

میزان شیوع کریپتوسپوریديوم در گوساله های شیری شهرستان مشهد

اسد پور، م.^۱، رزمی، غ. ر.*^۲، محمدی، غ. ر.^۳، نقیعی، ا.^۲

دریافت: ۱۳۹۱/۰۳/۰۹ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۲/۰۱

خلاصه

کریپتوسپوریديوم یکی از تک یاخته‌های انگلی متداول بوده که طیف وسیعی از میزبانان شامل حیوانات و انسان را آلوده می کند و شیوع جهانی دارد. در این مطالعه جهت تعیین میزان شیوع کریپتوسپوریديوم در گوساله‌های شیری، مدفوع ۳۰۰ راس گوساله زیر یک ماه از ۹ گاوداری منطقه مشهد به صورت تصادفی جمع آوری شد. برای تشخیص اووسیست، از نمونه ها گسترش تهیه شده و به روش زیل - نیلسون اصلاح شده رنگ آمیزی شدند. فراوانی آلودگی به کریپتوسپوریديوم ۲۸/۳ درصد (نمونه ۸۵) تعیین گردید (95% CI, 0.283±0.048). که از این تعداد، ۴۵ مورد همراه با اسهال (۱۰۰ درصد) و ۴۰ مورد (۱۳/۳۳ درصد) بدون اسهال بود. شیوع کریپتوسپوریديوم به طور قابل توجهی در گروه اسهالی بیشتر از گروه غیر اسهالی بود ($P < 0.05$). همچنین بالاترین میزان آلودگی مربوط به گروه سنی ۸ - ۱۴ روز بود ($P < 0.05$). اما اختلاف آماری معنا داری بین میزان آلودگی به کریپتوسپوریديوم و جنس مشاهده نشد ($P > 0.05$). این مطالعه نشان داد که با آزمایش مدفوع و رنگ آمیزی گسترش‌ها، می توان کریپتوسپوریديوزیس را در گوساله‌ها به ویژه گوساله‌های اسهالی تشخیص داد و به اهمیت آن به عنوان یک خطر بالقوه در انتقال آلودگی به انسان پی برد.

واژه‌های کلیدی: کریپتوسپوریديوم، شیوع، گوساله شیری، مشهد.

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۲. گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۳. گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

با توجه به اهمیت زئونوتیک بیماری و همچنین اهمیت اسهال ناشی از آن در دام های نوزاد و جهت آگاهی از میزان آلودگی منطقه این مطالعه لازم و ضروری است. لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان آلودگی به تک یاخته کریپتوسپوریديوم در گوساله های شیری زیر یک ماه گاوداری های اطراف مشهد می باشد.

مواد و روش ها

۱. جمع آوری نمونه ها

بر مبنای تعداد نمونه در مطالعه قبل (Afshari Safavi و همکاران، ۲۰۱۱) و محاسبات آماری جهت انجام این تحقیق، تعداد ۳۰۰ نمونه مدفوع از گوساله های شیری زیر یک ماه (۱۴۵ نر و ۱۵۵ ماده)، از گاوداری های اطراف شهرستان مشهد جمع آوری شد. نمونه ها در فصل بهار و با هدف تعیین میزان آلودگی به کریپتوسپوریديوم به صورت تصادفی جمع آوری شدند. نمونه ها مستقیماً از رکتوم جمع آوری شده و مشخصات گوساله ها (سن و جنس) در روی ظرف مربوط به هر نمونه ثبت گردید، و به دلیل فاصله زمانی زیاد بین نمونه گیری و انجام رنگ آمیزی به نمونه ها دی کرومات پتاسیم ۲/۵ درصد اضافه گردید (Thomaz و همکاران، ۲۰۰۷). تمام نمونه ها جهت تشخیص به آزمایشگاه منتقل شده و تا موقع رنگ آمیزی در دمای 4°C قرار داده شدند.

