

بررسی آلودگی انگل کریپتوسپوریدیوم در طیور گوشتی شهرستان خوی

سلمان قلی‌زاده^۱، مهدی رضائی*^۲، محمدرضا اصغرزاده^۳، سجاد عابدینی چمگردانی^۱

۱- دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

۲- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

۳- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه، ایران

دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۲

چکیده مبسوط

زمینه و هدف مطالعه: کریپتوسپوریدیوم انگل تک‌یاخته روده‌ای از شاخه اپی کمپلکسا است که بدلیل بیماری‌زایی در انسان، دام و طیور از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. انگل از طریق استقرار در سطح سلول‌های مخاطی دستگاه گوارش و تنفس سبب بیماری و اختلالات فیزیولوژیکی می‌شود. رعایت امنیت زیستی مناسب از مهم‌ترین عوامل جلوگیری از شیوع این بیماری است. هدف از این مطالعه شناسایی آلودگی انگل کریپتوسپوریدیوم در طیور گوشتی شهرستان خوی با استفاده از رنگ آمیزی ذیل نلسن اصلاح شده و تست مولکولی (واکنش زنجیره‌ای پلیمرز) PCR بود. **مواد و روش‌ها:** برای انجام این مطالعه‌ی توصیفی ۷۵ نمونه مدفوعی و ۷۵ سواب نایی از ۱۵ واحد مرغداری اخذ گردید. رنگ‌آمیزی ذیل نلسن اصلاح شده و تست مولکولی PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی جنس از نظر تکثیر قطعه ۸۳۳ جفت‌بازی بر مبنای ژن SSUrRNA بر روی نمونه‌ها انجام گرفت. **نتایج:** نتایج این مطالعه نشان داد از تعداد ۷۵ نمونه‌ی گوارشی، ۷ نمونه (۹/۳۳٪) از سه گله (۲۰٪) در رنگ‌آمیزی ذیل نلسون و تعداد ۳ نمونه (۴٪) از دو گله (۲/۶۶٪) در تست PCR بعد از مشاهده‌ی باند ۸۳۰ جفت‌بازی، مثبت ارزیابی شد. در ۷۵ نمونه تنفسی هیچ موردی در رنگ‌آمیزی ذیل نلسون و تست PCR مثبت شناسایی نشد. این مطالعه علاوه بر اینکه وجود عفونت کریپتوسپوریدیوم در پرندگان صنعتی شهرستان خوی را به اثبات می‌رساند. دقت و حساسیت بالای تست مولکولی PCR در تشخیص بیماری را نشان داد. شیوع کم کریپتوسپوریدیوم در مرغداری‌های شهرستان خوی نشان‌دهنده‌ی رعایت پروتکل‌های امنیت زیستی در این شهرستان می‌باشد **نتیجه‌گیری:** نتایج این تحقیق می‌تواند به عنوان یک رهیافت و کار اپیدمیولوژیک در منطقه، برای عفونت‌های تنفسی و گوارشی در طیور صنعتی مد نظر قرار بگیرد.

کلمات کلیدی: ذیل نلسون، PCR، تک‌یاخته، اپی کمپلکسا، ژن

*نویسنده مسئول: مهدی رضائی

آدرس: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

پست الکترونیک: mehdi.rezaei0734@iau.ac.ir

مقدمه

انگل ها موجودات زنده ای هستند که برای ادامه ی حیات، به طور دائم یا موقت، به میزبان خود وابسته اند و معمولاً باعث آسیب های متابولیکی، فیزیولوژیکی و ایمنی شناختی در میزبان می شوند. از میان انگل ها، در رده ی پروتوزوآها، از شاخه ی *Apicomplexa* ، تک یاخته ای به نام *Cryptosporidium* وجود دارد که به دلیل بیماری زایی در انسان، دام و طیور حائز اهمیت است (Jordan et al., 2008; Swayne, 2020). گونه های کریپتوسپوریديوم اولین بار توسط Clarke در سال ۱۸۸۵ به عنوان خوشه های اسپور روی اپیتلیوم معده ی موش توصیف شدند. در سال ۱۹۰۵، Tyzzer آن ها را در سلول های مخاط معده ی موش ها مشاهده کرد و آن ها را کریپتوسپوریديوم نامید (Beder, 2025). در سال ۱۹۵۵ نیز آقای Slavin ، کریپتوسپوریديوم را در بوقلمون گزارش کرد (Slavin, 1955). در دهه ی ۸۰ میلادی، کریپتوسپوریديوزیس بیشتر شناخته شد (Ahmadi Gharacheh et al., 2020). اولین بار در ایران، قراگوزلو و خدانشناس در سال ۱۹۸۵ این انگل را از خروس جدا کردند (Gharagozlou and Khodashenas, 1994). با توجه به زئونوتیک بودن انگل کریپتوسپوریديوم، این تک یاخته به عنوان یک عامل بیماری زای مهم در سلامت عمومی مطرح می باشد. در سال های اخیر، ابتلا به کریپتوسپوریديوزیس در انسان در سراسر جهان ایجاد نگرانی کرده است (Mahmoudi et al., 2020). بطوری که در ایران، حضرتی تپه و همکاران، ۱۶/۴٪ از کودکان سرطانی شهرستان ارومیه

