

مقایسه میزان آلودگی کریتوسپوریدیایی کاهوهای عرضه شده از مناطق مختلف در شهر شیراز

دکتر سیدمصطفی رضوی*^۱، دکتر محسن نصیری نسب رفسنجانی**، سمیه بهرامی***

*دانشیار گروه انگل شناسی- دانشگاه شیراز، **دکتری عمومی دامپزشکی، ***دانشجوی دکتری انگل شناسی- دانشگاه شیراز

تاریخ دریافت: ۸۸/۱/۶ تاریخ تایید: ۸۸/۸/۱۱

چکیده:

زمینه و هدف: کریتوسپوریدیوم، یکی از انگل های مشترک انسان و دام با میزبان های متنوع، به عنوان یک عامل بیماریزا در انسان به ویژه در افراد دچار سرکوب یا نقص ایمنی به خوبی شناخته شده است. از نظر همه گیر شناسی راه های انتقال کریتوسپوریدیوم شامل انتقال اووسیست مقاوم از راه آب آشامیدنی، سبزیجات و غذا است. هدف از مطالعه ی حاضر، مقایسه میزان آلودگی کریتوسپوریدیایی کاهوهای عرضه شده (به عنوان یکی از منابع آلودگی انسان) در مناطق مختلف شهر شیراز است.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی-تحلیلی ۲۰۰ نمونه کاهو (هر نمونه ۵۰۰ گرم) از چهار منطقه مختلف (کاهوی زرقان، کفترک، جهرمی و اهواز) در فصول بهار و تابستان سال ۱۳۸۵ مورد بررسی قرار گرفت. همه نمونه ها با رنگ آمیزی زیل نلسون اصلاح شده رنگ آمیزی شده و تعداد اووسیست در هر نمونه مورد شمارش قرار گرفت. اطلاعات به دست آمده با استفاده از آزمون های آماری مربع کای و آزمون ناپارامتری کروسکال والیس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: از ۲۰۰ نمونه، ۴۷ نمونه (۲۳/۵٪) آلوده بودند. مقایسه ی آماری نتایج نشان داد که بجز کاهوی جهرم که آلودگی آن در بهار بیش از تابستان بود ($P < 0/05$) تفاوت آماری معنی داری بین میزان آلودگی در بهار و تابستان وجود نداشت. مقایسه ی شدت آلودگی انواع کاهوها نشان داد که شدت آلودگی کاهوی اهواز در فصل تابستان نسبت به سایر انواع کاهوها به طور معنی داری بیشتر است ($P < 0/05$).

نتیجه گیری: با توجه به آلودگی بالای کریتوسپوریدیوم در کاهو، افزون بر شستشوی بهداشتی سبزیجات پیش از مصرف، بکارگیری روش های ویژه به منظور کاهش آلودگی مزرعه، مفید بنظر می رسد.

واژه های کلیدی: کریتوسپوریدیوم، کاهو، آلودگی، شیراز.

مقدمه:

آلودگی را افزایش می دهد. علاوه بر این، دو کفه ای ها با ذخیره سازی و حفظ اووسیست های کریتوسپوریدیوم، در انتقال آلودگی مؤثرند (۲).

کریتوسپوریدیوم به عنوان یک انگل زئونوز، به چند دلیل از نظر همه گیر شناسی اهمیت قابل توجهی دارد: دارای طیف میزبانی گسترده است، تعداد کم اووسیست آن جهت ایجاد عفونت در انسان و دام و نیز برای آلودگی محیط کافی است، اووسیست آن در برابر عوامل ضد عفونی کننده متداول آب مقاوم است، اندازه اووسیست آن بسیار کوچک (۴-۶ میکرون) است.

تک یاخته ی کریتوسپوریدیوم از حدود ۱۰۰ سال پیش شناخته شده و به عنوان یکی از مهمترین عوامل پاتوژن در سندرم اسهال در انسان و دام قلمداد می شود. در بزرگترین همه گیری کریتوسپوریدیوز در شهر میلواکی آمریکا در سال ۱۹۹۳، حدود سیصد هزار نفر دچار عفونت گوارشی شدند (۱).