۲. بررسی آزمایشگاهی

در آزمایشگاه نمونه ها پس از رنگ آمیزی زیل - نیلسون اصلاح شده، جهت تشخیص تک یاخته کریپتوسپوریديوم بررسی شدند (Casemore و همکاران، ۱۹۸۵). بدین صورت که یک قطره از سوسپانسیون مدفوع جهت انجام رنگ آمیزی به روی لام منتقل شد. پس از تهیه گسترش و خشک شدن آن، در مرحله بعد گسترش ها به مدت ۵ دقیقه با متانول تثبیت و سپس با روش زیل - نیلسون اصلاح شده که در آن اووسیست های انگل به شکل اجسام گرد و قرمز در زمینه سبز مشاهده می شوند، مورد رنگ آمیزی قرار گرفتند. در این تکنیک رنگ آمیزی، اووسیست ها رنگ قرمز را به خود جذب کرده و سایر اجزاء غیر اسید فاست رنگ سبز مالاشیت گرین را به خود می گیرند. بنابراین اووسیست های کریپتوسپوریديوم از باکتری ها، سلول ها و مخمرها به راحتی قابل تفکیک می باشند (Casemore و همکاران، ۱۹۸۵). سپس گسترش ها با استفاده از میکروسکوپ نوری و عدسی ۱۰۰ جهت تشخیص اووسیست های انگل مورد مشاهده قرار گرفتند.

۳. تجزیه و تحلیل آماری نتایج

کریپتوسپوریديوم توسط تک یاخته ای کوچک از کوکسیدیاها از جنس کریپتوسپوریديوم ایجاد می شود. این انگل اولین بار در سال ۱۹۰۷ توسط ارنست ادوارد تایزر، انگل شناس آمریکایی در ایتالیوم غد مدعه موش مشاهده و شناسایی گردید (آل داوود و اکبرین، ۱۳۸۴؛ فایر، ۱۳۸۰). این تک یاخته تاکنون از ماهی، قورباغه، لاک پشت، فرت، راکون، کیسه داران، خوک، خرگوش، مار، نشخوارکنندگان، تک سمیان، گربه سانان، خرس، هامستر، خوکچه هندی، موش صحرائی و خانگی و پرندگان گزارش گردیده است (فایر، ۱۳۸۰). جایگاه این انگل اغلب در روده است و عفونتی که توسط ژنوتیپ ها و فنوتیپ های گوناگونی از گونه های کریپتوسپوریديوم ایجاد می شود، می تواند از یک عفونت گسترده بدون علامت و نادر تا یک بیماری روده ای حاد در انسان و دام دیده شود. گاهی اسهال ناشی از آن انتریت شدید و کشنده بوده و گاهی هم بیماری در پرندگان علائم تنفسی ایجاد می کند. کریپتوسپوریديوم در میان پستانداران اختصاصی نیست به همین دلیل باید به عنوان یک عامل زئونوتیک مورد توجه قرار گیرد (آل داوود و اکبرین، ۱۳۸۴). اگرچه شناخت کریپتوسپوریديوم اولین بار در آمریکا مورد توجه قرار گرفت و اولین اپیدمی آن در ایالت ویسکانسین این کشور گزارش شد (Mackenzie و همکاران، ۱۹۹۵)، ولی امروزه حضور این تک یاخته در تمامی کشورهای جهان به اثبات رسیده است و اهمیت مشترک بودن آن بین انسان و دام باعث شده که در مطالعات علوم پزشکی و دامپزشکی جایگاه خاصی را به خود اختصاص دهد. تولید اووسیست های بسیار مقاوم و داشتن طیف وسیعی از میزبانان از شگردهای این انگل برای حفظ بقاء و تکامل آن در طبیعت است (آل داوود و اکبرین، ۱۳۸۴؛ Fayer و همکاران، ۲۰۰۰). در میان بررسی هایی که از جنبه های گوناگون این تک یاخته به عمل می آید، اساسی ترین آنها شناخت و تشخیص وجود این انگل می باشد تا با توجه به چرخه زندگی و شیوه ی پراکنش انگل، اقدامات لازم برای کنترل و پیشگیری از بیماری انجام پذیرد (آل داوود و اکبرین، ۱۳۸۴). انتقال این تک یاخته از راه مدفوعی - دهانی و از راه خوردن اووسیست بوده و عفونت داخلی در این بیماری ثابت شده است (Fayer و همکاران، ۲۰۰۰). کریپتوسپوریديوم به عنوان یکی از مهمترین عوامل ایجاد اسهال در گوساله های تازه به دنیا آمده شیری در اغلب نقاط جهان شناخته شده است (فایر، ۱۳۸۰). عفونت های کریپتوسپوریديومی یکی از چهار عامل رایج ایجاد اسهال در گوساله های شیرخوار می باشد (توسلی، ۱۳۸۵)، این انگل در گوساله ها و دام های جوان به دلیل نبود سیستم ایمنی کارا اجازه فعالیت پیدا کرده و مشکلات زیادی را در امر پرورش دام های جوان به ویژه گوساله های شیری و گوشتی ایجاد می کند (فایر، ۱۳۸۰).