را مبتلا به کریپتوسپوریديوم تشخیص دادند (Hazrati-Tepe et al., 2006). از میان ۳۱ گونه ی کریپتوسپوریديوم که مهره داران مختلف را آلوده می کنند، تنها چهار گونه ی *C. meleagridis* ، *C. baileyi* ، *C. galli* و *C. avium* پرندگان را مبتلا می سازند (Holubová et al., 2016; Ryan et al., 2016; Swayne, 2020). گسترش آلودگی کریپتوسپوریديوم بیشتر از طریق اوسیت های بستر، از مسیر مدفوعی-دهانی رخ می دهد و نوع گوارشی بیماری را سبب می شود. پراکندگی اوسیت های کریپتوسپوریديوم در هوا و استنشاق آن ها می تواند عوارض پاتولوژیک را در دستگاه تنفس فوقانی و تحتانی طیور ایجاد کند که مصطلح به کوکسیدیز تنفسی پرندگان می باشد (Swayne, 2020). علاوه بر ضررهای مستقیم به شکل تظاهرات بالینی عفونت و تلفات، کریپتوسپوریديوم می تواند به صورت غیرمستقیم بر روی عملکرد گله از نظر ضریب تبدیل غذایی و درصد یکنواختی، واحدهای پرورش طیور گوشتی را تحت تأثیر سوء قرار دهد (Beder, 2025; Jordan et al., 2008; Swayne, 2020). نیز که از چندین گونه ی پرنده جدا شده است، تنها گونه ای از کریپتوسپوریديوم های پرندگان است که می تواند در انسان عفونت ایجاد کند (Ryan et al., 2016; Swayne, 2020). عامل بیماری از ۳۰ گونه ی پرنده جدا شده است. در مرغ ها و بوقلمون ها، *C. baileyi* موجب عفونت های گوارشی (کلواک و بورس فابریسیوس) و تنفسی می شود. این در حالی است که *C. meleagridis* در



می‌کند تا علاوه بر کنترل بیماری، اقدامات امنیت زیستی مناسب جهت جلوگیری از انتشار و شیوع آن صورت پذیرد.

مواد و روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر از نوع توصیفی-کاربردی، در نیمه‌ی اول سال ۱۴۰۲ در شهرستان خوی (استان آذربایجان غربی) انجام شد. تعداد ۷۵ سواب مدفوعی تازه و ۷۵ سواب تنفسی از ۱۵ مرغداری جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در ظروف محتوی بافر فسفات‌سالین ۱٪ در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از هموژنیزاسیون نمونه‌ها، بر روی آن‌ها رنگ‌آمیزی ذیل نلسون اصلاح‌شده انجام گرفت (Afkhaminia et al., 2010). استخراج DNA، توسط کیت (کیاژن-ایران) انجام شد. به‌منظور تکثیر ۸۳۳ قطعه‌ی جفت‌بازی از mastermix و پرایمرهای اختصاصی forward:

5'GACATATCATTCAAGTTTCTGACC3' و

reverse :

5'CTGAAGGAGTAAGGAACAACC3'

(سیناکلون-ایران) (Mahmoudi et al., 2020). جهت انجام آزمایش PCR، اجزای واکنش به میزان DEIONIZED WATER 5.5 µL، پرایمرهای Reverse & Forward 2 µL، mastermix 12.5 µL و دی‌ان‌ای پلیمراز ۵ µL استفاده گردید (حجم کلی ۲۵ µL). مراحل تنظیم دما، زمان و تعداد سیکل‌های PCR در جدول ۱ نشان داده شده است. محصول تکثیر شده با ژل آگارز ۱/۵ درصد، ۳۵ دقیقه الکتروفورز شد.