این تک یاخته یکی از عوامل مهم انگلی منتقله از طریق آب و سبزیجات است. علاقه ی مردم به مصرف سبزی خام یا نیم پز به دلیل داشتن طعم طبیعی و نیز حفظ مواد مغذی حساس به حرارت، خطر انتقال

^۱ نویسنده مسئول: شیراز-دانشگاه شیراز-دانشکده دامپزشکی-گروه پاتوبیولوژی-بخش انگل شناسی-تلفن: ۰۹۱۷۳۱۴۵۵۴، E-mail: mrazavi@shirazu.ac.ir

این تک یاخته با آلوده کردن طیف گسترده ای از حیوانات، انتشاری گسترده داشته و از عوامل مهم آلوده کننده محیط زیست تلقی می شود (۹). Pirestani و همکاران با بررسی مولکولی نمونه های مدفوع انسان و گاو در شهریار تهران، ایزوله های گاو را مشترک بین انسان و دام و ایزوله های انسانی را از هر دو نوع انسانی و مشترک اعلام کردند (۱۰). علاوه بر این، Robertson به نقش آلوده کننده ی گوسفند و بز در عفونت کریپتوسپوریدیوم در انسان اشاره کرده و بر اقدامات پیشگیرانه جهت تأمین بهداشت منابع آب و جلوگیری از آلودگی آنها با فضولات این حیوانات تأکید می نماید (۱۱) Keshavarz و همکاران میزان آلودگی گاو را در استان قزوین ۱۸/۷۵ درصد اعلام نمودند. در این تحقیق ۷۲/۶ درصد از نمونه های مورد آزمایش کریپتوسپوریدیوم پارووم تشخیص داده شد (۱۲).

Mons و همکاران با بررسی آب رودخانه در پاریس و حومه، ۴۵/۷ درصد نمونه ها را آلوده به کریپتوسپوریدیوم گزارش کردند. به استناد نتایج این تحقیق، اقدامات کشاورزی و نیز عملکرد ناکامل سیستم تصفیه فاضلاب در فصول بارندگی، مهمترین عوامل آلودگی آب رودخانه اعلام شده است (۱۳).

کاهو یکی از پرمصرف ترین سبزیجات در رژیم غذایی مردم اکثر نقاط کشور بوده و تقریباً در تمامی موارد مصرف، به شکل خام مورد استفاده قرار می گیرد. مراحل کاشت، داشت و برداشت محصول به گونه ای است که در صورت عدم رعایت نکات بهداشتی (از جمله مصرف کود حیوانی یا آب آلوده)، اووسیست های مقاوم این تک یاخته بر روی کاهو قرار گرفته و چنانچه به درستی شسته نشوند، به مصرف کننده انتقال خواهند یافت. هر چند مطالعات اندکی در خصوص آلودگی سبزیجات در سایر کشورها انجام گردیده لیکن در خصوص آلودگی کاهو به عنوان یک سبزی پر مصرف در ایران مطالعات منتشر شده ای وجود ندارد. Daryani و همکاران با بررسی عوامل انگلی

علاوه بر این کریپتوسپوریدیوم یکی از عوامل آلوده کننده ی آب های درمان کننده است و به دلیل آلودگی مدفوع، شنا در آب های آلوده، خطر آلودگی را افزایش می دهد. انتقال از راه غذا به ویژه سالاد، شیر خام و آب میوه از دیگر راه های انتقال آلودگی است (۲). روش های متداول تصفیه آب آشامیدنی از جمله استفاده از کلروفیلتراسیون در پیشگیری از آلودگی بی تاثیر بوده و مواردی از وقوع همه گیری های گسترده از این طریق گزارش شده است (۳،۱).

مطالعات مختلفی در خصوص اهمیت بیماری زایی و همه گیری شناسی این انگل در کشور انجام شده است. Hamedi و همکاران در بررسی خود در بیمارستان اطفال بندرعباس، میزان آلودگی کریپتوسپوریدیایی را هفت درصد اعلام نمودند و بین آلودگی و کاهش وزن ارتباط معنی داری یافتند (۴). در تحقیقی دیگر، Mirzaei با بررسی ۱۲۹ بیمار مبتلا به اسهال و ۲۷۱ مورد بیمار غیر اسهالی، میزان آلودگی کلی را ۱۰/۸ درصد اعلام نمود و نشان داد بین عفونت کریپتوسپوریدیوم و بروز اسهال رابطه ی معنی داری وجود دارد (۵).