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار Excel 2007 و نرم افزار SPSS ویراست ۲۰ و آزمون مربع کای انجام گرفت.

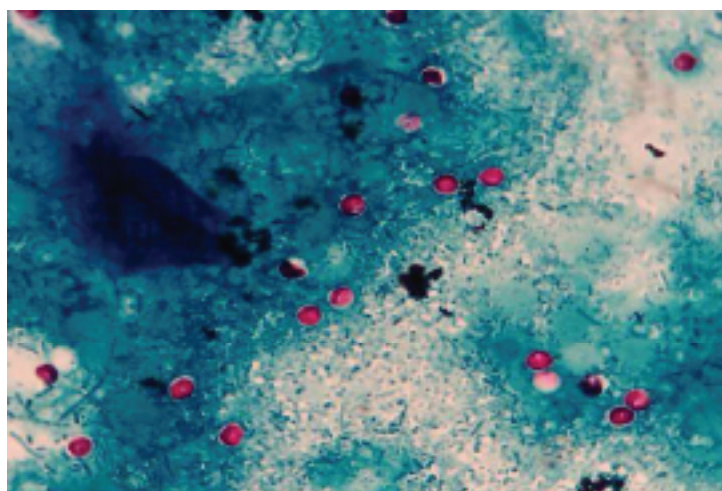
نتایج

در مطالعه حاضر نمونه های مدفوع ۳۰۰ گوساله شیری زیر یک ماه گاوداری های اطراف مشهد در سال ۱۳۹۱ از لحاظ میزان آلودگی مورد بررسی قرار گرفتند. از ۳۰۰ گوساله مورد بررسی در این تحقیق ۸۵ نمونه (۲۸/۳ درصد) مثبت تشخیص داده شد (تصویر ۱) (95% CI, 0.283±0.048). میزان آلودگی در گروه سنی ۱۴ - ۸ روز به طور قابل توجهی بالا بود، و شیوع میزان آلودگی به کریپتوسپوریديوم در جنس نر ۴۶ مورد (۳۱/۷۲ درصد) و در جنس ماده ۳۹ مورد (۲۵/۱۶ درصد) بود. اختلاف آماری معنی داری بین میزان آلودگی به کریپتوسپوریديوم و جنس مشاهده نشد (P>۰/۰۵)، (جدول ۱). شیوع میزان آلودگی بر حسب سن، گوساله های ۱ - ۷ روز ۱۷ مورد (۳۷/۷۷ درصد)، ۸ - ۱۴ روز ۲۸ مورد (۵۸/۳۳ درصد)، ۱۵ - ۲۱ روز ۱۷ مورد (۳۰/۹۰ درصد) و ۲۲ - ۳۰ روز ۲۳ مورد (۱۵/۱۳ درصد) شناسایی شد. تحلیل آماری نتایج نشان داد که اختلاف آماری معنی داری در میزان آلودگی به کریپتوسپوریديوم بر حسب سن وجود داشت (P<۰/۰۵)، (جدول ۲). همچنین بیشترین تعداد نمونه مثبت مربوط به گوساله های ۸ - ۱۴ روز و کمترین تعداد مربوط به گوساله های ۲۲ - ۳۰ روز بود (نمودار ۱). فراوانی میزان آلودگی به کریپتوسپوریديوم در گروه های اسهالی و غیر اسهالی به ترتیب ۴۵ مورد (۱۰۰ درصد) و ۴۰ مورد

که به طور معنی داری در گروه اسهالی نسبت به گروه غیر اسهالی بیشتر بود (P<۰/۰۵)، (جدول ۱). بالاترین خطر آلودگی با کریپتوسپوریديوم در گوساله های اسهالی مربوط به گوساله های ۱ - ۷ روزه و کمترین آن در گوساله های با سن ۲۲ - ۳۰ روز شناسایی شد (نمودار ۲). همچنین شدت آلودگی در گوساله های با سن پایین تر بیشتر بوده و با افزایش سن میزان آلودگی کاهش می یابد.

