
۱۴	سمنان	۱۰۰	انفرادی	جوی آب	خاک	بد	۳۷/۵٪
۱۵	سمنان	۲۵۰	انفرادی	جوی آب	خاک	بد	۲۱/۴۲٪
	ns	*	ns	ns	ns	*	

متفاوت اقلیمی باشد. گونه‌های مختلف کریپتوسپوریدیوم دارای خصوصیات متفاوتی هستند که در نحوه سیر تکاملی و پاتوژنسیته انگل تاثیر می‌گذارد (۸).

تاکنون در مطالعات انجام شده بر روی ابتلا گاو به کریپتوسپوریدیوم ارتباط معنی داری میان جنسیت و آلودگی گزارش نشده است و نتایج مطالعه اخیر نیز ارتباط معنی داری را در این زمینه نشان نداد. اما در گوسفند در بعضی از بررسی‌ها، وجود این ارتباط گزارش شده است که این تفاوت ممکن است ناشی از نحوه تغذیه و تفاوت‌های ایمنونوتیک موجود بین دو جنس دام باشد (۷، ۲۴).

در این مطالعه، ارتباط معنی داری میان ابتلا به کریپتوسپوریدیوم و رعایت نظافت روزانه اصطبل و استعمال مواد ضد عفونی کننده مشاهده شد. بررسی‌های دیگر نیز نشان می‌دهد، استفاده از کف سیمانی و شستشوی هفتگی بستر در مقایسه با استفاده از بسترهای کاه و پاکسازی ماهیانه، سبب کاهش معنی دار آلودگی خواهد شد (۳، ۷).

در مطالعه حاضر، بررسی آماری در خصوص وجود ارتباط بین شدت آلودگی و تعداد دام موجود در دامداری صورت گرفت و نتایج نشان داد که در دامداری‌های بالاتر از ۵۰ راس، شانس آلودگی بیشتر از گله‌های کوچک‌تر است ($p < 0/05$). در مطالعه فضیحه و فتوحی در سال ۱۳۸۷ آلودگی گله‌های گوسفند با جمعیت بیش از ۱۰۰ راس، بیش از ۴/۵ برابر گله‌های کوچک‌تر بود (۷). در مطالعات بعمل آمده در اسپانیا، سریلانکا و

شدند که اختلاف آنها معنی دار نبود. اما در جمعیت گوساله‌های تحت مطالعه مبتلا به اسهال، ۳۸/۹٪ موارد آزمایش شده از نظر انگل کریپتوسپوریدیوم مثبت تشخیص داده شدند که بالاترین میزان ابتلا در دام‌های اسهالی را شامل می‌شود.

در مطالعه انجام شده در شهرستان خرم‌آباد بر روی جمعیت گاوهای غیر اسهالی، ۲۳/۷۵٪ موارد به انگل کریپتوسپوریدیوم آلوده بودند و گاوهای بالغ در مقایسه با گوساله‌ها (آلودگی ۱۲/۵٪) و تلیسه‌های غیر اسهالی (آلودگی ۷/۱٪) شدت آلودگی بیشتری داشتند. اما در جمعیت گوساله‌های مبتلا به اسهال، ۲۱/۸۷٪ موارد آزمایش شده مثبت تشخیص داده شدند که در مقایسه با تلیسه‌های اسهالی (آلودگی ۱۳/۳٪) و گاوهای اسهالی (آلودگی ۱۰٪) بیشترین آلودگی را نشان می‌داد (۱۸). اما در مطالعه یخچالی و غلامی در سال ۱۳۸۷ در شهرستان سنندج میزان شیوع کریپتوسپوریدیوم ۴/۱٪ تعیین گردید و بیشترین آلودگی به کریپتوسپوریدیوم در گوساله‌های غیر اسهالی دیده شد (۳۰). در یک مطالعه در آمل میزان آلودگی گوساله‌های به ظاهر سالم به انگل کریپتوسپوریدیوم ۳/۹۲٪ و بیشترین آلودگی نیز در گوساله‌های ۲-۳ ماهه مشاهده شد (۲۹). یافته‌های مطالعه حاضر با مطالعه Maleki و Nayebzadeh در سال ۱۳۸۶ تطابق نسبی دارد ولی با مطالعه انجام شده در سنندج و آمل متفاوت است (۱۸، ۲۹، ۳۰). این حالت ممکن است ناشی از ابتلا گاو و گوساله‌ها به گونه‌های مختلف کریپتوسپوریدیوم در شرایط