بوقلمون‌ها و بلدرچین‌ها عفونت‌های روده‌ی باریک ایجاد کرده و همراه با اسهال و مرگ‌ومیر است (Helmy et al., 2017; Swayne, 2020). با این حال، انتقال گونه‌های کریپتوسپوریديوم بین میزبان‌های متفاوت به‌طور معمول شایع نیست. به‌طوری‌که C. parvum که عامل اصلی بیماری در انسان‌ها است، معمولاً در طیور مشاهده نمی‌شود. از طرف دیگر، C. baileyi، گونه‌ای که به پرندگان نسبت داده می‌شود، در دیگر حیوانات شایع نیست (Swayne, 2020). علائم عفونت کریپتوسپوریديوم تنفسی، ۱۲ روز پس از تلقیح اوسیست‌ها در نای، به اوج خود رسیده و تا ۳-۴ هفته ادامه دارند. عطسه، سرفه، التهاب کیسه‌های هوایی و پنومونی از تظاهرات فرم تنفسی کریپتوسپوریوزیس در طیور می‌باشد. علاوه بر ایجاد عوارض مستقیم، تک‌یاخته‌ی کریپتوسپوریديوم می‌تواند زمینه‌ساز سایر عوامل پاتوژن از جمله مایکوپلاسما در دستگاه تنفسی گردد. کریپتوسپوریديوز روده‌ای با ایجاد ضایعات هیستوپاتولوژیک و تخریب بافت روده، باعث اسهال در طیور می‌شود. در کالبدگشایی، علاوه بر کاهش وزن، اسهال و التهاب روده‌ها، ممکن است علائم تنفسی و تیرگی کیسه‌های هوایی نیز مشاهده شود. این انگل با افزایش ضریب تبدیل غذایی (FCR) و افت وزن‌گیری، بر عملکرد طیور گوشتی اثر سوء می‌گذارد (Gholami Ahangaran et al., 2022; Swayne, 2020). این مطالعه، آلودگی جنس کریپتوسپوریديوم را در طیور گوشتی شهرستان خوی را با استفاده از روش‌های رنگ‌آمیزی ذیل نلسون اصلاح‌شده و تست PCR بررسی



بررسی آلودگی انگل کریپتوسپوریديوم در طیور گوشتی شهرستان خوی (قلی زاده و همکاران)..... ۴۵.

جدول ۱ - برنامه دما، زمان و تعداد سیکل برای پرایمرهای '5'GACATATCATTCAAGTTTCTGACC3' forward و '5'CTGAAGGAGTAAGGAACAACC3' reverse : (Mahmoudi et al., 2020) (سیناکلون-ایران)

مرحله	دما (سانتی گراد)	زمان (دقیقه)	دوره
۱ و اسرشت اولیه و تفکیک دو رشته ای DNA	۹۴	۵	۱
۲ و اسرشت	۹۴	۲	۴۰
۳ اتصال	۵۱	۱/۵	۴۰
۴ ساخت	۷۲	۲	۴۰
۵ ساخت نهایی	۷۲	۱۰	۱

نتایج

نتایج این مطالعه نشان داد از تعداد ۷۵ نمونه‌ی گوارشی، ۷ نمونه (۹/۳۳٪) از سه گله (۲۰٪) در رنگ آمیزی ذیل نلسون و تعداد ۳ نمونه (۴٪) از دو گله (۲/۶۶٪) در تست PCR بعد از مشاهده‌ی باند ۸۳۰ جفت‌بازی، مثبت ارزیابی شد (جدول ۲) (شکل ۱). در ۷۵ نمونه تنفسی هیچ موردی در رنگ آمیزی ذیل نلسون و تست PCR مثبت شناسایی نشد.