بحث

مطالعه حاضر به منظور بررسی میزان شیوع تک یاخته کریپتوسپوریديوم در گوساله های شیری زیر یک ماه گاوداری های مشهد و با نمونه گیری از ۳۰۰ گوساله و به شکل تصادفی در بهار سال ۱۳۹۱ انجام گرفت. ۸۵ گوساله (۲۸/۳ درصد) مثبت (95% CI, 0.283±0.048) تشخیص داده شد. میزان آلودگی گزارش شده در این بررسی در مقایسه با نتایج بدست آمده ای که در مشهد انجام گرفته است (۳۶/۶ درصد) کمتر بود (Afshari Safavi و همکاران، ۲۰۱۱)، گوساله های زیر یک ماه اسهالی در این مطالعه آلودگی ۱۰۰٪ (۴۵/۴۵) داشتند، که این میزان آلودگی در گروه گوساله های اسهالی، نسبت به مطالعه مشابه بالاتر است (Afshari Safavi و همکاران، ۲۰۱۱)، همچنین شیوع کریپتوسپوریديوزیس در این مطالعه در مقایسه با مطالعه کشاورز و همکاران (۲۰۰۹) بیشتر است (Keshavarz و همکاران، ۲۰۰۹)، و این میزان آلودگی در کشورهای دیگر (۱۰۰ - ۴۸ درصد) بالاتر بود (Becher و همکاران، ۲۰۰۴؛



تصویر ۱. اووسیست کریپتوسپوریديوم - رنگ آمیزی زیل نیلسون اصلاح شده (بزرگنمایی ۱۰۰۰×)

تعداد کل (%)	میزان آلودگی		جنس
	درصد	تعداد	
۱۴۵ (۴۸/۳۳)	۳۱/۷۲	۴۶	نر
۱۵۵ (۵۱/۶۶)	۲۵/۱۶	۳۹	ماده
۳۰۰	۲۸/۳	۸۵	جمع

جدول ۱- توزیع فراوانی میزان آلودگی به تک یاخته کریپتوسپوریدیوم در گوساله‌ها برحسب جنس

$$\chi^2 = 1.58, \text{ d.F.} = 1$$

$$P > 0.05$$

تعداد کل	میزان آلودگی		سن
	درصد	تعداد	
۴۵	۳۷/۷۷	۱۷	۱ - ۷ روز
۴۸	۵۸/۳۳	۲۸	۸ - ۱۴ روز
۵۵	۳۰/۹۰	۱۷	۱۵ - ۲۱ روز
۱۵۲	۱۵/۱۳	۲۳	۲۲ - ۳۰ روز
۳۰۰	۲۸/۳	۸۵	تعداد کل

جدول ۲- توزیع فراوانی میزان آلودگی به تک یاخته کریپتوسپوریدیوم در گوساله‌ها برحسب سن