References

1. Azami, M., Mogaddam, D.D., Salehi, R., Salehi, M. (2007) The identification of *Cryptosporidium* species in Isfahan. Iran by PCR-RFLP analysis of the 18S rRNA gene. *Mol. Biol.* 14: 851-856.
2. Bornay-Llinares, F.J., Da Silva, A.J., Moura, I.N.S., Myjak, P., Pietkiewicz, H., Kruminis-Lozowska, W., et al. (1999) Identification of *Cryptosporidium felis* in a cow by morphologic and molecular methods. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 1455-1458.
3. Castro-Hermida, J.A., González-Losada, Y.A., Ares-Mazas, E. (2002) Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NW Spain). *Vet. Parasitol.* 106: 1-10.
4. Causape, A.C., Quilez, J., Sanchez-Acedo, C., del Cacho, E., Lopez-Bernad, F. (2002) Prevalence and analysis of potential risk factor for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in zaragoza (northeastern Spain). *Vet. Parasitol.* 104: 287-298.
5. Ebrahimzade, E., Shayan, P., Nabian, S., Rahbari, S., Mokhber dezfouli, M.R. (2009) Identification of *Cryptosporidium parvum* by PCR and it's determination of protein pattern and immunogenic antigens. *J. Vet. Res.* 64: 15-21.
6. Ebrahimzade, E., Shayan, P., Mokhber Dezfouli, M.R., Rahbari, S. (2009) Recombinant *Cryptosporidium parvum* p23 as a Candidate Vaccine for Cryptosporidiosis. *Iran. J. Parasitol.* 4: 1-7.
7. Fasihi Harandi, M., Fotouhi Ardakani, R. (2008) *Cryptosporidium* infection of sheep and goats in Kerman: epidemiology and risk factor analysis. *J. Vet. Res.* 63: 47-51.
8. Fayer, R. (2010) Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Exp. Parasitol.* 124: 90-97.
9. Fayer, R., Morgan, U., Upton, S.J. (2000a) Epidemiology of cryptosporidium: transmission, detection and identification. *Int. J. Parasitol.* 36: 1305-1322.
10. Fayer, R., Santín, M., Trout, J.M. (2008) *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Vet. Parasitol.* 156: 191-198.
11. Fayer, R., Santin, M., Xiao, L. (2005) *Cryptosporidium bovis* n.sp (Apicomplexa; Cryptosporidiidae) in cattle (Bos taurus). *J. Parasitol.* 91: 624-629.
12. Fayer, R., Trout, J.M., Xiao, L., Morgan, U.M., Lal, A.A., Dubey, J.P. (2001) *Cryptosporidium canis* n. sp. from domestic dogs. *J. Parasitol.* 87: 1415-1422.
13. Gharagozlou, M.J. (1997) A review of cryptosporidiosis, laboratory diagnosis and preliminary report of both bursa of fabricius (central immunologic organ of birds) and cloaca infection with cryptosporidium. *J. Vet. Res.* 52: 1-11.
14. Gharagozlou, M.J., Khodashenas, M. (1985) Cryptosporidiosis in a native rooster with a chronic proliferative enteritis. *Arch. Vet. J.* 27: 129-138.
15. Keshavarz, A., Haghighi, A., Athari, A., Kazemi, B., Abadi, A., Mojarad, E.N. (2009) Prevalence and molecular characterization of bovine *Cryptosporidium* in Qazvin province, Iran. *Vet. Parasitol.* 160: 316-318.
16. Lindsay, D.S., Upton, S.J., Owens, D.S., Morgan, U.M., Mead, J.R., Blagburn, B.L. (2000) *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from cattle, *Bos taurus*. *J. Eukaryot. Microbiol.* 47: 91-95.
17. Lotfollahzadeh, S., Ziaei Daroonkolai, N., Zahraei Salehi, T., Poorbakhsh, S.A., Mokhber Dezfouli, M.R., Afshari, Gh.R. (2004) A study on the presence