عفونت در افراد مبتلا به نقص ایمنی، معمولاً به صورت حاد و در برخی موارد به شکل پیش رونده و کشنده بروز می کند. Zali و همکاران با بررسی عوامل انگلی روده ای در بیماران مبتلا به ایدز، ۱/۵ درصد آنها را آلوده به کریپتوسپوریدیوم اعلام کردند که از این تعداد ۳۹/۲ درصد آنها مبتلا به اسهال بودند (۶). در تحقیقی دیگر، Nahrevanian و Assmar در بررسی بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی، ۶/۳ درصد مبتلایان به اسهال را آلوده به کریپتوسپوریدیوم اعلام کردند. آنها در تحقیق خود به دو مورد مرگ ناشی از این عفونت اشاره کردند (۷). Seyrafian و همکاران نشان دادند که ۱۱/۵ درصد از بیماران همودیالیزی به کریپتوسپوریدیوم آلوده اند. آنها در تحقیق خود، خطر آلودگی را در بیماران دیالیزی مبتلا به دیابت بیشتر از سایر گروه ها اعلام نمودند (۸).

و نظر کارشناس آمار ۲۰۰ نمونه مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه ها به طور جداگانه و مستقیماً از مزارع کاهو و یا میادین میوه و تره بار تهیه شدند تا امکان آلودگی های بعدی در هنگام حمل و نقل به حداقل برسد.

جهت انجام آزمایش، ابتدا با استفاده از دستکش یکبار مصرف و تمیز، برگ های هر نمونه به طور کامل از هم جدا می گردید. هر نمونه در ظرف جداگانه قرار داده می شد و پس از افزودن سه لیتر آب محتوی شش میلی لیتر مایع ظرفشویی، به مدت ۸ ساعت در مایع شستشو می ماند و طی این مدت به طور مرتب هر نیم ساعت یکبار هم زده می شد تا کنده شدن اووسیست ها از سطح گیاه تسهیل شود. پس از آن یک ساعت رها می شد تا اووسیست های جدا شده، ته نشین شوند. در این مرحله برگ ها به آرامی خارج شده و ظرف محتوی آب شستشو، به مدت ۱۶ ساعت در محل ثابت قرار می گرفت تا از رسوب کامل اووسیست ها اطمینان حاصل شود. در مرحله بعد، حدود ۲ لیتر از آب موجود در سطح ظرف با کمک پمپ برقی و به آرامی تخلیه شده، رسوب حاصله و مابقی آب از الک شماره ۱۰۰ (صد منفذ در هر اینچ، قطر هر منفذ ۱۵۰ میکرون) که دو لایه تامپون روی آن بود عبور داده می شد تا ذرات درشت جدا شوند. سوسپانسیون حاصله پس از یکنواخت شدن دو بار به مدت پنج دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ می گردید و محتوای هر لوله با افزودن سرم فیزیولوژی به حجم نهایی دو سانتی متر مکعب رسانیده می شد و پس از درج شماره نمونه، تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری می گردید (۱۴، ۱۵).

در مرحله بعد، پس از یکنواخت کردن نمونه ها، ده میکرولیتر از هر نمونه با استفاده از میکروپیپت اتوماتیک بر روی لام قرار گرفت. گسترش حاصله پس از خشک شدن به مدت سه دقیقه در متانول خالص تثبیت و ۱۵ دقیقه در رنگ کربول فوشین سرد قرار گرفت و سپس با آب جاری شسته شد. مرحله بی رنگ کردن با استفاده از محلول اسید- متانول یک درصد به

روده ای در سبزیجات عرضه شده در اردیبهیل، ۲۵ درصد سبزیجات موجود در مغازه ها و ۲۹ درصد سبزیجات موجود در مزارع را آلوده به کیست زیارديا، تخم آسکاریس، فاسیولا و دیکروسلیوم اعلام کردند. آنها در تحقیق خود به آلودگی کریتوسپورییدیوم اشاره ای نکردند (۱۴). در تحقیقی دیگر، Gjerde و Robertson با بررسی ۴۷۵ نمونه از سبزیجات مختلف شامل کاهو و باقلا، میزان آلودگی را در نروژ ۶ درصد اعلام کردند. آنها منشاء آلودگی سبزیجات را به استفاده از آب آلوده ارتباط دادند (۱۵). این در حالی است که Paula و همکاران با مطالعه ۶۰ نمونه ماده غذایی از سلف سرویس شهر نیتروی در برزیل، ۱۶ مورد آلودگی به کریتوسپورییدیوم را به اثبات رساندند (۱۶).

