ردیابی ژنومی و مطالعه فراوانی آلودگی با *کریپتوسپوریدیوم* در کبوترهای اصفهان

مجید غلامی آهنگران*[۱]، مهرداد استادپور[۲]، اویس پورمهدی[۳]

۱- دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
۲- دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
۳- دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران.

دریافت مقاله: ۱۹ دی ۱۴۰۰، بازنگری: ۳ بهمن ۱۴۰۰، پذیرش نهایی: ۶ بهمن ۱۴۰۰

چکیده

کریپتوسپوریدیوز از بیماری‌های مهم انگلی در دام، طیور و انسان است که از نظر بهداشتی و اقتصادی اهمیت زیادی دارد. تکثیر این انگل در دام و طیور می‌تواند باعث حفظ چرخه انگل در محیط گردد. لذا کنترل بیماری در این میزبان‌ها با کاهش بار آلودگی محیط و نهایتاً کنترل بیماری در انسان همراه است. به‌منظور ردیابی *کریپتوسپوریدیوم* در کبوترهای خانگی، در چهار فصل مختلف سال ۱۳۹۷ از ۱۰۰ کبوتر خانگی با جنس‌های مختلف نمونه‌گیری شد. پس از استخراج ژنوم از نمونه‌های مدفوعی، با پرایمر اختصاصی به ردیابی ژن SS rRNA *کریپتوسپوریدیوم* پرداخته شد. در ۶ نمونه (۶ درصد نمونه‌ها) قطعه ۱۳۲۵ جفت بازی مربوط به ژن SS rRNA *کریپتوسپوریدیوم* تکثیر شد (۴ کبوتر ماده و ۲ کبوتر نر). از نظر آماری، هیچ ارتباطی بین مؤلفه جنس و بروز آلودگی وجود نداشت. بررسی‌ها نشان داد از ۶ مورد مثبت، ۵ مورد در فصل سرد و تنها یک مورد در فصل گرم ردیابی شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان می‌دهد در فصول سرد میزان آلودگی به طور معنی‌داری بیشتر است (۱۱/۳۶ درصد در مقابل ۱/۷۸ درصد) ($P<0.05$). کبوترهای اصفهان به *کریپتوسپوریدیوم* آلوده‌اند و لازم است برنامه کنترلی مناسب در این پرندگان به‌عنوان یکی از میزبان‌های این تک‌یاخته انجام شود. قطعاً کاهش میزان آلودگی در کبوترها می‌تواند میزان آلودگی محیط به این عامل بیماری‌زای مشترک بین انسان و حیوان را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: *کریپتوسپوریدیوم، کبوتر، اصفهان، PCR*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: mgholamia1388@yahoo.com

مقدمه

خانواده *کریپتوسپوریدیوم*، انگل‌های فرصت‌طلب هستند که باعث *کریپتوسپوریدیوز* در سراسر جهان می‌شوند (۱). *کریپتوسپوریدیوز* به دلیل شیوع زیاد و پتانسیل بیماری‌زایی مشترک انسان و دام، به‌عنوان بیماری مهمی است که در سلامت عمومی بسیار قابل توجه است. انتقال *کریپتوسپوریدیوم* هنگامی رخ می‌دهد که یک میزبان با مواد آلوده شده توسط مدفوع انسان یا حیوان آلوده در تماس قرار گیرد (۲، ۴). *کریپتوسپوریدیوز* از جمله بیماری‌های مهم در دام، طیور و انسان است که هم از نظر بهداشتی و هم از نظر اقتصادی اهمیت زیادی دارد. تکثیر و فعالیت انگل در قسمت‌های مخاطی دستگاه تنفس و گوارش علاوه بر عوارض مستقیم، زمینه‌ساز سایر عوامل پاتوژن مانند مایکوپلاسماها در دستگاه تنفس می‌گردد.