$$\chi^2 = 50.5, \text{ d.F.} = 3$$

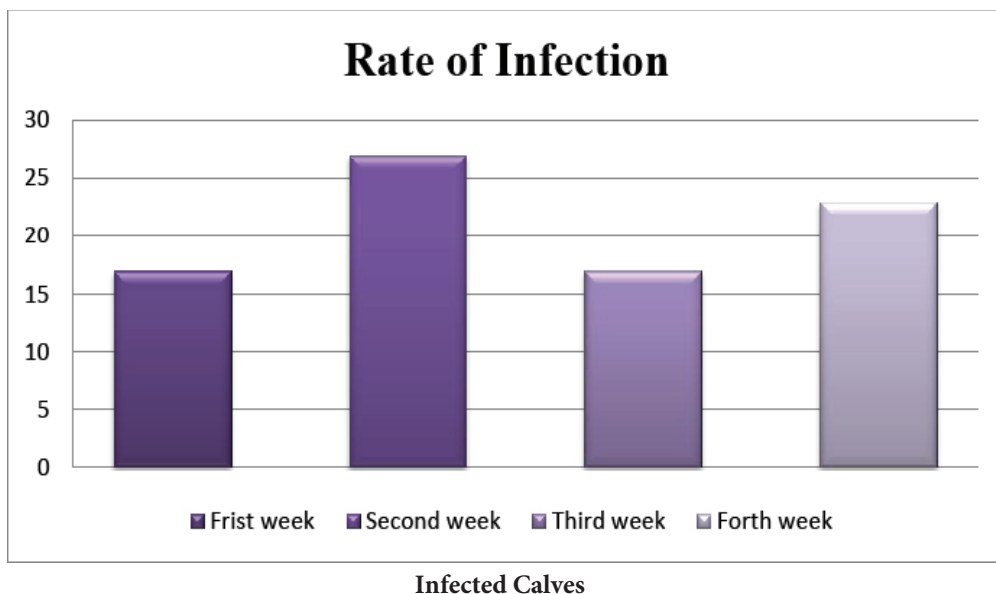
$$P < 0.0001$$

تعداد کل	میزان آلودگی		قوام مدفوع
	درصد	تعداد	
۴۵	۱۰۰	۴۵	اسهالی
۲۵۵	۱۵/۶۸	۴۰	غیر اسهالی
۳۰۰		۸۵	جمع

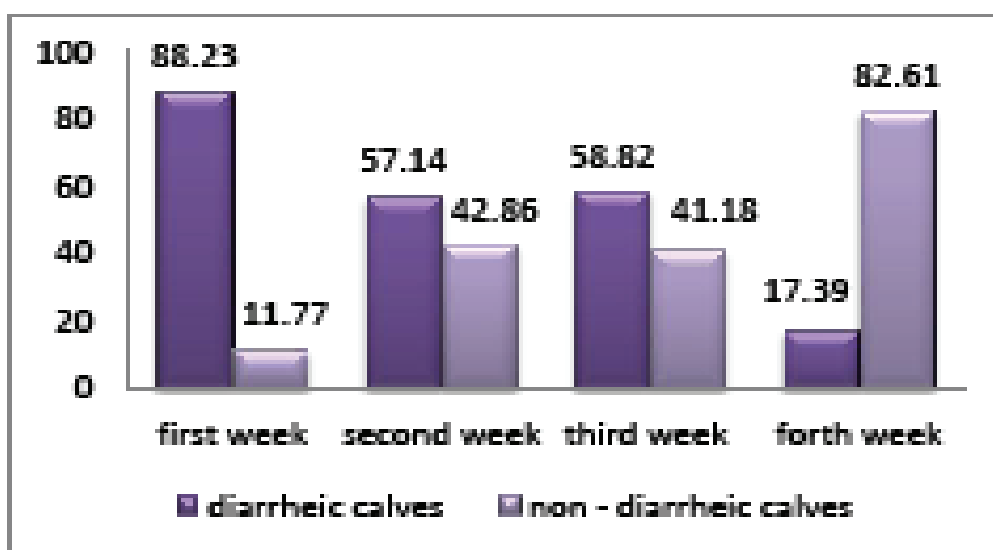
جدول ۳- توزیع فراوانی میزان آلودگی به تک یاخته کریپتوسپوریدیوم در گوساله‌ها برحسب قوام نمونه مدفوع

$$\chi^2 = 40.35, \text{ d.F.} = 3$$

$$P < 0.0001$$



نمودار ۱. توزیع فراوانی میزان آلودگی به تک یاخته کریبتوسپورییدیوم در گوساله های شیری زیر یک ماه گاوداری های مشهد برحسب سن



نمودار ۲. توزیع فراوانی میزان آلودگی به تک یاخته کریبتوسپورییدیوم در گوساله های شیری زیر یک ماه گاوداری های مشهد برحسب قوام نمونه در گروه های سنی مختلف

