تحقیقی

دارای رتبه علمی-پژوهشی
ازکمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

شناسایی ملکولی کریپتوسپوریدیوم پاروم در شیر خام گاو های استان اصفهان (سال ۱۳۹۲)

امیر شاکریان
دانشیار بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد،ایران

رضا شرافتی چالشتری
استادیار بهداشت مواد غذایی، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، ایران

علی اصغر کارشناس
دکتری دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، ایران

ابراهیم رحیمی
دانشیارگروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، ایران

نویسنده مسئول: امیر شاکریان

پست الکترونیک: amshakerian@yahoo.com

تلفن : ۰۹۱۳۳۸۱۲۰۱۳

آدرس: دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

دریافت: ۹٤/۱/۱۵
ویرایش پایانی: ۹٤/٤/۱۵
پذیرش: ۹٤/٤/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: *کریپتوسپوریدیوم پاروم تک یاخته‌ای زئونوز، که سبب کریپتوسپوریدیوزیس در انسان با عامل اسهال می شود. مواردی از شیوع آن در تمام جهان گزارش شده است. شیر، آب و فراورده‌های خام دامی یکی از راه های انتقال آن می باشند. هدف از این پژوهش شناسایی ژن hsp70 تک یاخته کریپتوسپوریدیوم پاروم در شیر خام بود.*

روش بررسی: *در این مطالعه توصیفی مقطعی، تعداد ۳۸ نمونه شیر خام از مخازن جمع آوری شیر در گاوداری های سنتی و نیمه صنعتی استان اصفهان به روش تصادفی جمع آوری شد. سپس جهت شناسایی تک یاخته در نمونه‌های شیر خام DNA جدا شده به روش واکنش زنجیره ای پلی مراز داخلی (Nested-PCR) مورد ارزیابی قرار گرفتند.*

یافته ها: تعداد ۲ نمونه شیرخام (۵/۲۶٪) آلوده به تک یاخته کریپتوسپوریدیوم پاروم بودند.

نتیجه گیری: *آلودگی شیر به کریپتوسپوریدیوم پاروم نسبت به سایر مواد غذایی مانند انواعی از سبزی‌ها و صدف های دریایی پایین تر بود. با توجه به انتقال آلودگی از طریق چنین مواد غذایی به انسان، کاهش آلودگی مواد غذایی و آموزش جهت پیشگیری از این بیماری ضروری است.*

واژه های کلیدی: *کریپتوسپوریدیوم پاروم، شیر، واکنش زنجیره ای پلیمراز*

آدرس مقاله
شاکریان ا، شرافتی چالشتری ر، کارشناس ع ا، رحیمی ع" شناسایی ملکولی کریپتوسپوریدیوم پاروم در شیر خام گاو های استان اصفهان (سال ۱۳۹۲)" مجله علوم آزمایشگاهی، مرداد و شهریور۹۴، دوره نهم (شماره ۳):۸۳-۸۸