کریپتوسپوریدیوم علاوه بر ایجاد بیماری در دستگاه تنفس طیور، با تخریب بافت روده موجب بروز اسهال و اختلال در هضم و جذب مواد غذایی می‌گردد. تک‌یاخته *کریپتوسپوریدیوم* با ایجاد اختلال در عملکرد و فیزیولوژی سلول‌های روده‌ای و همچنین آسیب‌هایی که از نظر پاتولوژیکی در سلول‌های روده‌ای موجب می‌شود، زمینه‌ساز بروز سایر بیماری‌های روده‌ای و دستگاه گوارش نیز می‌گردد (۵). گونه‌های این جنس که قبلاً به‌عنوان انگل‌های داخل سلولی اجباری در نظر گرفته می‌شدند و متعلق به خانواده *کوکسیدیا* بودند، اخیراً به‌عنوان بخشی از زیرکلاس *Gregaria*طبقه‌بندی شده‌اند، زیرا آنها می‌توانند چرخه زندگی خود را در محیط بدون سلول ادامه دهند (۶). با این وجود، آنها در چرخه زندگی انگلی، به‌عنوان عوامل ایجادکننده بیماری در انسان و حیوانات مانند پستانداران، خزندگان، ماهی‌ها و پرندگان تلقی می‌گردند (۷).

کریپتوسپوریدیوم سویه‌های بسیار زیادی دارد که در بین آنها گونه *بالئی* متداول‌ترین گونه در پرندگان است که به‌صورت بالینی و تحت بالینی می‌تواند ۱۲ راسته از پرندگان را مبتلا کند (۸). گونه گالی، ۵ راسته از پرندگان به ویژه گنجشک‌سانان و طوطی‌سانان را آلوده می‌کند. گونه *ملئاگریدیس* عمدتاً ماکیان‌سانان خصوصاً بوقلمون‌ها را مبتلا می‌کند و تنها گونه‌ای از پرندگان است که پستانداران را به شکل تجربی و طبیعی مبتلا می‌کند (۹). علاوه بر اینها، ژنوتیپ‌های I تا V نیز در پرندگان گزارش شده است که در رابطه با اختصاصیت میزبانی آنها اطلاعات بسیار کمی در دست است (۱۰). اگرچه بسیاری از عفونت‌های *کریپتوسپوریدیوم* ناشی از گونه *ملئاگریدیس* و *بالئی* در مجاری روده‌ای و تنفسی و بورس پرندگان به وجود می‌آید با این وجود نمی‌توان از نقش احتمالی سایر گونه‌ها یا ژنوتیپ‌های *کریپتوسپوریدیوم* (که هنوز از نظر مولکولی مشخص نشده‌اند) در ایجاد بیماری، چشم‌پوشی کرد (۱۱). گونه *بالئی* اغلب به‌عنوان عوامل ایجادکننده عفونت در سیستم تنفسی فوقانی، گوش میانی و ملتحمه چشمی پرندگان وحشی مانند جغدها، پرستوها و شاهین‌ها در نظر گرفته می‌شوند (۱۱، ۱۵).

آزمایشات مولکولی، یک عامل اساسی در تشخیص *کریپتوسپوریدیوز* است زیرا اووسیست‌های *کریپتوسپوریدیوم* در مقایسه با کوکسیدیاهای دیگر کوچک‌تر هستند، اسپوروسیست ندارند، مشاهده آنها دشوار است و از نظر مورفولوژی شبیه به قارچها و اسپورهای مخمر هستند. در نمونه‌هایی که اووسیت‌های کمی وجود دارد، برای جلوگیری از نتایج مثبت کاذب در نمونه‌های مدفوع مورد بررسی با استفاده از رایج‌ترین روش‌های تشخیصی مانند رنگ‌آمیزی اسید فست یا مشاهده تخمک‌ها در زیر میکروسکوپ نوری انجام می‌شود (۹). معمولاً نتایج

منفی کاذب نیز به دلیل حساسیت کم تکنیک‌های رنگ‌آمیزی در نمونه‌هایی با تعداد کم اووسیست به وجود می‌آید (۱۶).

هدف از مطالعه اخیر شناسایی *کریپتوسپوریدیوم* به‌عنوان یک عامل بیماری‌زای مشترک بین انسان و دام در کبوتر است تا با توجه به شیوع این بیماری در کبوترهای خانگی، برنامه کنترلی مناسب در جهت جلوگیری از ایجاد بیماری در این پرندگان و نیز جلوگیری از انتشار آلودگی در محیط و نهایتاً آلودگی انسان به عمل آید.