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان از سرکار خانم دکتر ابراهیم زاده عضو هیئت علمی گروه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و آقای عباس گرامی، کارشناس گروه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به جهت در اختیار قرار دادن اووسیسست کریپتوسپورییدیوم پاروم صمیمانه تشکر و قدردانی می نماید. همچنین از همکاران گرامی، جناب آقای دکتر علی مهدوی، که در رفع بعضی از نواقص کوشیدند و جناب آقای درویشی که در تهیه نمونه ها مساعدت کردند، قدردانی می گردد.



- of *Escherichia coli*, coccidia and cryptosporidium in stool samples of under one month age diarrheic calves in Ghaemshahr and Babol and antibiotic sensitivity of isolates. J. Vet. Res. 59: 131-135.
18. Maleki, Sh., Nayeبزadeh, H. (2008) A survey of prevalence of cryptosporidiosis among diarrheic and Healthy cattle and calves in Khoram Abad, Iran. J. Vet. Res. 62: 423-426.
 19. Meamar, A.R., Rezaian, M., Rezaie, S., Mohrez, M., Mohebbali, M., Mohammad, K., et al. (2007) Molecular characterization of Cryptosporidium isolates from human and animals in Iran. Appl. Environ. Microbiol. 73:1033-1035.
 20. Mokhber Dezfouli, M.R., Meshgi, B. (2002) Epidemiological study of cryptosporidial infestation of man and animals. J. Vet. Res. 57: 87-91.
 21. Mokhber dezfouli, M., Sadeghinassab, A., Akbarein, H., Tajik, P., Nadalian, M., Khajenasiri, Sh. (2005) Cryptosporidia infection and associated bacterial enteropathogens in diarrheic calves and cows in dairy farms around Tehran. J. Vet. Res. 60: 131-135.
 22. Noordeen, F., Faizal, A.C.M., Rajapakse, R.P.V.J., Horadagoda, N.U., Arulkanthan, A. (2001) Excretion of Cryptosporidium oocysts by goats in relation to age and season in the dry zone of Sri Lanka. Vet. Parasitol. 99: 79-85.
 23. Nuri, M., Khalaji, M.R. (2003) A study of possible existence of *C. muris*-like (Andersoni) and its abomasal pathologic changes in dairy cattle around Isfahan and role of mice and water in transmission. J. Vet. Res. 58: 37-40.
 24. Ortega-Mora, L.M., Requejo-Fernaández, J.A., Pilar-Izquierdo, M., Pereira-Bueno, J. (1999) Role of adult sheep in transmission of infection by *Cryptosporidium parvum* to lambs: confirmation of periparturient rise. Int. J. Parasitol. 29: 1261-1268.
 25. Pirestani, M., Sadraei, J., Dalimi Asl, A.H., Zavvar, M., Vaeznia, H. (2008) Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from human and bovine using 18S rRNA gene in Shahriar county of Tehran, Iran. Parasitol. Res. 103: 467-472.
 26. Trotz-Williams, L.A., Martin, S.W., Leslie, K.E., Duffield, T., Nydam, D.V., Peregrine, A.S. (2007) Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. Prev. Vet. Med. 82: 12-28.
 27. Tyzzer, E.E. (1907) A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 5: 12-13.
 28. Uehlinger, F.D., Barkema, H.W., Dixon, B.R., Coklin, T., O'Handley, R.M. (2006) *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. In a veterinary college bovine teaching herd. Vet. Parasitol. 142: 231-237.
 29. Vahedi, N., Dalimi Asl, A., Saadat, M. (2009) Primary research on gastro-intestinal *Cryptosporidium* incidence rate in lambs and calves in Amol city, Iran. J. Vet. Res. 64: 101-102.
 30. Yakhchali, M., Gholami, E. (2007) Prevalence of *Eimeria* and *Cryptosporidium* spp. In cattle in Sanandaj city (Kurdistan province), Iran. Pajouhesh and sazandegi. (In Persian). 78: 81-87.