مقدمه

عامل بیماری کریپتوسپوریدیوزیس، انگل تک یاخته ای است از شاخه‌ی اپی کمپلکسا به نام کریپتوسپوریدیوم پاروم که در سراسر جهان شایع است و می تواند انسان و حیوان را آلوده کند (۱). باعث ایجاد اسهال در انسان و بسیاری از مهره داران می‌شود (۲). مهم ترین راه انتقال آن روش مدفوعی-دهانی است (۳) که از طریق آب، شیر، فرآورده‌های دامی (۴)، انتقال مستقیم از طریق تماس فرد با فرد یا افرادی مانند دامپزشکان و کارگران دام داری‌ها که در معرض تماس با حیوانات هستند احتمال آلودگی وجود دارد (۵). با توجه به این که میزبان تعداد زیادی اووسیست عفونت زا و مقاوم در برابر انواع شرایط را از طریق مدفوع دفع می‌کند، لذا چرخه زندگی انگل در یک میزبان طی می‌شود (۶). اووسیست‌های انگل در مقابل عوامل محیطی مانند عوامل فیزیکی، گرما، سرما، خلا و خشکی مقاوم هستند (۷). به طوری که این اووسیست‌ها در حرارت ۶۵ درجه سلسیوس در مدت ۳۰ دقیقه و در سرمای ۱۸- درجه سلسیوس در طی ۲۴ دقیقه غیر فعال می‌شوند (۸). یکی از روش های شناسایی کریپتوسپوریدیوم پاروم، شناسایی ژن پروتئین شوک حرارتی ۷۰ کیلودالتونی (hsp70) است. این ژن به واسطه پاسخ به شوک های حرارتی، سبب تولید پروتئین های شوک حرارتی شده و سبب مقاومت ارگانیسم به استرس های محیطی می‌شود (۶، ۹). اوسیست‌ها قادرند برای مدت ۲ تا ۶ ماه در درجه حرارت ۴+ درجه سلسیوس بدون از دست دادن عفونت زایی محفوظ بمانند و در خلا نیز ۸ تا ۹ ماه قابلیت عفونت زایی دارند (۹،۸). نقص در سیستم ایمنی نیز یکی از عوامل بسیار مهم مستعد کننده‌ی ایجاد بیماری در افراد است، به طوری که در مبتلایان به ایدز علاوه بر نشانه‌های گوارشی، تورم مجاری صفراوی و کیسه‌ی صفرا نیز دیده می‌شود (۱۰). شیوع این بیماری در نقاط مختلف دنیا از ۶۰ تا ۸۳ درصد در بیماران با علائم گوارشی گزارش شده است (۱۱). شواهد اپیدمیولوژیکی ارتباط بین مصرف شیر خام و فراورده‌های تخمیری حاصل از شیر خام را در موارد کریپتوسپوریدیوزیس را نشان می‌دهد (۱۲). در ایران، در یک بیمارستان اطفال بندرعباس شیوع ۷ درصدی گزارش نمودند (۱۶). در بررسی دیگری از ۱۲۹ فرد دارای علائم اسهال و ۲۷۹ فرد سالم، ۱۰/۵ درصد آنها آلوده بودند (۱۷). در یک بررسی ۱/۵ درصد از آلودگی های انگلی افراد ایدزی را مربوط به کریپتوسپوریدیوم اعلام کردند (۱۸). در مطالعه دیگری بررسی های ملکولی مدفوع انسان و گاو های منطقه شهریار تهران نشان دهنده مشترک بودن ژنوتایپ برخی از ایزوله‌های انسانی با ژنوتایپ ایزوله‌های گاوی کریپتوسپوریدیوم بود (۱۹). در بررسی آلودگی سبزی ها از جمله کاهو را ۲۳/۵ درصد گزارش نمودند (۲۰). با توجه به اینکه مدفوع دام ها و همچنین خاک ها و آب های آلوده به مدفوع دام ها به عنوان یک منبع مهم در انتقال آلودگی بوده، همچنین به دلیل عدم روش های مناسب در شناسایی تک یاخته در شیر دام ها و عدم اطلاعات کافی در ایران در مورد شیوع کریپتوسپوریدیوم در مواد غذایی، هدف از این بررسی شناسایی ملکولی ژن *hsp70* کریپتوسپوریدیوم پاروم در نمونه های شیر خام جمع آوری شده از مخازن جمع آوری کننده شیر در گاوداری های سنتی و نیمه صنعتی در استان اصفهان در سال ۱۳۹۲ بود.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی مقطعی، تعداد ۳۸ نمونه شیر خام از مخازن جمع آوری شیر به صورت تصادفی از گاوداری‌های سنتی(۱۲ واحدگاوداری) و نیمه صنعتی(۲۶ واحدگاوداری) استان اصفهان در طی تابستان ۱۳۹۲ جمع آوری شد. نمونه ها در کنار یخ و در اسرع وقت به آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد انتقال داده شدند. جهت استخراج DNA، ابتدا از هر نمونه به مقدار ۵۰ میکرولیتر، ۱۰۰ میکرولیتر پروتئاز بافر و ۵ میکرو لیتر پروتئاز به داخل تیوپ‌های ۱/۵ میلی لیتری منتقل شد. محتویات آنها سانتریفیوژ شده و در دمای ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. سپس مقدار ۲۰۰ میکرولیتر محلول لایزیز بافر به محتویات اضافه و ورتکس شدند. به هر تیوپ مقدار ۲۰۰ میکرو لیتر محلول Percipitation اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از خروج از فریزر محتویات با دور ۱۲۰۰۰ rmp به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. پس از خروج مایع رویی با ۵۰۰ میکرو لیتر