مواد و روش‌ها

در این بررسی به‌منظور ردیابی *کریپتوسپوریدیوم* در مدفوع کبوترهای خانگی، در مدت ۱۲ ماه در سال ۱۳۹۷ از کبوترهای خانگی ارجاعی به کلینیک بخش خصوصی واقع در شهرستان اصفهان نمونه مدفوع تازه اخذ شد. در این بررسی، نمونه‌ها از ۱۰۰ قطعه کبوتر خانگی با جنس نر و ماده و در طی چهار فصل جمع‌آوری شد. نمونه‌ها از هر پرنده به شکل مجزا با ثبت مشخصات کامل شامل زمان نمونه‌گیری، سن تقریبی و جنس جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در کنار یخ منتقل شد و تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری شدند.

استخراج DNA با روش فنل-کلروفرم طبق روش معمول انجام شد. پس از استخراج ژنوم، با روش حساس و دقیق PCR به شناسایی *کریپتوسپوریدیوم* اقدام شد. برای این منظور از پرایمرهای منتشر شده استفاده شد که به تکثیر ژن SS rRNA می‌پردازد (۸). توالی پرایمرها به شکل 5’ TTCTAGAGCTAATACATGCG 3’ و 5’ CCCATTTCCTTCGAAACAGGA 3’ انجام شد. در این واکنش قطعه‌ای به طول ۱۳۲۵ جفت باز تکثیر می‌شود. واکنش‌گرهای مربوط به واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با هم مخلوط شدند. این مخلوط شامل ۱ میکرولیتر از DNAی الگو، ۰/۲ میکرومول از هر پرایمر، ۲۰۰ میکرومول از هر dNTP، ۳ میکرومول کلریدمنیزیم و ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR و ۱ واحد از آنزیم Taq DNA Polymerase (فرمنتاز) می‌باشد. سپس ۲ تا ۳ قطره روغن معدنی استریل برای جلوگیری از تبخیر، به مخلوط واکنش PCR اضافه گردید و بلافاصله نمونه‌ها در دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) قرار داده شد.

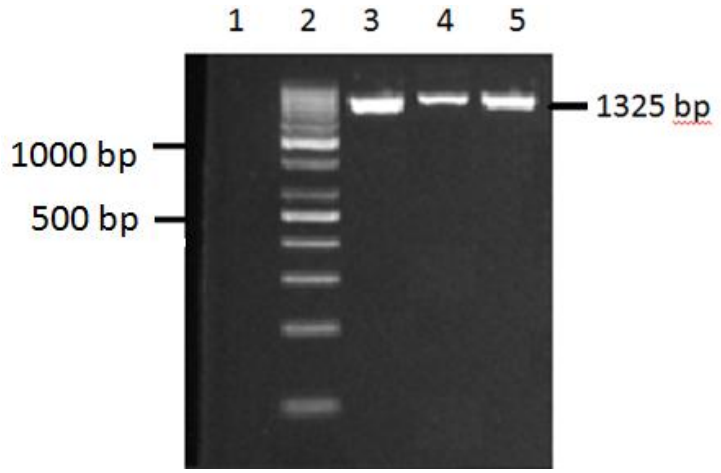
در این بررسی مرحله دناتوراسیون، اتصال و گسترش ۳۵ سیکل تکرار شد. محصول PCR بر روی ژل ۱ درصد آگارز با ولتاژ ۸۰ ولت برای مدت ۳۰ دقیقه الکترفورز گردید، سپس ژل مورد نظر با اتیدیم بروماید رنگ‌آمیزی و با دستگاه یووی‌داک مشاهده شد.

نتایج

در نمونه‌های مثبت قطعه ۱۳۲۵ جفت بازی ژن SS rRNA مربوط به *کریپتوسپوریدیوم* تکثیر شد و در نمونه‌های کنترل منفی تکثیر نشد (تصویر شماره ۱). نتایج نشان داد در نمونه‌های تهیه شده از ۱۰۰ قفس کبوتر نر و ماده، ۶ نمونه واجد باند ۱۳۲۵ جفت بازی بوده و از لحاظ *کریپتوسپوریدیوم* مثبت می‌باشند (۶ درصد) (جدول ۱). از ۶۰ کبوتر ماده نمونه‌گیری شده ژن SS rRNA مربوط به *کریپتوسپوریدیوم* در ۴ کبوتر تکثیر شد و در ۴۰ کبوتر نر، ۲ نمونه مثبت یافت شد که از نظر بررسی‌های آماری، هیچ ارتباط معناداری بین جنس و بروز آلودگی وجود نداشت (جدول شماره ۲).