شکل ۱ - رنگ آمیزی ذیل نلسون - انگل کریپتوسپوریديوم

جدول ۲. درصد آلودگی انگل کریپتوسپوریديوم در طیور گوشتی شهرستان خوی

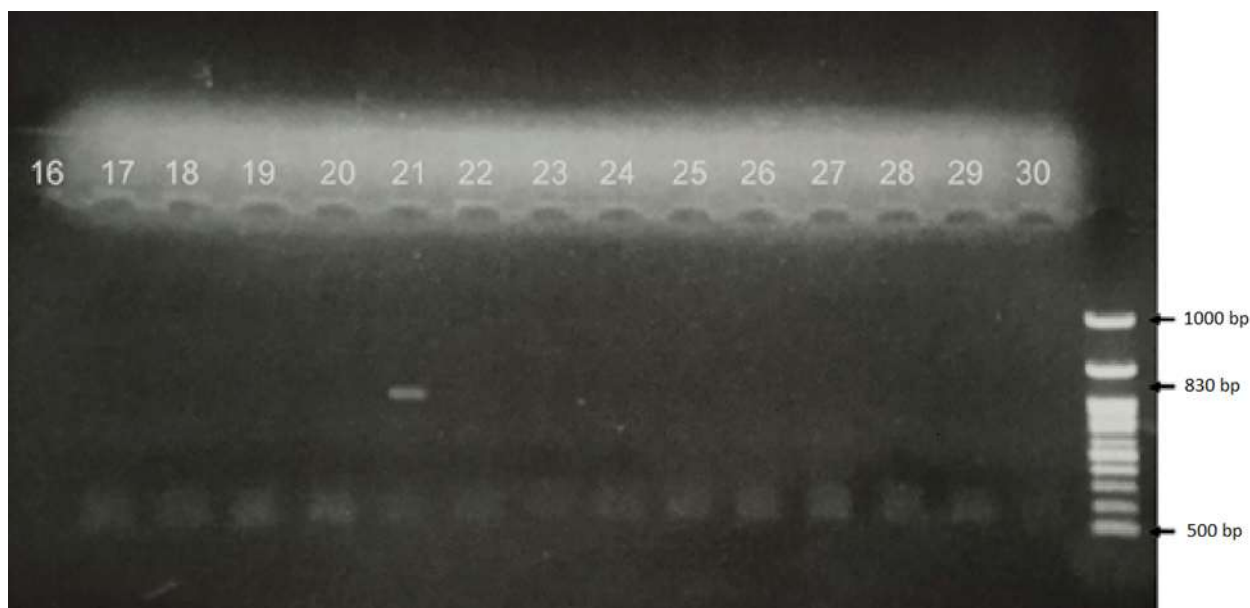
روش	نوع نمونه	موارد مثبت	تعداد کل نمونه‌ها
		درصد	تعداد
رنگ آمیزی	نمونه‌های	۹/۳۳	۷
ذیل نلسون	نمونه‌های	۰	۰
PCR	نمونه‌های	۴	۳
	نمونه‌های	۰	۰

بحث

محیط بسته، افزایش شیوع و دفع انگل در مرغداری‌ها را سبب می‌شود. دفع نامناسب بستر در انتهای دوره‌ی پرورش، به گسترش انگل در محیط و حیواناتی که در تماس با آن هستند کمک می‌کند. اووسیست‌های جنس کریپتوسپوریديوم (فرم عفونت‌زا در طیور)، مقاومت قابل توجهی در برابر مواد شیمیایی و ضد عفونی کننده‌های رایج در صنعت طیور دارند. این موضوع، نابودی اووسیست‌ها در تأسیسات تولیدی تجاری را با دشوار کرده است. پراکندگی اووسیست‌ها در محیط، ویژه منابع آبی و فاضلاب‌ها، به با آلوده کردن چاه‌های آب مرغداری‌ها، کنترل انگل را با مشکل روبرو می‌کند

(Beder, 2025; Jordan et al., 2008; Swayne,)

(2020., Hazrati-Tepe et al., 2006).



شکل ۲ - تصویر آگارز ژل - از چپ به راست: ستون ۱۶ الی ۲۰ منفی - ستون ۲۱ مثبت (۸۳۰ bp) - ستون ۲۲ الی ۳۰ منفی لدر ۱۰۰۰ جفت بازی (سیناکلون، ایران)

سلیمانی و همکاران ۴/۳۵٪ از نمونه‌های جمع‌آوری شده از فاضلاب‌های بوشهر را توسط PCR آلوده به انگل کریپتوسپوریديوم گزارش کردند (Soleimani et al., 2023). مضاف بر اهمیت بهداشتی گونه‌های کریپتوسپوریديوم در پرورش طیور صنعتی، آلودگی در پرنده‌های آزاد، به‌خصوص کبوتران، به‌عنوان ناقلانی که قادر به پراکندگی انگل در محیط، به‌ویژه حریم مرغداری‌ها هستند، دارای اهمیت است. غلامی آهنگران و همکاران در اصفهان، در سال ۱۳۹۷، ۶٪ از کبوتران ارجاعی به درمانگاه را توسط تست PCR آلوده به کریپتوسپوریديوم شناسایی کردند (Gholami Ahangaran et al., 2022). به علاوه، برخی گزارش‌ها نشان داده‌اند که عفونت با برخی کریپتوسپوریديوم‌ها می‌تواند بر پاسخ ایمنی هومورال پرندگان به ویروس‌های

بیماری‌زا یا واکسن‌هایی چون بیماری مارک، رتوویروس‌ها، بیماری گامبورو، بیماری نیوکاسل، برونشیت عفونی و ویروس‌های واکسن آنفلوآنزای مرغی اثر سرکوب‌کننده‌ای داشته باشد. این موضوع ممکن است یکی از دلایل شکست واکسیناسیون در مزارع پرورش طیور باشد (Eladl et al., 2014; Shahbazi et al., 2020). با توجه به حضور انگل در محیط‌زیست، توانایی بیماری‌زایی بالا در انسان و حیوان، مطالعات مربوط به شیوع عفونت کریپتوسپوریديوم در گونه‌های پرندگان محدود است. این موضوع احتمالاً به دلیل عدم استفاده معمول از روش‌های تشخیصی کریپتوسپوریديوز در آزمایشگاه‌های آسیب‌شناسی پرندگان است. اووسیست‌های کریپتوسپوریديوم در مقایسه با کوکسیدیا‌های دیگر زیرگروه (Eimeriorina) کوچکتر