با توجه به اهمیت بهداشتی کریتوسپورییدیوم و فقدان اطلاعات منطقه ای در مورد وضعیت آلودگی کاهو و نقش آن در انتقال آلودگی به انسان و دام، انجام مطالعه ای با هدف بررسی میزان آلودگی کریتوسپورییدیوی در کاهو ضروری به نظر رسید. بی تردید نتایج تحقیقات حاضر، ابزار مناسبی را برای مطالعات بعدی بویژه شناخت بیشتر بیماری در جمعیت های انسانی و دامی و کنترل آن فراهم خواهد ساخت. لذا این مطالعه با هدف مقایسه میزان آلودگی کریتوسپورییدیوی کاهوهای عرضه شده از مناطق مختلف در شهر شیراز انجام شد.

روش بررسی:

مطالعه حاضر یک مطالعه توصیفی- تحلیلی است که طی دو فصل بهار و تابستان ۱۳۸۵ بر روی چهار نوع کاهوی عرضه شده در شهر شیراز شامل کاهوی زرقان، کاهوی کفترک، کاهوی جهرمی و کاهوی اهوازی، (۵۰ نمونه از هر کدام، در مجموع ۲۰۰ نمونه هر نمونه به وزن ۴۸۰ تا ۵۰۰ گرم) انجام شد. حداقل حجم نمونه (۱۳۸ نمونه) بر اساس روش استاندارد و بر مبنای شیوع آلودگی ۱۰ درصد، محدوده اطمینان ۹۵ درصد و دقت ۵ درصد محاسبه و نهایتاً با توجه به تنوع کاهوی عرضه شده در بازار

تابستان، تعداد ۴۷ نمونه یعنی ۲۳/۵ درصد نمونه ها از نظر آلودگی به کریپتوسپوریدیوم مثبت تشخیص داده شد. به استناد نتایج حاصله، از نمونه های چهارم ۱۲ نمونه (۲۴٪)، اهواز ۱۲ نمونه (۲۴٪)، کفترک ۱۲ نمونه (۲۴٪) و زرقان ۱۱ نمونه (۲۲٪) آلوده تشخیص داده شد. با توجه به نتایج حاصل از بررسی میزان آلودگی انواع کاهو به تفکیک دو فصل بهار و تابستان، مقایسه ی آماری نتایج نشان داد که بجز کاهوی چهارم که آلودگی آن در بهار بیش از تابستان بود ($P < 0/05$) تفاوت آماری معنی داری بین میزان آلودگی در بهار و تابستان وجود نداشت (جدول شماره ۱). مقایسه ی شدت آلودگی انواع کاهوها نشان داد که شدت آلودگی کاهوی اهواز در فصل تابستان نسبت به سایر انواع کاهوها به طور معنی داری بیشتر

مدت ۱۵-۱۰ ثانیه صورت گرفت. پس از شستشو با آب جاری، اسلایدها به مدت ۳۰ ثانیه در رنگ مالاویت گرین ۰/۴ درصد قرار گرفته و پس از شستشو خشک و در زیر میکروسکوپ با لنز روغنی شماره ۱۰۰ مورد بررسی قرار گرفت. در صورت وجود آلودگی (مشاهده اوویست) میانگین تعداد اوویست ها در حداقل پنجاه میدان میکروسکوپی شمارش و تعداد کلی اوویست ها بر اساس حجم اولیه سوسپانسیون محاسبه گردید (۱۷). نتایج حاصل از تحقیق با استفاده از آزمون های آماری مربع کای و آزمون ناپارامتری کروسکال والیس مورد بررسی قرار گرفت. حد معنی دار در تمام موارد به صورت $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها:

از مجموع ۲۰۰ نمونه کاهو در دو فصل بهار و

جدول شماره ۱: میزان و شدت آلودگی نمونه های کاهوی آلوده به اوویست کریپتوسپوریدیوم به تفکیک فصل