Maddox-Hyttel و همکاران، ۲۰۰۶؛ Santín و همکاران، ۲۰۰۷). نتایج این مطالعه تقریباً با مطالعه ای که در کشور مالزی (۲۰۰۷) و رومانی (۲۰۱۱)، انجام شد، همخوانی داشت (Muhid و همکاران، ۲۰۱۱؛ Imre و همکاران، ۲۰۱۱). میزان آلودگی به کریپتوسپورییدیوم در گروه‌های سنی مختلف گوساله‌های اسپهالی طی مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Tzipori و همکاران، ۱۹۸۳؛ De la Fuente و همکاران، ۱۹۹۹). در این مطالعه بالاترین میزان آلودگی در گوساله‌های اسپهالی در گروه سنی ۱ - ۷ روز (۸۸/۲۳ درصد) مشاهده شد، که با نتایج مطالعه قبل در مشهد یکسان بود (Afshari Safavi و همکاران، ۲۰۱۱). اگرچه بیشترین گروه در معرض خطر آلودگی با کریپتوسپورییدیوم مربوط به گروه سنی ۸ - ۱۴ روز (۵۸/۳۳ درصد) و کمترین آن مربوط به گروه سنی ۲۲ - ۳۰ روز (۱۵/۱۳ درصد) شناسایی شد. معمولاً گوساله‌های آلوده شده با کریپتوسپورییدیوم پارووم علائم اسپهال را ۷۲ تا ۹۶ ساعت پس از آلودگی نشان می‌دهند. وجود آلودگی در گروه سنی ۱ - ۷ روز (۳۷/۷۷ درصد) نشان دهنده این است که بیشتر این گوساله‌ها سریعاً پس از تولد آلوده می‌شوند. همچنین در این مطالعه وابستگی قابل توجهی میان آلودگی با کریپتوسپورییدیوم و اسپهال وجود داشت، و خطر ایجاد اسپهال در گوساله‌هایی که اووسیست دفع می‌کردند بیشتر از گوساله‌های غیر آلوده بود. بسیاری از مطالعات گذشته نیز رابطه معناداری را میان دفع اووسیست و اسپهال نشان می‌دهند (Quilez و همکاران، ۱۹۹۶؛ Wade و همکاران، ۲۰۰۰؛ Trotz - Williams و همکاران، ۲۰۰۵؛ Maddox - Hyttel و همکاران، ۲۰۰۶؛ Castro - Hermida و همکاران، ۲۰۰۶؛ Geurden و همکاران، ۲۰۰۶؛ Singh و همکاران، ۲۰۰۶). تفاوت نتیجه حاصل از این مطالعه با سایر مطالعات گذشته را می‌توان ناشی از تفاوت‌های مدیریتی - بهداشتی، تغذیه، آب و هوایی و روش تشخیص اووسیست‌ها در مناطق مختلف دانست (Ramrez -

Barrios و همکاران، ۲۰۰۴). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که از ۸۵ نمونه مثبت ۴۵ نمونه اسپهالی و ۴۰ نمونه غیر اسپهالی بودند. تجزیه و تحلیل آماری نتایج در این مورد نشان می‌دهد که شدت آلودگی در گروه اسپهالی به طور معنی‌داری بیشتر است ($P < 0.05$) که با بررسی انجام شده قبلی همخوانی داشت (Afshari Safavi و همکاران، ۲۰۱۱). همچنین با بررسی شدت آلودگی مشخص شد که شدت آلودگی در گوساله‌های جوان تر بیشتر بوده و با افزایش سن آلودگی کاهش می‌یابد (Afshari Safavi و همکاران، ۲۰۱۱). مطالعات انجام گرفته در مناطق دیگر به خوبی نشان داد که کریپتوسپورییدیوم یکی از متداول‌ترین انگل‌های پاتوژن بوده که در گوساله نوزاد دیده می‌شود و ممکن است با یا بدون سایر عوامل پاتوژن روده‌ای شناسایی گردد (Bulgin و همکاران، ۱۹۸۲؛ Reynolds و همکاران، ۱۹۸۶؛ De la Fuente و همکاران، ۱۹۹۹). همچنین باید در نظر داشت که گوساله‌ها در سن ۱ تا ۲ هفته‌گی به عفونت‌های روتا ویروسی و کرونا ویروسی حساس هستند، لذا در تحقیقات مرتبط با اسپهال گوساله‌ها، باید احتمال حضور چندین عفونت در نظر گرفته شود (فایر، ۱۳۸۰). فعالیت گاوداری به شیوه صنعتی برای تولید شیر و گوشت در شهرستان مشهد از اهمیت زیادی برخوردار است. شهرستان مشهد با دارا بودن بیش از ۵۰۰ واحد گاوداری شیری و حدود ۷۰۰۰۰ راس گاو شیری از نظر ظرفیت تولید شیر و گوشت و تولیدات دامی دارای اهمیت زیادی در کشور است (Afshari Safavi و همکاران، ۲۰۱۱). این مطالعه پس از مطالعه Afshari Safavi و همکاران (۲۰۱۱)، برای دومین بار در سطح گاوداریهای مشهد انجام گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه اهمیت آلودگی کریپتوسپورییدیوم را در ایجاد اسپهال در گوساله‌های تازه متولد شده گاوداری‌های شیری شهرستان مشهد نشان داد و با توجه به زئونوز بودن این تک یاخته انگلی، لازم است اقدامات کنترل و پیشگیری در مورد این آلودگی در گاوداری‌های مشهد انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی پیش رو بر اساس نتایج بدست آمده از پروژه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد انگل‌شناسی تدوین شده است. در پایان نویسندگان از همکاری جناب آقای مهندس حمید عشرتی، کارشناس آزمایشگاه بخش انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد جهت همکاری در این طرح کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند.