بررسی‌ها نشان داد از ۶ مورد مثبت، ۵ مورد در فصل سرد و تنها یک مورد در فصل گرم ردیابی گردیده است. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان می‌دهد ارتباط معناداری بین فصل (سرد و گرم) و آلودگی با *کریپتوسپوریدیوم* وجود دارد به‌طوری که در فصول سرد میزان آلودگی به طور معناداری بیشتر است (۱۱/۳۶ درصد در مقابل ۱/۷۸ درصد)

(جدول شماره ۳).



تصویر شماره ۱- الکتروفورز مربوط به محصول PCR ژن ss rRNA *کریپتوسپوریدیوم*
(ستون یک: نمونه منفی، ستون ۲: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۳ تا ۵ : نمونه های مثبت)

جدول شماره ۱- مقایسه درصد موارد آلودگی در فصول مختلف و جنس‌های مختلف کبوتر خانگی (اهلی)

جنسیت	ماده			نر			کل		
تعداد و درصد نمونه‌ها	تعداد نمونه‌ها	تعداد موارد مثبت	درصد موارد مثبت	تعداد نمونه‌ها	تعداد موارد مثبت	درصد موارد مثبت	تعداد نمونه‌ها	تعداد موارد مثبت	درصد موارد مثبت
تابستان	۱۸	۰	۰	۱۰	۰	۰	۲۸	۰	۰
پاییز	۱۰	۱	۱۰	۱۰	۱	۱۰	۲۰	۲	۱۰
زمستان	۱۶	۲	۱۲/۵	۸	۱	۱۲/۵	۲۴	۳	۱۲/۵
بهار	۱۶	۱	۶/۲۵	۱۲	۰	۰	۲۸	۱	۳/۵۷
تعداد کل	۶۰	۴	۶/۶۶	۴۰	۲	۵	۱۰۰	۶	۶

جدول شماره ۲- مقایسه درصد موارد آلودگی به *کریپتوسپوریدیوم* در جنس نر و ماده در کبوترهای خانگی

وضعیت آلودگی / جنسیت	موارد مثبت	موارد منفی
ماده	۴	۵۶
نر	۲	۳۸

جدول شماره ۳- مقایسه درصد موارد آلودگی به کریپتوسپوریدیوم در فصول مختلف سرد و گرم در کبوترهای خانگی

وضعیت آلودگی / فصول	موارد مثبت	موارد منفی
فصول سرد (پاییز و زمستان)	۵	۳۹
فصول گرم (بهار و تابستان)	۱	۵۵