نام فصل	بهار		تابستان	
	موارد مثبت	شدت آلودگی	موارد مثبت	شدت آلودگی
چهرم	۹* (۳۶)	۶۴۴±۳۴۰	۳ (۱۲)	۸۰۰±۶۰۰
اهواز	۴ (۱۶)	۱۳۵۰±۱۷۸۰	۸ (۳۲)	۲۰۷۶۰±۳۲۵۲۰**
کفترک	۵ (۲۰)	۴۴۰±۲۶۰	۷ (۲۸)	۳۴۲±۹۶
زرقان	۶ (۲۴)	۴۳۴±۱۹۶	۵ (۲۰)	۶۸۰±۳۰۲
جمع	۲۴ (۲۴)	۶۶۶/۶±۷۶۰	۲۳ (۲۳)	۷۵۸۲±۲۰۸۲۰

* $P < 0/05$ نسبت به فصل تابستان، ** $P < 0/05$ نسبت به سایر انواع کاهو در فصل تابستان $n=25$ نسبت به فصل تابستان

کریپتوسپوریدیایی در کاهوی عرضه شده در شهر شیراز اثبات گردید. کریپتوسپوریدیوم یکی از عوامل مهم انگلی منتقله از طریق آب و سبزیجات است. علاقه ی مردم به مصرف سبزی خام یا نیم پز به دلیل داشتن طعم طبیعی و نیز حفظ مواد مغذی حساس به حرارت، خطر انتقال آلودگی را افزایش می دهد. اوویست های انگل

است ($P < 0/05$). آلودگی در هر یک از فصول یاد شده در سه نوع کاهوی چهرم، زرقان و کفترک تفاوت معنی داری را نشان نداد (جدول شماره ۱).

بحث:

در مطالعه ی حاضر، وجود آلودگی

عفونت انسانی به کرات مورد تاکید قرار گرفته و بر اقدامات پیشگیرانه جهت تأمین بهداشت منابع آب و جلوگیری از آلودگی آنها با فضولات این حیوانات تأکید شده است (۹-۱۲).

با توجه به گزارش های فوق هر یک از گونه های حیوانی و انسان می توانند به عنوان یک منبع آلوده کننده برای سبزیجات از جمله کاهو عمل نمایند. در تحقیق حاضر، میزان آلودگی انواع کاهو به تفکیک فصل بهار و تابستان تفاوت معنی داری دیده نشد به جز در مورد کاهوی جهرم که آلودگی آن در بهار بیشتر از تابستان بود. در مورد این انگل دو نوع اووسیست متفاوت وجود دارد. اووسیست های نوع اول دیواره نازکی داشته و اسپوروزوآیت های خود را در بدن میزبان آزاد کرده و باعث آلودگی مجدد میزبان می گردند. اووسیست های نوع دوم با دیواره ضخیم و مقاوم همراه با مدفوع به محیط خارج دفع گشته و قادرند در همان لحظه میزبان جدیدی را آلوده سازند (۲). با توجه به درصد قابل توجه اووسیست های مقاوم (۸۰٪) نسبت به کل اووسیست ها و مقاومت بالای آنها در مقابل شرایط فیزیکی و توانایی زنده ماندن در خشکی و دمای چهار درجه سانتیگراد و حفظ عفونت زایی به مدت ۲ تا ۶ ماه (۹،۲) نمی توان وجود اووسیست های فصل بهار را فقط مربوط به این فصل دانست بلکه با توجه به مقاومت اووسیست ها و ماندگاری آنها در خاک، امکان انتقال اووسیست ها از فصلی به فصل دیگر وجود دارد. با این وصف نمی توان با مطالعه ی حاضر بر نقش فصل در میزان آلودگی تأکید نمود و برای رسیدن به نتیجه عملی تر در این خصوص، می بایست نمونه گیری از محل های ثابت در طول سال صورت پذیرد. Mons و همکاران در بررسی نمونه های آب رودخانه در پاریس و حومه، میزان آلودگی در فصل پاییز را به مراتب بیشتر از سایر فصول اعلام کردند و علت آن را به فعالیت های کشاورزی مربوط دانستند (۱۳).