محلول Washing رسوبات شستشو شدند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سلسیوس، رسوبات خشک شدند. در مرحله بعد به هر تیوپ مقدار ۵۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه و با کمک سمپلر مخلوط شدند. سپس ۵ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سلسیوس قرار داده تا DNA محلول شده و نهایتاً به مدت ۱ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفوژ شدند. برای اجرای PCR از پرایمر های اختصاصی کریپتوسپوریدیوم پاروم (ژن *hsp70*) با توالی های خارجی CPHSP2F (5'-AAATGGTGAGCAAT CCTCTG) و CPHSP2R (5'–CTTGCTGCTCTTACCAGTAC) پرایمر های داخلی‌شامل NesCPHF (5'-TGGTGGTGTTATGACCAAGC) و NesCPHR (5'-TGGTACACCTCTTGGTGCTG) استفاده شد (۲۱). جهت انجام آزمایش PCR و تکثیر قطعه ژنومی *bp* ۳۶۱ از دستگاه Master cycler gradient (Eppendorf Germany Co.) با حجم ۵۰ میکرو لیتر، واجد ۵ میکرو لیتر PCR buffer 10X، ۲ میلی مول $MgCl_2$، ۲۰۰ میکرومول dNTP، ۱/۲ میکرومول از پرایمر CPHSP2F و ۱/۲ میکرومول CPHSP2R، ۱ واحد آنزیم ۰/۲ واحدی Taq DNA Polymerase و ۱ میکرولیتر از DNA هر نمونه استفاده شد. برنامه حرارتی مورد استفاده عبارت بود از: یک سیکل ۹۴ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۳۰ سیکل شامل ۵۸ درجه سلسیوس ۳ دقیقه، ۶۱ درجه سلسیوس ۱دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس ۱دقیقه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳ دقیقه صورت گرفت. برای انجام مرحله دوم PCR و تکثیر قطعه ژنومی *bp* ۱۹۹ همانند مرحله قبل عمل شد با این تفاوت که به جای DNA نمونه از محصول PCR مرحله اول استفاده شد. تأیید وجود قطعه تکثیر یافته از ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد.

یافته ها

بر اساس نتایج بدست آمده حاصل از روش Nested-PCR و تکثیر قطعه ژنومی*bp* ۱۹۹، از تعداد ۳۸ نمونه شیر خام گاو جمع آوری شده از تانک های جمع آوری شیر، تعداد ۲ نمونه (۵/۲۶ درصد) حاوی این قطعه ژنومی مربوط به گاوداری های سنتی است و تعداد ۳۶ نمونه (۸۴/۷۴ درصد) فاقد قطعه ژنومی مورد نظر انگل تک یاخته کریپتوسپوریدیوم پاروم بودند.