هستند و اسپوروسیست ندارند. مشاهده‌ی انگل به دلیل اندازه بسیار کوچک کریپتوسپوریدیوم و موقعیت آن‌ها در لبه‌ی مسواکی سلول اپیتلیال دشوار است و از آنجا که از نظر مورفولوژی شبیه به قارچ‌ها و اسپورهای مخمر هستند، تشخیص، ممکن است منجر به نتایج مثبت کاذب شود (Swayne, 2020). بنابراین این مطالعه با هدف شناسایی کریپتوسپوریدیوم در طیور گوشتی با استفاده از رنگ‌آمیزی ذیل نلسون اصلاح شده و تایید آن با تست PCR از نمونه‌های گوارشی و تنفسی در شهرستان خوی طراحی و اجرا گردید. پیرامون درصد آلودگی این تک‌یاخته در سراسر جهان مطالعاتی انجام شده است Santana و همکاران در سال ۲۰۱۸ توسط تست PCR میزان شیوع را در انواع سیستم‌های پرورشی در برزیل ۱۲٫۶٪ گزارش کردند. علاوه بر این، آن‌ها در سیستم‌های باز شیوع بیشتر *C. parvum* و در سیستم‌های فشرده، شیوع بیشتر *C. baileyi* را نشان دادند. که در مطالعه‌ی حاضر نیز از این روش مولکولی PCR بعنوان تایید تشخیص این انگل استفاده شد (Santana et al., 2018). Gong و همکاران در سال ۲۰۲۱ در چین، میزان آلودگی انگل کریپتوسپوریدیوم را در طیور گوشتی، اردک‌ها و غازها، ۲٫۹٪ گزارش کردند (Gong et al., 2021). همچنین شیوع کریپتوسپوریدیوم در طیور گوشتی و تخمگذاری که به صورت صنعتی پرورش داده می‌شدند در بنگلادش ۱۵٫۷٪، اردن ۴٫۸٪، سوریه ۹٫۹٪، تونس ۴٫۵٪، آلمان ۵٫۷٪، الجزایر ۳۴٪) گزارش شده است (Baroudi et al., 2013; Beder, 2025; Helmy et al., 2017; Kabir et al., 2020; Kassouha, 2014; Soltane et al., 2007). مطالعات در مورد کریپتوسپوریدیوم طیور در ایران محدود می‌باشد. حق‌بین نظرپاک و همکاران در قائم‌شهر ۱۳٪ از طیور گوشتی را توسط رنگ‌آمیزی ذیل نلسن مبتلا به کریپتوسپوریدیوم نشان دادند (Hagbin Nazarpak et al., 2011). شهبازی و همکاران میزان شیوع را به روش مولکولی در طیور سیستم پرورش صنعتی و بومی استان گیلان ۲۵٫۹٪ گزارش کردند. آن‌ها ارتباطی میان فصل نمونه‌برداری و میزان شیوع عفونت نیافتند و اختلاف معناداری در میزان عفونت بین جوجه‌های گوشتی بومی و تجاری مشاهده نکردند (Shahbazi et al., 2020). خمر و همکاران در زابل، شیوع آلودگی به انگل کریپتوسپوریدیوم را، ۳٫۶٪ در بوقلمون‌ها، ۰٫۸٪ در مرغ و خروس‌های بومی و ۰٫۳٪ در کبوترها، گزارش کردند. آن‌ها نشان دادند آلودگی کریپتوسپوریدیوم در فصول سرد بیش از فصول گرم است (Khamr et al., 2024). هاشم‌زاده فرهنگ و همکاران در ۵٫۲۵٪ از طیور گوشتی شهرستان تبریز، آلودگی به کریپتوسپوریدیوم را مشاهده کردند (Hashemzadeh-Farhang et al., 2014). مطالعه‌ی حاضر، آلودگی کریپتوسپوریدیوم را در شهرستان خوی اثبات کرد. میزان آلودگی در شهرستان خوی توسط رنگ‌آمیزی ذیل نلسون ۹٫۳۳٪ و تست PCR ۴٪ شناسایی شد. اختلاف بین نتایج روش رنگ‌آمیزی با تست مولکولی PCR بیانگر حساسیت و دقت تست PCR نسبت به روش‌های میکروسکوپییک است که در بالا به آن اشاره شده است به‌طوری‌که از موارد مثبت ارزیابی شده در رنگ‌آمیزی، ۴ مورد