در برابر حرارت حساس بوده و حرارت ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه آنها را از بین می برد. کاهو به علت اینکه در اکثر موارد در شرایط کشور به صورت خام مصرف می شود، در صورت آلوده بودن با احتمال بیشتری نسبت به سبزیجات پخته، اووسیست انگل را منتقل می کند (۱۱،۹،۲).

Daryani و همکاران با بررسی عوامل انگلی روده ای در سبزیجات عرضه شده در اردبیل، ۲۵ درصد سبزیجات موجود در مغازه ها و ۲۹ درصد سبزیجات موجود در مزارع را آلوده به کیست زیاردیا، تخم آسکاریس، فاسیولا و دیکروسلیوم اعلام کردند. آنها در تحقیق خود، آلودگی کریپتوسپوریوم را مورد مطالعه قرار ندادند (۱۴). این در حالی است که Robertson و Gjerde با بررسی ۴۷۵ نمونه از سبزیجات مختلف شامل کاهو و باقلا، میزان آلودگی کریپتوسپوریوم را در نورژ شش درصد اعلام کردند. این دو محقق میزان آلودگی باقلا را بیشتر از میزان آلودگی کاهو گزارش نمودند. آنها با جدا کردن انگل از مزارع، منشأ آلودگی سبزیجات را به استفاده از آب آلوده ارتباط دادند (۱۵). در تحقیقی دیگر Paula و همکاران با مطالعه ی ۶۰ نمونه ماده غذایی از سلف سرویس شهر نیتروی در برزیل ۱۶ مورد (۲۶٪) آلودگی به انگل کریپتوسپوریوم را به اثبات رساندند که مؤید آلودگی بیشتری نسبت به مطالعه قبلی می باشد (۱۶).

در تحقیق حاضر، در موارد متعددی، به ویژه در مزارع کاهوی کفترک، استفاده از کود حیوانی جهت حاصلخیزی خاک مشهود بود که با توجه به آلودگی حیوانات مختلف، توجه کننده آلودگی کاهو می باشد. انگل کریپتوسپوریوم دارای طیف گسترده میزبانی می باشد. میزان آلودگی در شیراز در انسان، ۸ درصد (۱۸) بز و بزغاله ۹ درصد (۱۹)، بره و گوسفند، ۸ درصد (۲۰)، اسب، ۶/۵ درصد (۲۱) گوساله های نر، (۱۵/۴۲٪) و ماده، (۱۲/۹۳٪) (۲۲) جوجه ماکیان گوستی، ۲/۷ درصد (۲۳) و کبوتر، ۱۰/۸ درصد (۲۴) گزارش شده است. نقش آلوده کننده حیوانات در ایجاد

نتیجه گیری:

به استناد نتایج تحقیق حاضر، از آنجا که اولاً وجود آلودگی در کاهوی عرضه شده به اثبات رسیده، ثانیاً شدت آلودگی به اووسیست انگل در کاهوهای موجود در بازار به اندازه ای بوده که برای ایجاد عفونت کافی به نظر می رسد و ثالثاً امکان از بین بردن اووسیست مقاوم انگل در سبزیجات وجود ندارد، آموزش نکات بهداشتی در هنگام شستشوی سبزیجات، با هدف کاهش تعداد اووسیست و نه از بین بردن آنها گامی مهم جهت پیشگیری از آلودگی کریپتوسپوریدیایی در انسان می باشد. انجام مطالعات

کامل تر با هدف کسب اطلاعات همه گیر شناسی در این منطقه و دیگر نقاط کشور ضروری بنظر می رسد.

تشکر و قدردانی:

این پژوهش با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شیراز انجام شده و بدینوسیله از مسئولین محترم قدردانی می گردد. نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی و نیز خانم فاطمه نجاتی به خاطر همکاری در انجام مراحل آزمایشگاهی قدردانی می نمایند.