The *Cryptosporidium ryanae* infection commence in Iranian cattle

Changizi, E. *, Salimi-Bejestani, M.R., Javheri Vayeghan, A.

Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan- Iran.

(Received 6 September 2011 , Accepted 30 November 2011)

Abstract:

BACKGROUND: Cryptosporidium as an intracellular parasite causes severe diarrhea in calves. Several cases of cryptosporidiosis have been reported in different Iranian regions. **OBJECTIVES:** The aim of this study was to follow cryptosporidiosis occurrence in cattle husbandries of Semnan city in Iran. **METHODS:** Fecal samples were collected from 200 cows and calves, stained by modified Ziehl-Neelsen method and the cryptosporidium oocysts' size were determined. **RESULTS:** While the collected oocysts (n=40) showed a morphology similar to *cryptosporidium parvum* they were smaller than this parasite. In this respect, their mean length, width and length to width ratio were $3.44\pm 0.06\ \mu\text{m}$, $3.55\pm 0.06\ \mu\text{m}$ and 1.03, respectively. By considering these characteristics and the small size of *Cryptosporidium ryanae* (as a key characteristic for this species) infection with this species has been suggested. However, further molecular studies would be necessary. The mean prevalence of cryptosporidiosis was 17.5%. However, in diarrheal calves, numbers of positive samples were significantly more than the other cattle. In non diarrheal cases, the infection rate was remarkably higher in cattle when compared with heifers and calves. There was not any relation between number of positive cases and type of husbandry, source of water, base of stable and sex of cattle. However, there was positive correlation between number of infected cattle and quality of basement sanitation, the way of using detergents and number of cattle in husbandry. **CONCLUSIONS:** It can be concluded that *cryptosporidium ryanae* may affect cattle of husbandries in some Iranian regions as Semnan. Hence, improvement of management and good sanitation of husbandry should be considered as control measures.

Key words: cattle, *Cryptosporidium ryanae*, oocyst, diarrhea, Iran.

Figure Legends and Tabel Captions

Figure 1. Isolated Cryptosporidium's oocysts in this study, Modified Ziehl Neelson $\times 1000$.

Figure 2. Oocysts of *Cryptosporidium parvum*, Modified Ziehl Neelson $\times 1000$.

Figure 3. Schematic comparison among different species of Cryptosporidium's oocysts. (fayer, R 2010). ■ *Cryptosporidium parvum* ($4.5\pm 5.4\ \mu\text{m}\times 4.2\pm 5.0\ \mu\text{m}$); ■ *Cryptosporidium muris* ($7.5\pm 9.8\ \mu\text{m}\times 5.5\pm 7.0\ \mu\text{m}$); ■ *Cryptosporidium andersoni* ($6.0\pm 8.1\ \mu\text{m}\times 5.0\pm 6.5\ \mu\text{m}$); ■ *Cryptosporidium felis* ($3.2\pm 5.1\ \mu\text{m}\times 3.0\pm 4.0\ \mu\text{m}$); ■ *Cryptosporidium* sp (Isolated from Semnan samples) ($3.55\pm 0.06\ \mu\text{m}\times 3.44\pm 0.06\ \mu\text{m}$).

Table 1. Characteristics and percentages of the studied husbandries. *Shows that the observed difference was significant ($p < 0.05$). Sn: Shows that the observed difference was not significant, ($p > 0.05$).