می‌تواند کاذب باشد که در تست PCR شناسایی نشدند. نتایج به دست آمده در مطالعه‌ی حاضر، از لحاظ درصد کم آلودگی (۴٪ در تست PCR) با مطالعات صورت گرفته در اردن (۴/۸٪)، تونس (۴/۵٪)، چین (۱/۳٪) مطابقت دارد (Gong et al., 2021; Hijjawi et al., 2007; Soltane et al., 2016). از طرفی با مطالعات انجام شده در گیلان، البرز، بنگلادش و الجزایر اختلاف دارد (Baroudi et al., 2013; Jordan et al., 2008; Kabir et al., 2020; Shahbazi et al., 2020). عوامل زیادی باعث ایجاد اختلاف در میزان آلودگی و شناسایی این انگل به عوامل زیادی بستگی دارد. موقعیت جغرافیایی، تعداد نمونه‌های مورد مطالعه و روش تشخیصی استفاده شده از مهم‌ترین این عوامل هستند. در مطالعه‌ی حاضر جمع‌آوری نمونه‌ها در فصل تابستان انجام شده است. از طرفی مطالعه‌ی خمر و همکاران درصد بالای آلودگی به کریتوسپورییدیوم را در فصل سرد نسبت به فصل گرم نشان دادند، بنابراین تعداد کم کریتوسپورییدیوم‌های شناسایی شده در مطالعه‌ی حاضر ممکن است به دلیل نمونه‌برداری در فصل گرم سال باشد (Khamr et al., 2024). مناطق شرجی با رطوبت بالا در قیاس با مناطق با آب و هوای خشک و کم‌رطوبت، درصد آلودگی انگل بیشتر دیده می‌شود. این موضوع در اختلاف نتایج مطالعه‌ی حاضر و مطالعه‌ی خمر و همکاران در زابل در مقایسه با مطالعات صورت گرفته در کشور البرز، بنگلادش و استان گیلان مشاهده می‌شود (Jordan et al., 2008; Kabir et al., 2020; Santana et al., 2018; Shahbazi et al., 2020). در

فرم تنفسی بیماری، استنشاق اوسیت‌های انگل در چرخه‌ی زندگی کریتوسپورییدیوم مد نظر است. بنابراین، عدم مشاهده انگل در نمونه‌های تنفسی می‌تواند به دلیل مدیریت مناسب بستر و تهویه‌ی درست در فارم‌های طیور گوشتی شهرستان خوی باشد. همچنین درصد آلودگی کم کریتوسپورییدیوم در نمونه‌های گوارشی نشان‌دهنده رعایت بهداشت و پروتکل‌های امنیت‌زیستی در گله‌های طیور گوشتی این شهرستان می‌باشد.

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر نشان داد انگل کریتوسپورییدیوم در مرغ‌های گوشتی شهرستان خوی وجود دارد. میزان آلودگی کم این انگل، نشان‌دهنده رعایت بهداشت و پروتکل‌های امنیت‌زیستی در مرغداری‌های این شهرستان است.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از زحمات پرسنل محترم آزمایشگاه تشخیص ملکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه قدردانی کنند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

منابع

1. Afkhaminia, N., Nouri, M., Karimi, B., Banani, M. & Ghaderi Abianeh, 2010. Report of cryptosporidiosis in industrial poultry farms of Tabriz. *J. Vet. Res. Biol. Prod.*, 23(4), pp. 1–5. (In Persian)
2. Ahmadi Gharacheh, M., Gholami-Ahangaran, M. & Momtaz, H.,