منابع:

1. MacKenzie WR, Schell WL, Blair KA, Addiss DG, Peterson DE, Hoxie NJ, et al. Massive outbreak of waterborne cryptosporidium infection in Milwaukee, Wisconsin: recurrence of illness and risk of secondary transmission. *Clin Infect Dis*. 1995; 21(1): 57-62.
2. Slifko TR, Smith HV, Rose JB. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. *Int J Parasitol*. 2000; 30: 1379-93.
3. Hayes EB, Matte TD, O'Brien TR, McKinley TW, Logsdon GS, Rose JB, et al. Large community outbreak of cryptosporidiosis due to contamination of a filtered public water supply. *N Engl J Med*. 1989; 320(21): 1372-6.
4. Hamedi Y, Safa O, Haidari M. Cryptosporidium infection in diarrheic children in southeastern Iran. *Pediatr Infect Dis J*. 2005; 24(1): 86-8.
5. Mirzaei M. Prevalence of cryptosporidium sp. Infection in diarrheic and non-diarrheic humans in Iran. *Korean J Parasitol*. 2007; 45(2): 133-7.
6. Zali MR, Mehr AJ, Rezaian M, Meamar AR, Vaziri S, Mohraz M. Prevalence of intestinal parasitic pathogens among HIV-positive individuals in Iran. *Jpn J Infect Dis*. 2004; 57(6): 268-70.
7. Nahrevanian H, Assmar M. Cryptosporidiosis in immunocompromised patients in the Islamic Republic of Iran. *J Microbiol Immunol Infect*. 2008; 41(1): 47-7.
8. Seyrafian S, Pestechchian N, Kerdegari M, Yousefi HA, Bastani B. Prevalence rate of Cryptosporidium in hemodialysis patients in Iran. *Hemodial Int*. 2006; 10(4): 375-9.
9. Tzipori S, Ward H. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. *Microbes Infect*. 2002; 4(10): 1047-58.
10. Pirestani M, Sadraei J, Dalimi Asl A, Zavvar M, Vaeznia H. Molecular characterization of Cryptosporidium isolates from human and bovine using 18sr RNA gene in Shahriar county of Tehran, Iran. *Parasitol Res*. 2008; 103: 467-72.
11. Robertson LJ. Giardia and Cryptosporidium infections in sheep and goats: a review of the potential for transmission to humans via environmental contamination. *Epidemiol Infect*. 2009; 10: 1-9.
12. Keshavarz A, Haghighi A, Athari A, Kazemi B, Abdi A, Mojarad EN. Prevalence and molecular characterization of bovine Cryptosporidium in Qazvin province, Iran. *Vet Parasitol*. 2009; 160(3-4): 316-8.

13. Mons C, Dumetre A, Gosselin S, Galliot C, Moulin L. Monitoring of cryptosporidium and Giardia river contamination in Paris area. *Water Res.* 2009; 43: 211-7.
14. Daryani A, Ettehad GH, Sharif M, Ghorbani L Ziaei H. Prevalence of intestinal parasites in vegetables consumed in Ardabil, Iran. *Food Control.* 2008; 19: 790-94.
15. Robertson LJ, Gjerde B. Occurrence of parasites on fruits and vegetables in Norway. *J Food Prot.* 2001; 64(11): 1793-8.
16. Paula P, Rodrigues PS, Tortora JC, Uchoa CM, Farage S. Microbiological and alfaces (*Lactuca sativa*) de restaurantes self- parasitological lettuce (*Lactuca sativa*) contamination from self-restaurants and service in Niterói, RJ. *Rev Soc Brasil Med Rev Soc Bras Med Trop Trop.* 2003; 36(4): 535-7.
17. Henriksen SA, Pohlenz JFL. Staining of Cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acra Vet Scand.* 1981; 22: 594-6.
18. Shad-Del F. [The study on Cryptosporidium infection in human in Shiraz area. DVM thesis. 1997; 186.] Persian
19. Panahi M. [The study on Cryptosporidium infection in goats and kids in Shiraz area. DVM thesis. 1997; 687.] Persian
20. Roghani A. [The study on Cryptosporidium infection in sheep and lambs in Shiraz area. DVM thesis from Shiraz University. 1997; 623.] Persian
21. Hosseini A. [The study on Cryptosporidium infection in horses in Shiraz area. DVM thesis from Shiraz University. 1998; 727.] Persian
22. Farazpei M. [The study on Cryptosporidium infection in calves in Shiraz area. DVM thesis from Shiraz University. 1996; 599.] Persian
23. Moradi E. [The study on Cryptosporidium infection in broilers in Shiraz area. DVM thesis from Shiraz University. 1997; 626.] Persian
24. Pourmirblook-Jalali F. [The study on Cryptosporidium infection in pigeons in Shiraz area. DVM thesis from Shiraz University. 1997; 406.] Persian