بحث

در بررسی حاضر، وجود آلودگی کریپتوسپوریدیومی در نمونه های شیر خام گاو در استان اصفهان به اثبات رسید. این تک یاخته یکی از عوامل مهم منتقله از طریق آب، شیر خام و نمونه های غذایی خام و یا آلوده شده از طریق فاضلاب ها می باشد (۲۲). با توجه به اینکه اووسیت های انگل در برابر حرارت های بالا رونده حساس است و در ۶۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه از بین می رود لذا نیاز به استفاده از حرارت های پاستوریزاسیون جهت سالم سازی شیر و عدم انتقال انگل به انسان می باشد (۲۰). گزارش های متعددی از انتقال کریپتوسپوریدیوم از طریق مواد غذایی مانند انواع میوه ها، سبزیجات سالادی، صدف ها، حلزون و اسفناج در آمریکا، انگلستان و کشور های شمال اروپا وجود دارد (۲۳). در مطالعه Hong و همکاران در هویج، تمشک و کلم کریپتوسپوریدیوم پاروم به روش ملکولی شناسایی شد (۱۵).

روش های متفاوتی برای شناسایی این تک یاخته در مواد غذایی وجود دارد، البته عدم استفاده از روش های نوین و مولکولی می تواند در شناسایی مناسب تک یاخته در مواد غذایی اختلال ایجاد کند به طوری که انجام رنگ آمیزی اسید فاست و استفاده از تکنیک آنتی بادی فلورسانت از دقت بسیار بالایی بر خوردار نیستند(۲۴،۱۲). در مطالعه حاضر شناسایی تک یاخته مذکور در شیر خام گاو ها با روش مولکولی صورت گرفت ولی این روش قابلیت زیستی انگل و همچنین قدرت عفونت زایی آن را شناسایی نمی نماید و بنابراین استفاده از حرارت جهت سالم سازی شیر خام ضروری به نظر می رسد. مطالعات گذشته نشان داده اند که تعداد ۹ اووسیت انگل به عنوان دوز ۵۰ درصد عفونی کننده می باشد (۱۵). در مطالعات انجام شده مشخص گردید که دامداری ها و به خصوص گاوداری ها به عنوان یک نقش عمده در انتقال آلودگی برای انسان ها است (۱۵). بررسی ها نشان داده که بیشترین آلودگی انواع مواد غذایی در فصول بهار و تابستان