- Microbiol.*, 4(2), pp. 11–18. (In Persian)
9. Gong, Z., Kan, Z.Z., Huang, J.M., Fang, Z., Liu, X.C., Gu, Y.F. & Li, W.C., 2021. Molecular prevalence and characterization of *Cryptosporidium* in domestic free-range poultry in Anhui Province, China. *Parasitol. Res.*, 120(10), pp. 3519–3527. DOI: 10.1007/s00436-021-07271-3. PMID: 34414553.
 10. Haghbin Nazarpak, H., Mousavi, A., Ranjbar Bahadori, S., Mohammadi Malayeri & Hosseini, 2011. Prevalence of *Cryptosporidium* infection in broiler poultry farms in Qaem Shahr city. *J. Vet. Microbiol.*, 7 (1), pp. 1–5. (In Persian)
 11. Hashemzadeh-Farhang, H., Shahbazi, P. & Bahavarnia, S.R., 2014. Investigation of *Cryptosporidium* infection in native poultry around Tabriz. *Vet. Clin. Pathol.*, 8 (3), pp. 588–595. (In Persian)
 12. Hazrati-Tepe, K., Rahbar, M., Hejazi, S. & Mostaghim, M., 2006. Prevalence of *Cryptosporidium* in patients referring to the Pediatric Oncology Clinic of Imam Khomeini Educational-Treatment Center, Urmia, 2001. *Sci. Res. J. Ardabil Univ. Med. Sci.*, 5(4), pp. 327–332. (In Persian)
 13. Helmy, Y.A., Krücken, J., Abdelwhab, E.S.M., von Samson-Himmelstjerna, G. & Hafez, H.M., 2017. Molecular diagnosis and characterization of *Cryptosporidium* spp. in turkeys and chickens in Germany reveals evidence for previously undetected parasite species. *PLOS ONE*, 12(6), p. e0177150. DOI: 10.1371/journal.pone.0177150. PMID: 28591152.
 14. Hijjawi, N., Mukbel, R., Yang, R. & Ryan, U., 2016. Genetic
 2020. Molecular detection of *Cryptosporidium* as a zoonotic pathogen in pet birds of Isfahan, Iran. *J. Gorgan Univ. Med. Sci.*, 22(2), pp. 99–103.
 3. Baroudi, D., Khelef, D., Goucem, R., Adjou, K.T., Adamu, H., Zhang, H. & Xiao, L., 2013. Common occurrence of zoonotic pathogen *Cryptosporidium meleagridis* in broiler chickens and turkeys in Algeria. *Vet. Parasitol.*, 196(3–4), pp. 334–340. DOI: 10.1016/j.vetpar.2013.02.013. PMID: 23523014.
 4. Beder, D., 2025. Overview of *Cryptosporidium* spp. *Genel Tip Derg.*, 35(1), pp. 212–218. DOI: 10.14744/GenelTip.2024.12345. PMID: 38765432.
 5. Constable, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S.H. & Grünberg, W., 2017. *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 11th ed. Elsevier Health Sciences, Missouri, USA, pp. 1904–2040.
 6. Eladl, A.H., Hamed, H.R. & Khalil, M.R., 2014. Consequence of cryptosporidiosis on the immune response of vaccinated broiler chickens against Newcastle disease and/or avian influenza. *Vet. Res. Commun.*, 38, pp. 237–247. DOI: 10.1007/s11295-014-0634-0. PMID: 24993873.
 7. Gharagozlou, M. & Khodashenas, M., 1994. Cryptosporidiosis in a native rooster with a chronic proliferative enteritis. *Arch. Fac. Vet. Med. Tehran Univ.*, 6, pp. 160–173. (In Persian)
 8. Gholami Ahangaran, M., Ostadpour, P. & Pourmahdi, O., 2022. Genomic tracking and prevalence study of *Cryptosporidium* infection in pigeons of Isfahan. *New Adv. Vet.*