بحث و نتیجه‌گیری

آلودگی با *کریپتوسپوریدیوم* در پرندگان بیشتر محدود به ماکیان، بوقلمون، کبک، قرقاول، طاووس، مرغ جنگلی، اردک، غاز، گونه‌های مختلف طوطی، فنچ و قناری می‌باشد. تا به حال از ۳۰ جنس پرنده از سراسر دنیا گزارش‌های مربوط به عفونت *کریپتوسپوریدیوم* وجود داد که معمولاً میزان شیوع آن از صفر تا ۱۵درصد در پرندگان مختلف، متفاوت بوده است (۷، ۹). اولین گزارش مربوط به *کریپتوسپوریدیوم* در پرندگان توسط تیزر در سال ۱۹۲۹ بوده است که در محتویات سکومی یک مرغ این عفونت توصیف شده است (۱۷). آنچه از نظر بهداشت عمومی اهمیت بیشتری دارد و در پرندگان گزارش شده است مربوط به ۳ گونه پارووم، هومنیس و *ملـه اگریدیس* می‌باشد که گونه *ملـه اگریدیس* در بین این ۳ گونه بیشترین آلودگی را در پرندگان به خود اختصاص داده و شبیه پاروم از دامنه میزبانی وسیعی برخوردار است. این گونه علاوه بر این که پرندگان را آلوده می‌کند می‌تواند انسان، سگ، گربه، خوک، خرگوش و سایر پستانداران را نیز آلوده کند (۱۸، ۱۹). مطالعات قبلی در برزیل و بیشتر قسمت‌های دنیا وجود *کریپتوسپوریدیوم* را در مدفوع کبوتر گزارش کرده‌اند. جمعیت کبوترها در مناطق شهری به دلیل دسترسی به غذا، به طور فزاینده‌ای در حال رشد است (۲۲-۲۰). به گفته ساکو و همکاران (۲۰۱۳)، ازدیاد جمعیت کبوترها در مناطق شهری می‌تواند منجر به قرار گرفتن بیشتر انسان در معرض عوامل بیماری‌زا مانند *کریپتوسپوریدیوم* شود، زیرا این پرندگان نه تنها به راحتی در ساختمان‌ها و مکان‌های ساختمانی آشیانه می‌سازند بلکه آزادانه در اطراف میادین و فضاهای عمومی پرواز می‌کنند و از طریق مدفوع خود، محیط را آلوده می‌کنند (۲۳). در مطالعه‌ای که در شهر ریودوژانیرو برزیل در سال ۲۰۱۶ بر روی مدفوع کبوتر انجام شد، نمونه‌های مدفوع کبوتر را با استفاده از روش‌های میکروسکوپی و تکنیک‌های مولکولی مورد تجزیه و تحلیل قرار داده و میزان شیوع *کریپتوسپوریدیوم* را ۲۰/۹ درصد اعلام کردند (۲۰). در مطالعاتی که در کشور عراق و ایران بر روی این انگل صورت گرفت، میزان شیوع *کریپتوسپوریدیوم* را پس از بررسی‌های میکروسکوپی به ترتیب ۱/۲ درصد و ۲/۹ درصد اعلام کردند (۲۴، ۲۵). همچنین الیویرا و همکاران در سال ۲۰۱۷ با استفاده از تکنیک‌های مولکولی در شهر سائوپائولو، میزان شیوع ۷ درصد را در کبوترها اعلام کردند (۲۶). با استفاده از روش‌های مولکولی در تشخیص این انگل در کبوترهای کشور چین (۱۹، ۲۷) میزان شیوع *کریپتوسپوریدیوم* به‌ترتیب ۴/۸ درصد و ۰/۸۲ درصد و در جزایر ایسلند (۲۸) این میزان، ۵/۹ درصد اعلام شد. عوامل زیادی در میزان شیوع و تشخیص این انگل در پرندگان وجود دارد که از مهم‌ترین آنها می‌توان به موقعیت جغرافیایی، اندازه نمونه، زمان و فصل نمونه‌گیری، سن و جنسیت میزبان و همچنین روش تشخیصی اشاره کرد (۱۹، ۲۹). با این‌حال میزان شیوع آلودگی در مطالعه اخیر در محدوده سایر مطالعات از کشورهای مختلف است.

گزارشات مختلفی از شیوع گونه‌های آلوده‌کننده پرندگان و به‌ویژه کبوتر وجود دارد. در یک مطالعه، گونه *لیویا* به‌عنوان یکی از گونه‌های رایج در پرندگان مطرح شده است که در محیط‌های شهری زندگی می‌کند و می‌تواند از طریق مدفوع، محیط اطراف را آلوده‌کند (۲۰). گونه *ملـه اگریدیس* یکی دیگر از گونه‌های *کریپتوسپوریدیوم* است که در انسان شیوع بیشتری دارد (۲۹، ۳۲) و در مدفوع کبوترهای چین (۱۹، ۲۷) و تایلند (۳۱) نیز شناسایی شده است. الیویرا در سال ۲۰۱۷ اولین گزارش مربوط به حضور گونه پاروم را در مدفوع کبوترهای شهرهای

سائوپائولو و آراکاتوبا گزارش کرد (۲۶). همچنین کبوترها توانایی زیادی در تعامل با انسان و سایر پرندگان اهلی و وحشی دارند و در نتیجه به یک حامل بالقوه جهت انتقال انگل تبدیل می‌شوند (۳۲).

نتیجه‌گیری

با توجه به شواهد مولکولی از آلودگی کبوترها به تک‌یاخته *کریپتوسپوریدیوم* به نظر می‌رسد استفاده از داروهای مهارکننده عفونت به صورت دوره‌ای می‌تواند در کنترل این بیماری در کبوتر و کاهش عوارض تنفسی و گوارشی این بیماری نقش داشته باشد. علاوه بر آن انتظار می‌رود با کاهش میزان آلودگی در کبوترهای اهلی به‌عنوان یک مخزن آلودگی، میزان آلودگی محیط به این عامل بیماری‌زای انسان و حیوان نیز کاهش یابد.

References

1- Hlavsa MC, Cikesh BL, Roberts VA, Kahler AM, Vigar M, Hilborn ED, *et al*. Outbreaks associated with treated recreational water–United States, 2000–2014. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2018; 67(19): 547.