بوده است (۱۰). در یک بررسی توسط Minarovicova و همکاران نشان دادند که با روش Real time PCR می توان 10^2 اووسیت انگل را در آب، شیر و آب میوه سیب تشخیص داد در حالیکه با روش Nested PCR تعداد 10^1 اووسیت انگل را در آب، شیر و آب میوه سیب می توان تشخیص داد (۱۲). در مطالعه ای در چین، بیشترین آلودگی کریپتوسپوریدومی در گاوهای شیری و گوشتی مربوط به گونه های کریپتوسپوریدیوم آندرسونی(*Cryptosporidium andersoni*) و پاروم با استفاده از روش Nested PCR گزارش شد. همچنین میزان شیوع کریپتوسپوریدومی در گاو های گوشتی ۲۶/۵ درصد و در گاو های شیری ۳۲/۳ درصد بود (۲۵). در بررسی توسط زائو و همکاران در سال ۲۰۱۳، ارتباطی بین میزان آلودگی کریپتوسپوریدیومی و نژاد گاو ها مشاهده نشد. همچنین ارتباط معنی داری بین سن دام ها و میزان شیوع آلودگی به تک یاخته مذکور گزارش نمودند به طوری که در سن ۳ تا ۱۱ ماهگی گاوها، بیشترین آلودگی مشاهده شد. به هر حال آنها نشان دادند تمامی نمونه های مثبت مدفوع گاوها در روش میکروسکوپی، در روش Nested PCR بر اساس شناسایی ژن تحت واحد کوچک rRNA نیز مثبت بودند و آلوده به کریپتوسپوریدیوم آندرسونی بودند. میزان شیوع در گاو های شیری به تک یاخته مذکور ۲/۶۱ درصد بود (۲۶). در مطالعه حاضر نیز همسو با مطالعه های قبلی، روش مورد استفاده، به عنوان یک روش سریع و با حساسیت بالا برای شناسایی کریپتوسپوریدیوم پاروم در شیرخام گاوها مورد توجه است، هر چند که تفاوت بین گونه های شناسایی شده در مناطق جغرافیایی مختلف و همچنین نوع نمونه ها مشاهده می شود. در مطالعه دیگری آلودگی کاهو و باقالا را در نروژ ۶ درصد و منشا آلودگی را آب آلوده گزارش دادند(۹). در بررسی Paula و همکاران میزان آلودگی ۶۰ نمونه ماده غذایی تهیه شده از یک سلف سرویس در برزیل را ۲۶ درصد گزارش کردند (۲۷). در مطالعه حاضر آلودگی شیر های گاو خام مخازن جمع آوری شیر را ۵/۲۶ درصد گزارش می گردد که نسبت به گزارشات قبلی کمتر بود. همچنین عامل انتقال آلودگی احتمالاً می تواند ناشی از مصرف آب آلوده درشستشوی مخازن جمع آوری شیر و یا آلودگی ناخواسته مدفوعی در زمان شیر دوشی به ویژه در گاوداری های سنتی باشد. آلودگی های انسانی و حیوانی در بررسی های دیگر اثبات شده و به طور نمونه می توان به شیوع ۸ درصد کریپتوسپوریدیوزیس انسانی در شیراز (۲۸)، ۹ درصد در اسب (۲۹)، ۸ درصد گوسفند و بز و در نهایت گاوهای ماده ۱۲/۹۳ درصد (۳۰) اشاره کرد. بنابراین نقش آلوده کننده حیوانات در ایجاد عفونت در انسان به اثبات رسیده و بنابراین اقدامات پیشگیرانه در تامین آب بهداشتی و عدم آلودگی ها با فضولات دامی ضروری به نظر می رسد (۲۰). در بررسی رضوی و همکاران در شیراز و بر روی کاهو های موجود در بازار نشان دادند که آلودگی کاهوها ارتباط معنی داری با فصول و به ویژه بهار و تابستان وجود ندارد (۲۰) ولی در یک بررسی مشخص گردید که آلودگی صدف ها در ایتالیا بیشتر در فصول بهار و تابستان بود (۱۰). در مطالعه دیگری توسط Mesgarian و همکاران شیوع کریپتوسپوریدیوزیس را در کودکان گنبد کاووس مبتلا به اسهال ۴/۹ درصد گزارش کردند که این شیوع در فصول بهار و زمستان بیشتر بود و همچنین ارتباط آلودگی انگلی با نگهداری دام مشخص شد(۱۱). با این حال در مطالعه حاضر اثر فصل بررسی نشد ولی نمونه گیری در فصل تابستان صورت گرفت.

نتیجه گیری

هر چند که آلودگی به *کریپتوسپوریدیوم پاروم* در شیر خام گاوهای استان اصفهان مشاهده شد ولی در مقایسه با آلودگی سایر مواد غذایی مانند سبزی‌ها و صدف های دریایی پایین تر بود. بنابراین با توجه به انتقال آلودگی از طریق چنین مواد غذایی به انسان، کاهش آلودگی مواد غذایی و آموزش برای پیشگیری از این بیماری ضروری است. این مطالعه احتمالاً جزء اولین مطالعات شناسایی *کریپتوسپوریدیوم* در شیر خام گاو در ایران است. بنابراین پیشنهاد می گردد که بررسی های اپیدمیولوژیکی گسترده ای برای آلودگی سایر مواد غذایی در مورد این تک یاخته صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاران مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد تقدیر و قدردانی به عمل می آید.

References

1. Dehghani R, Seyedi HR, Dehqan S, Sharifi H. *Geographical distribution of mouse and mouse-borne diseases in Iran: a review article.* Feyz. 2013; 17(2): 203-219. [Persian].