21. Ryan, U., Zahedi, A. & Paparini, A., 2016. Cryptosporidium in humans and animals—a one health approach to prophylaxis. *Parasite Immunol.*, **38** (9), pp. 535–547. DOI: 10.1111/pim.12330. PMID: 27428845.
22. Santana, B.N., Kurahara, B., Nakamura, A.A., da Silva Camargo, V., Ferrari, E.D., da Silva, G.S., Nagata, W.B. & Meireles, M.V., 2018. Detection and characterization of Cryptosporidium species and genotypes in three chicken production systems in Brazil using different molecular diagnosis protocols. *Prev. Vet. Med.*, **151**, pp. 73–78. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2018.01.002. PMID: 29406086.
23. Shahbazi, P., Aligolzadeh, A., Khordadmehr, M., Farhang, H.H. & Katiraei, F., 2020. Molecular study and genotyping of Cryptosporidium baileyi and Cryptosporidium parvum from free-range and commercial broiler chickens in Guilan province, Iran. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, **69**, p. 101411. DOI: 10.1016/j.cimid.2020.101411. PMID: 32014674.
24. Slavin, D., 1955. Cryptosporidium meleagridis (sp. nov.). *J. Comp. Pathol.*, **65**, pp. 262–266. DOI: 10.1016/S0368-1742(55)80020-2.
25. Soleimani, T., Khanidobraderan, S., Farshadpour, F., Khalilidaroodzani, T. & Taherzadeh, 2023. Detection and identification of Cryptosporidium in raw urban wastewater entering coastal areas of Bushehr. *J. South. Med.*, **26**(1), pp. 14–24. (In Persian)
26. Swayne, D.E. (ed.), 2020. *Diseases of poultry*. 14th ed. Wiley-Blackwell, Hoboken, NJ.
- characterization of Cryptosporidium in animal and human isolates from Jordan. *Vet. Parasitol.*, **228**, pp. 116–120. DOI: 10.1016/j.vetpar.2016.08.016. PMID: 27692335.
15. Holubová, N., Sak, B., Horčíčková, M., Hlášková, L., Květoňová, D., Menchaca, S., McEvoy, J. & Kváč, M., 2016. Cryptosporidium avium n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in birds. *Parasitol. Res.*, **115**, pp. 2243–2251. DOI: 10.1007/s00436-016-4967-8. PMID: 26931799.
16. Jordan, F., Pattison, M., McMullin, P., Bradbury, J.M. & Alexander, D. (eds.), 2008. *Poultry diseases*. 6th ed. Elsevier Health Sciences, Philadelphia, pp. 1–576.
17. Kabir, M.H.B., Han, Y., Lee, S.-H., Nugraha, A.B., Recuenco, F., Murakoshi, F., Xuan, X. & Kato, K., 2020. Prevalence and molecular characterization of Cryptosporidium species in poultry in Bangladesh. *One Health*, **9**, p. 100122. DOI: 10.1016/j.onehlt.2020.100122. PMID: 31938752.
18. Kassouha, M., 2014. First detection of Cryptosporidium spp. in broiler chickens in Syria. *Basrah J. Vet. Res.*, **11**, pp. 253–259.
19. Khamr, G., Ganjali, S., Sa'adati, M., Mirshkar, R., Rashki, S. & Shahin, S., 2024. Investigation of Cryptosporidium infection in native birds (chickens, turkeys, and pigeons) in Zabol County. *New Find. Vet. Microbiol.*, **7**(1), pp. 25–31. (In Persian)
20. Mahmoudi, M., Tappeh, K.H., Abasi, E. & Aminpour, A., 2020. Utility of different diagnostic tools for detection of Cryptosporidium in children with diarrhea. *Arch. Pediatr. Infect. Dis.*, **8** (1). DOI: 10.5812/pedinfect.100615.



Investigation of Cryptosporidium Parasite Contamination in Broiler Chickens in Khoy County

Gholizadeh, Salman ¹, Rezaei Mehdi ^{2*}, Asgharzadeh Mohammad Reza ³, Abedini Chamgordani Sajjad

1. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.

2. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ur.C., Islamic Azad University, Urmia, Iran.

3. Department of Biology, Faculty of Basic Science, Urmia Branch Ur.C, Islamic Azad University, Urmia, Iran,

Received: 27 May 2025 Accepted: 13 November 2025

Extended Abstract

Introduction: Cryptosporidium is an intestinal protozoan parasite belonging to the phylum Apicomplexa, which holds significant importance due to its pathogenicity in humans, livestock, and poultry. The parasite causes disease and physiological disorders by colonizing the mucosal cells of the gastrointestinal and respiratory tracts. Adherence to proper biosecurity measures is one of the most critical factors in preventing the spread of this disease. The aim of this study was to identify Cryptosporidium infection in broiler chickens in Khoy County using modified Ziehl-Neelsen staining and molecular polymerase chain reaction (PCR) testing. **Materials and methods:** For this descriptive study, 75 fecal samples and 75 tracheal swabs were collected from 15 poultry farms. Modified Ziehl-Neelsen staining and PCR testing using genus-specific primers targeting an 833-base pair fragment of the SSUrRNA gene were performed on the samples. **Results:** The results of this study showed that out of 75 digestive samples, 7 samples (9.33%) from three flocks (20%) were evaluated positive in the Nelson stain and 3 samples (4%) from two flocks (2.66%) in the PCR test after observing the 830 base pair band. In 75 respiratory samples, no case was identified in the Nelson stain and PCR test. In addition to proving the presence of Cryptosporidium infection in industrial birds in Khoy County, this study showed the high accuracy and sensitivity of the PCR molecular test in diagnosing the disease. The low prevalence of Cryptosporidium in poultry farms in Khoy County indicates compliance with biosecurity protocols in this county. **Conclusion:** the lack of parasite detection in respiratory samples could be due to proper litter management and proper ventilation in broiler farms in Khoy County. Overall, the results of this research can serve as an epidemiological reference for gastrointestinal and respiratory infections in industrial poultry in the area.

Keywords: Ziehl-Neelsen, PCR, protozoa, Apicomplexa, gene

* Corresponding Author: Rezaei Mehdi

Address: Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ur.C., Islamic Azad University, Urmia, Iran.

Email: mehdi.rezaei0734@iau.ac.ir