2- Pumipuntu N, Piratae S. Cryptosporidiosis: A zoonotic disease concern. *Veterinary world*. 2018; 11(5): 681.

3- Rossignol JF. *Cryptosporidium* and *Giardia*: treatment options and prospects for new drugs. *Experimental parasitology*. 2010; 124(1): 45-53.

4- Taylor MA, Coop RL, Wall RL. Veterinary parasitology. John Wiley & Sons; 2015.

5- Hashemzade Farhang H, Shahbazi P, Jafari R. Survey of *cryptosporidium* parasite infection in poultry farms around Tabriz. *Veterinary Clinical Pathology, The Quarterly Scientific Journal*. 2014; 8(1): 411-6. [In Persion]

6- Ryan U, Paparini A, Monis P, Hijjawi N. It's official–*Cryptosporidium* is a gregarine: What are the implications for the water industry? *Water Research*. 2016; 105: 305-13.

7- Leitch GJ, He Q. *Cryptosporidiosis*-an overview. *Journal of biomedical research*. 2011; 25(1): 1-6.

8- Baroudi D, Khelef D, Goucem R, Adjou KT, Adamu H, Zhang H, Xiao L. Common occurrence of zoonotic pathogen *Cryptosporidium meleagridis* in broiler chickens and turkeys in Algeria. *Veterinary Parasitology*. 2013; 196(3-4): 334-40.

9- Nakamura AA, Meireles MV. *Cryptosporidium* infections in birds-a review. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2015; 24: 253-67.

10- Zhang XX, Zhang NZ, Zhao GH, Zhao Q, Zhu XQ. Prevalence and genotyping of *Cryptosporidium* infection in pet parrots in North China. *BioMed research international*. 2015.

11- Baines D, Newborn D, Richardson M. Spread of Cryptosporidium baileyi in red grouse Lagopus lagopus scoticus. *The Veterinary Record*. 2014; 175(6): 149.

12- Bougiouklis P, Miller W, Weissenbock H, Wells A, Palmieri C, Shivaprasad H. *Cryptosporidium baileyi* in a Saker falcon (Falco cherrug).

13- Coldwell L, Caldow G, Holliman A, Mearns R, Errington H, Giles M, *et al*. *Cryptospordium baileyi* in wild red grouse with'bulgy eye. *Veterinary Record*. 2012; 170(23): 603-4.

14- Ley DH, Moresco A, Frasca Jr S. Conjunctivitis, rhinitis, and sinusitis in cliff swallows (*Petrochelidon pyrrhonota*) found in association with Mycoplasma sturni infection and cryptosporidiosis. *Avian Pathology*. 2012; 41(4): 395-401.

15- Molina-Lopez RA, Ramis A, Martin-Vazquez S, Gomez-Couso H, Ares-Mazás E, Caccio SM, Leiva M, Darwich L. *Cryptosporidium baileyi* infection associated with an outbreak of ocular and respiratory disease in otus owls (Otus scops) in a rehabilitation centre. *Avian Pathology*. 2010; 39(3): 171-6.

16- Jex AR, Smith HV, Monis PT, Campbell BE, Gasser RB. *Cryptosporidium*—biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. *Biotechnology advances*. 2008; 26(4): 304-17.

17- Ahmadi-Gharacheh M, Gholami-Ahangaran M, Momtaz H. Molecular detection of *Cryptosporidium* as a zoonotic pathogen, in pet birds of Isfahan, Iran. *Journal of Gorgan University Medical Sciences*. 2020;22 (2): 103 -99. [In Persion]

18- Joachim A. Human *cryptosporidiosis*: an update with special emphasis on the situation in Europe. *Journal of Veterinary Medicine*, Series B. 2004; 51(6): 251-9.

19- Li J, Lin X, Zhang L, Qi N, Liao S, Lv M, Wu C, Sun M. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in domestic pigeons (Columba livia domestica) in Guangdong Province, Southern China. *Parasitology research*. 2015; 114(6): 2237-41.

20- de Pina Costa A, Bomfim TC. Infecção natural de pombos (*Columba livia*) por *Cryptosporidium* spp. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. 2016; 23(3-4).