Prevalence of *cryptosporidium* spp. infection in dairy calves in Mashhad

Asadpour, M.¹, Razmi, Gh.^{*2}, Mohammadi, Gh.³, Naghibi, A.²

Received: 29.05.2012

Accepted: 19.02.2013

Abstract

Cryptosporidium spp. are common intestinal protozoan parasites that infect a wide range of hosts, including human and animals, worldwide. The objective of this study was to determine the prevalence of *Cryptosporidium* spp. in dairy calves in Mashhad. Fecal samples were randomly collected from 300 pre-weaned calves (1-30 day-old) from 9 dairy farms located in different regions of Mashhad. The prevalence of *Cryptosporidium* spp. infections in these animals was determined by examining for the presence of oocysts in the fecal samples, using modified Ziehl-Neelson staining method. The overall *Cryptosporidium* oocysts were identified in 28.3% (85/300) of samples (95% CI, 0.283±0.048). Fecal samples were classified according to the consistency as diarrheic (45/300) and non-diarrheic (255/300). Diarrhea was recorded in 45 of the positive samples (100%). *Cryptosporidial* prevalence was significantly higher in diarrheic (100%) (45/45) versus non-diarrheic (13.33%) (40/300) calves ($p<0.05$). Also the highest rate of infection was in 8-14 day-calves ($p<0.05$). Statistically there was difference between sex and infection rate ($p>0.05$). This study confirmed that there is a potential risk of zoonotic transmission between dairy calves and humans, and routine fecal examination in dairy calves with persistent diarrhea is important.

Key words: *Cryptosporidium*, Dairy calve, Prevalence, Mashhad.

1. Graduated of M.S Parasitology from Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

3. Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

*Corresponding author: Razmi@fum.ac.ir

آل داود، ج، اکبرین، ح. ۱۳۸۴. مروری بر کریپتوسپورییدیوم و کریپتوسپورییدیوز، انتشارات دنیای اندیشه، تهران، ایران.
 فایز، ر. ۱۳۸۰. کریپتوسپورییدیوم و کریپتوسپورییدیوز، چاپ اول، ترجمه دکتر مجتبی یگانی، انتشارات نوربخش، تهران، ایران.
 توسلی، م. ۱۳۸۵. تک یاخته شناسی دامپزشکی، چاپ اول، انتشارات جهاد دانشگاهی، آذربایجان غربی، ارومیه، ایران

- Afshari Safavi**, E., Mohammadi, G., Naghibi, A., Rad, M. 2011. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. infection in some dairy herds of Mashhad (Iran) and its association with diarrhea in newborn calves. *Comparative Clinical Pathology*, **20**, 103–107.
- Becher**, K.A., Robertson, I.D., Fraser, D.M., Palmer, D.G., Thompson, R.C. 2004. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating from three sources in Western of Australia. *Veterinary Parasitology*, **123**, 1–9.
- Bulgin**, MS., Anderson, B.C., Alton, C.S., Evermann, J.F. 1982. Infectious agents associated with neonatal calf disease in southwestern Idaho and eastern Oregon. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, **180**, 1222-1226.
- Casemore**, D.P., Armstrong, M., Sands, R.L. 1985. Laboratory diagnosis of Cryptosporidiosis. *British Medical Journal*, **38**, 1337.
- Castro-Hermida**, J.A., Carro-Carral, C., Gonzalez-Warleta, M., Mezo, M. 2006. Prevalence and intensity of infection of *Cryptosporidium* spp. And *Giardia duodenalis* in dairy cattle in Galisia (NW Spain). *Journal of Veterinary Medicine B infection Disease Veterinary Public Health*, **53**, 244-246.
- De la Fuente**, R., Luzon, M., Ruiz-Santa-Quiteria, J.R., Garsia, R., Cid, D., Orden, J.A., Garsia, S., Sanz, R., Gomez-Bautista, M. 1999. *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1-30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. *Veterinary Parasitology*, **80**, 179-185.
- Fayer**, R., Morgan, U., Upton, S.J. 2000. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *International Journal for Parasitology*, **30**, 1305-1322.
- Geurden**, T., Goma, F.Y., SiWila, J., Phiri, I.G., Mwanza, A.M., Gabriel, S., Claerebout, E., Vercruysse, J. 2006. Prevalence and genotyping of *Cryptosporidium* in three cattle husbandry system in Zambia. *Veterinary Parasitology*, **138**, 217-222.
- Imre**, k., M. Lobo, L., Matos, O., Popescu, C., Genchi, C., Darabus, GH. 2011. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from pre-weaned calves in Romania: Is there an actual risk of zoonotic infections? *Veterinary Parasitology*, **181**, 321– 324.
- Keshavarz**, A., Haghghi, A., Athari, A., Kazemi, B., Abadi, A., Nazemalhosseini Mojarad, E., 2009. Prevalence and molecular characterization of bovine *Cryptosporidium* in Qazvin province, Iran. *Veterinary Parasitology*, **160**, 316–318.
- MacKenzie**, W.R., Schell, W.L, Blair, K.A., et al. 1995. Massive outbreak of waterborne *Cryptosporidium* infection in Milwaukee, Wisconsin: recurrence of illness and risk of secondary transmission. *Clinical Infectious Disease*, **21**, 57–62.