2.Current W, Garsia lS. *Cryptosporidiosis*. Clin Microbial Rev. 1991; 4(3): 325-358.

3.Osaki SC, Soccol VT, Costa AO, Oliveira-Silva MB, Pereira JT, Procopio AE. *Polymerase chain reaction and nested-PCR approaches for detecting Cryptosporidium in water catchments of water treatment plants in Curitiba, State of Paraná, Brazil.* Rev Soc Bras Med Trop. 2013; 46(3): 270-276.

4.Krindges MM, Almeida AB, Araujo DN, Stefani LM, da Silva AS. *Parasitological and Molecular Detection of Cryptosporidium parvum in Rheas (Rhea americana).* Acta Sci Vet. 2013; 41(Suppl 1): 1-4.

5.Mandore MS. *Occurance of cryptosporidium oocyst in sewage effluents and selected surface waters.* J Parasite.1987; 73(4): 702-5.

6.Smith HV. *Environmental aspects of Cryptosporidium species: a review*. J R Soc Med. 1990; 83(10): 629-631.

7.Whitmire WM, Harp JA. *Characterization of Bovine cellular and serum antibody response during infection by Cryptosporidium Parvum*. Infect and Immun. 1991; 59(3): 990-995.

8.Naciri N, Lefai MP, Mancassola P, Poirer P, Cheremette R. *Role of Cryptosporidium. Parvum as pathogen in neonatal diarrhea complex in sucking and daily calves in France.* Vet parasitol. 1999; 85(4): 245-257.

9.Robertson LJ, Gjerde B. *Occurrence of parasites on fruits and vegetables in Norway.* J Food Prot. 2001; 64(11): 1793-1798.

10. Giangaspero A, Papini R, Marangi M, Koehler AV, Gasser RB. *Cryptosporidium parvum genotype IIa and Giardia duodenalis assemblage A in Mytilus galloprovincialis on sale at local food markets*. Int J Food Microbiol. 2014; 171: 62-67.

11.Mesgarian F, Sharbatkhori M, Mohammadi R, Rajabi MH. *Prevalence of Cryptosporidium among Diarrheic Children Hospitalized in Gonbad Kavus City, 2011*. MLJGOUMS. 2015; 8(5): 111-118. [Persian].

12.Minarovičová J, Kaclíková E, Krascsenicsová K, Siekel P. *Detection of Cryptosporidium parvum by polymerase chain reaction.* J Food Nutr Res. 2007; 46(2): 58-62.

13.Laberge I, Ibrahim A, Barta JR, Griffiths MW. *Detection of Cryptosporidium parvum in raw milk by PCR and oligonucleotide probe hybridization.* Appl Environ Microbiol.1996; 62(9): 3259-3264.

14.Gharagozlou MJ, Khodashenas M. *Cryptosporidiosis in a native rooster with chronic proliferative enteritis.* Archiva Vet. 1985; 17: 129-138.

15.Hong S, Kim K, Yoon S, Park WY, Sim S, Yu JR. *Detection of Cryptosporidium parvum in Environmental Soil and Vegetables*. J Korean Med Sci. 2014; 29(10): 1367-1371.

16.Hamedi Y, Safa O, Haidari M. *Cryptosporidium infection in diarrheic children in southeastern Iran*. Pediatr Infect Dis J. 2005; 24(1): 86-8.

17.Mirzaei M. *Prevalence of cryptosporidium sp. Infection in diarrheic and non-diarrheic humans in Iran.* Korean J Parasitol. 2007; 45(2): 133-7.

18.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.

19.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(2): 467-72.

20.Razavi SM, Nasirinasab-Rafsanjani M, Bahrami S. *A study on Cryptosporidium contamination in lettuce collected from different areas in Shiraz.* J Shahrekord Univ Med Sci. 2010; 12(2): 44-50. [Persian]

21.Nikaeen M, Mesdaghinia AR, Tehrani MJ, Rezaeian M, Makimura K. *A Nested-PCR assay for detection of Cryptosporidium parvum oocysts in water samples.* Iranian J Publ Health. 2005; 34(1): 13-18.