21- Mirzaghavami M, Sadraei J, Forouzandeh M. Detection of *Cryptosporidium* spp. in free ranging animals of Tehran, Iran. *Journal of Parasitic Diseases*. 2016; 40(4): 1528-31. [In Persion]

22- Skandrani Z, Desquilbet M, Prévot AC. A renewed framework for urban biodiversity governance: urban pigeons as a case-study. *Natures Sciences Sociétés*. 2018; 26(3): 280-90.

23- Sacco AG, Bergmann FB, Rui AM. Assembleia de aves na área urbana do município de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. *Biota Neotropica*. 2013; 13: 153-62.

24- Bahrami AM, Monfared AL, Razmjoo M. Pathological study of parasitism in racing pigeons: An indication of its effects on community health. *African Journal of Biotechnology*. 2012; 11(59): 12364-70. [In Persion]

25- Radfar MH, Asl EN, Seghinsara HR, Dehaghi MM, Fathi S. Biodiversity and prevalence of parasites of domestic pigeons (Columba livia domestica) in a selected semiarid zone of South Khorasan, Iran. *Tropical Animal Health and Production*. 2012; 44(2): 225-9. [In Persion]

26- Oliveira BC, Ferrari ED, da Cruz Panegossi MF, Nakamura AA, Corbucci FS, Nagata WB, *et al.* First description of *Cryptosporidium parvum* in carrier pigeons (Columba livia). *Veterinary parasitology*. 2017; 243: 148-50.

27- Qi M, Wang R, Ning C, Li X, Zhang L, Jian F, Sun Y, Xiao L. Cryptosporidium spp. in pet birds: genetic diversity and potential public health significance. *Experimental Parasitology*. 2011; 128(4): 336-40.

28- Abreu-Acosta N, Foronda-Rodríguez P, López M, Valladares B. Occurrence of *Cryptosporidium hominis* in pigeons (Columba livia). *Acta Parasitologica*. 2009; 54(1): 1-5.

29- Ryan U. *Cryptosporidium* in birds, fish and amphibians. *Experimental Parasitology*. 2010; 124(1): 113-20.

30- Xiao L, Fayer R. Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and Giardia and assessment of zoonotic transmission. *International Journal for Parasitology*. 2008; 38(11): 1239-55.

31- Koompapong K, Mori H, Thammasonthijarern N, Prasertbun R, Pintong AR, Popruk S, *et al.* Molecular identification of *Cryptosporidium* spp. in seagulls, pigeons, dogs, and cats in Thailand. *Parasite*. 2014; 21.

32- Graczyk TK, Majewska AC, Schwab KJ. The role of birds in dissemination of human waterborne enteropathogens. *Trends in parasitology*. 2008; 24(2): 55-9.

Genomic detection and study of the frequency of *cryptosporidium* infection in pigeons, in Isfahan

Majid Gholami-Ahangaran[*1], Mehrdad Ostadpoor[2], Oveys Pourmahdi[3]

1- Associated Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2- Graduated of Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
3- Graduated of Veterinary Medicine Faculty, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.

Receive: January 9, 2022; Revise: January 23, 2022; Accept: January 26, 2022

Summary

Cryptosporidiosis is an important parasitic disease in livestock, poultry and humans. It has great health and economic importance. Propagation of this parasite in livestock and poultry can preserve the parasite cycle in the environment. Therefore, disease control in this host is associated with reducing the load of *Cryptosporidium* in environmental and ultimately disease control in humans. For detection of *Cryptosporidium* in pigeons, 100 domestic pigeons of different genera were sampled in four different seasons at 2018. After extracting the genome from fecal samples, *Cryptosporidium* SS rRNA gene was detected with a special primer. In 6 samples (6%), 1325 bp fragment related to *Cryptosporidium* SS rRNA gene was amplified (4 female and 2 male pigeons). Statistically, there was no relationship between the sex and the incidence of infection. Studies showed that out of 6 positive samples, 5 samples were detected in the cold season and only one sample in the warm season. Data analysis shows that in cold seasons, the rate of infection is significantly higher than warm seasons (11.36% vs. 1.78%) ($P < 0.05$). The pigeons in Isfahan are infected to *Cryptosporidium* and it is necessary to carry out a proper control program in these birds as one of the hosts of this protozoan. Certainly, reducing the level of infection in pigeons can reduce the environmental contamination with the common pathogen between humans and animals.

Key words: *Cryptosporidium, Pigeon, Isfahan, PCR*