- Maddox – Hyttel**, C., Langkjaer, R.B., Enemark, H.L., Vigre, H. 2006. *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age group of Danish cattle and pigs---occurrence and management associated risk factors. *Veterinary Parasitology*, **141**, 48-59.
- Muhid**, A., Robertson, I., Ng, J., Ryan, U. 2011. Prevalence of and management factors contributing to *Cryptosporidium* sp. infection in pre-weaned and post-weaned calves in Johor, Malaysia. *Experimental Parasitology*, **127**, 534-538.
- Quilez**, J., Sanchez-Acedo, C., Del Cacho, E., Clavel, A., Causape, A.C. 1996. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle in Aragon (northeastern Spain). *Veterinary Parasitology*, **66**, 139-146.
- Radfar**, M.H., Molaei, M.M., Baghbannejasd, A. 2006. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. Oocysts in dairy Calves in Kerman, southeastern Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research* **7(2)**, 81-84.
- Ramrez – Barrios**, R.A., Barboza-Mena, G., Muoz, J., Angulo-Cubillin, F., Hernandez, E., Gonzalez, F., Escalona, F. 2004. Prevalence of intestinal Parasites in dogs under veterinary care in Maracaibo, Venezuela. *Veterinary Parasitology*, **121**, 11-20.
- Reynolds**, D.J., Morgan, J.H., Chanter, N., Jones, P.W., Bridger, J.C., Debney, T.G., Bunch, K.J. 1986. Microbiology of calves diarrhea in southern British. *Veterinary Record*, **119**, 34 -39.
- Santin**, M., Trout, J.M. 2007. Livestock. In: Fayer, R., Xiao, L. (Eds.), *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 451–483.
- Singh**, B.B., Sharma, R., Kumar, H., Banga, H.S., Aulakh, R.S., Gill, G.P., Sharma, J.K. 2006. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in Punjab (India) and its association with diarrhea neonatal dairy calves. *Veterinary Parasitology*, **140**, 162-165.
- Thomaz**, A., Meireles, M.V., Soares, R.M., Pena, H. F.J., Gennari, S.M. 2007. Molecular identification of *Cryptosporidium* spp. from fecal samples of felines, canines and bovines in the state of Sao Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*, **150**, 291–296.
- Trotz– Williams**, L.A., Jarvie, B.D., Martin, S.W., Leslie, K.E., Peregrine, A.S. 2005. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in southwestern Ontario and its association with diarrhea in neonatal calves. *Canadian Veterinary Journal*, **46**, 349-351.
- Tzipori**, S., Smith, M., Halpin, C., Angus, K.W., Sherwood, D., Campbell, I. 1983. Experimental *Cryptosporidium* in calves: clinical manifestations and pathological finding. *Veterinary Record*, **112**, 116-120.
- Wade**, S.E., Mohammad, H.O., Schaaf, S.L. 2000. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* sp., *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium muris* (*C.andersoni*) in 109 dairy herds in five countries of southeastern New York. *Veterinary Parasitology*, **93**, 1-11.