22.Domingo CYJ, Dionision RDCA, Lanzanida GC, Corales RMI. *Human and caprine cryptosporidiosis among smallhold farms in aurora province, philippines.* Philipp J Vet Anim Sci. 2012; 38(1): 53-62.

23.Robertson LJ, Gjerde B. *Occurrence of parasites on fruits and vegetables in Norway*. J Food Prot. 2001; 64(11): 1793-1798.

24.Uppal B, Singh O, Chadha S, Jha AK. *A Comparison of Nested PCR Assay with Conventional Techniques for Diagnosis of Intestinal Cryptosporidiosis in AIDS Cases from Northern India.* J Parasitol Res. 2014; DOI: 10.1155/2014/706105.

25.Zhao GH, Ren WX, Gao M, Bian QQ, Hu B, Cong MM, et al. *Genotyping Cryptosporidium andersoni in cattle in Shaanxi province, Northwestern China.* PLoS One. 2013; 8(4): e60112. DOI: 10.1371/journal.pone.0060112.

26.Ma J, Li P, Zhao X, Xu H, Wu W, Wang Y, et al. *Occurrence and molecular characterization of Cryptosporidium spp. and Enterocytozoon bieneusi in dairy cattle, beef cattle and water buffaloes in China.* Vet Parasitol. 2015; 207(3): 220-227.

27.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): 535-537.

28.Shad-Del F. *The study on Cryptosporidium infection in human in Shiraz area. DVM thesis.* 1997; 186. [Persian].

29.Hosseini A. *The study on Cryptosporidium infection in horses in Shiraz area. DVM thesis from Shiraz University.* 1998; 727. [Persian].

30.Farazpei M. *The study on Cryptosporidium infection in calves in Shiraz area. DVM thesis from Shiraz University.* 1996; 599. [Persian]

Molecular Detection of Cryptosporidium Parvum in Cow's Raw Milk in Isfahan Province, 2013

Shakerian, A. (PhD)
Associate Professor of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

Sharafati-chaleshtori, R. (PhD)
Assistant Professor of Food Hygiene, Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Karshenas, AA. (DVM)
Doctor of Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Rahimi, E. (PhD)
Associate Professor of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

Corresponding Author:
Shakerian, A

Email: amshakerian@yahoo.com

Received: 4 Apr 2015
Revised: 6 Jul 2015
Accepted: 11 Jul 2015

Abstract

Background and Objective: Cryptosporidium parvum is a zoonotic protozoan parasite causing diarrheal cryptosporidiosis. Numerous outbreaks of cryptosporidiosis have been reported worldwide. The transmission via milk, water and raw animal products is one of the important ways. The aim of this study was the identification of hsp70 gene in Cryptosporidium parvum in raw cow's milk samples.
Material and Methods: In this cross sectional study, 38 raw cow's milk samples of bulk tank were randomly collected from traditional and semi industrial cattle farms in Isfahan. To identify the protozoa in milk samples, the extracted DNA was evaluated by Nested polymerase chain reaction (PCR).
Results: Based on Nested polymerase chain reaction, 2 samples (5.26%) were infected to Cryptosporidium parvum.
Conclusions: The contamination of milk with Cryptosporidium Parvum is less than that of the other foodstuffs. Thus, it is necessary to reduce food contamination and to have appropriate health education programs.

Keywords: Cryptosporidium Parvum, Milk; Polymerase Chain Reaction.

This paper should be cited as: Shakerian A, Sharafati-chaleshtori R, Karshenas AA, Rahimi E. [Molecular Detection of Cryptosporidium Parvum in Cow's Raw Milk in Isfahan Province, 2013]. mljgoums. 2015; 9(3): 83-88[Article in Persian]