



T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**VAN İLİNDEKİ BUZAĞI DIŞKILARINDA *CRYPTOSPORİDUM*  
*SPP.* ANTİJENLERİNİN ELİSA İLE ARAŞTIRILMASI**

Ebe Hazal KAR AKDENİZ  
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI  
(VETERİNER PROGRAMI)  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. M. Serdar DEĞER

VAN-2022

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**VAN İLİNDEKİ BUZAĞI DIŞKILARINDA *CRYPTOSPORİDUM*  
*SPP.* ANTİJENLERİNİN ELİSA İLE ARAŞTIRILMASI**

Ebe Hazal KAR AKDENİZ  
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI  
(VETERİNER PROGRAMI)  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. M. Serdar DEĞER

VAN-2022

## ETİK BEYAN

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Van İlindeki Buzağı Dışkılarında Cryptosporidium spp. Antijenlerinin Elisa Yöntemi İle Araştırılması*” başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Hazal KAR AKDENİZ

Tarih:

İmza:

## TEŞEKKÜR

Tez konumun seçilmesinden çalıŐmalarımın yürütölmesine kadar her aŐamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda sonsuz desteğiyle gelişmeme katkıda bulunan Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı değerli danışman hocam Prof. Dr. M. Serdar DEğER'e en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Parazitoloji Anabilim Dalı'nda çalıŐmaya başladığım günden bu yana desteğini gördüğüm değerli hocalarım Prof. Dr. Kamile BİEK, Prof. Dr. Nalan ÖZDAL, Doç. Dr. Bekir OğUZ, Doç. Dr. Vural DENİZHAN, Dr. Öğr. Üyesi Ayşe KARAKUŞ, 'a teşekkür ederim.

Tez çalıŐmalarımın her aŐamasında birçok fedakârlıklar gösterip beni destekleyerek her an yanımda olan aileme ve eşim Mehmet Akdeniz'e teşekkürü borç bilirim. Ayrıca çalıŐmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen RaŐım Narin ve Mustafa Özoral'a da teşekkür ederim.

## ÖZET

**Kar H. Van İlindeki Buzağı Dışkılarında *Cryptosporidium spp.* Antijenlerinin ELISA Yöntemi İle Araştırılması. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2022.** Cryptosporidiosis, yaş ve immün sistem aracılığıyla kontrol edilen bir hastalık olup, yeni doğan buzağılarda genellikle bakteriyel (*E. coli*, ETEC-K99, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*), viral (coronavirüs ve rotavirüs) enfeksiyonlarla miks bir şekilde seyretmektedir. Günümüze kadar 30 *Cryptosporidium* türü bildirilmiş olmasına karşın sığırlarda *Cryptosporidium parvum*, *C. bovis*, *C. ryanae* ve *C. andersoni* olmak üzere dört tür yaygın olarak görülmektedir. Bunlardan *C. parvum* zoonotik tür olup insanlara da bulaşmaktadır. Van il merkezinde çeşitli bireysel buzağı ahır/çiftliği 2021 Mart-Nisan aylarında ziyaret edilmiştir. Altı aylığa kadar olan 94 adet buzağının rektumundan dışkı örnekleri toplanmıştır. Dışkı örneklerinde *Cryptosporidium spp.* antijenlerinin varlığı koproantijen-ELISA testi ile araştırılmıştır. Van ilinde buzağılarda *Cryptosporidium* prevalansı %12,7 (12/94) oranında bulunmuştur. *Cryptosporidium spp.* yaygınlığı üç aylıktan küçük buzağılarda (%24,3; 10/41) 3-6 aylık gruba göre (%3,7; 2/53) daha yüksek saptanmıştır. Hayvan yaşlarına göre cryptosporidiosis bakımından pozitiflik istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Dışilerde pozitiflik oranı 4/44 (%10), erkeklerde ise 8/50 (%16) olarak belirlenmiştir. Cinsiyet durumuna göre pozitiflik oranları karşılaştırılmış ve pozitif hayvanlar arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Zoonoz bir protozoal enfeksiyon olması bakımından sorumlu türlerin tanımlanması, tiplendirilmesi ve subtiplerinin belirlenmesine yönelik moleküler genetik araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Buzağı, *Cryptosporidium*, ELISA.

## ABSTRACT

**Kar H. The Investigation of the Presence of Antibodies for *Cryptosporidium spp.* in Calves Fecal Samples Using ELISA. University of Van Yuzuncu Yıl, Health Science Institute, Veterinary Faculty, Department of Parasitology, MSci Thesis, Van, 2022.** Cryptosporidiosis is a disease controlled by age and immune system, usually bacterial in newborn calves (E. coli, ETEC-K99, Salmonella spp., Campylobacter spp.) viral (coronavirus ve rotavirus) it progresses in a mixed manner with infections. Although 30 *Cryptosporidium* species have been reported to date, in cattle four species, *Cryptosporidium parvum*, *C. bovis*, *C. ryanae* and *C. andersoni*, are common. Of these, *C. parvum* is a zoonotic species and infects humans as well. Various individual calf barns/farms were visited in the city center of Van in March-April 2021. Stool samples were collected from the rectum of 94 calves up to 6 months old. In stool samples, *Cryptosporidium spp.* the presence of antigens was investigated by the coproantigen-ELISA test. The prevalence of *Cryptosporidium* in calves in Van was found to be 12,7% (12/94). *Cryptosporidium spp.* prevalence in calves less than three months old (24,3%; 10/41) it was found to be higher than the 3-6 month group (3,7%; 2/53). The positivity in terms of cryptosporidiosis was found to be statistically significant according to the age of the animals ( $P<0,05$ ). Positive rate in females 4/44 (10%), it was determined as 8/50 (16%) in men. The positivity rates were compared by gender and there was no statistically significant difference between positive animals in terms of gender ( $p>0,05$ ). Identification of the species responsible for being a zoonotic protozoal infection, for typing and determining subtypes molecular genetic studies are needed.

**Key words:** Calve, *Cryptosporidium*, ELISA.

## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	II
ETİK BEYAN.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IX
TABLolar LİSTESİ.....	X
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Taksonomi.....	3
2.1.1. <i>Cryptosporidium</i> türleri.....	4
2.2. Epidemiyoloji.....	4
2.3. Morfoloji.....	6
2.3.1. Yaşam döngüsü.....	8
2.4. Patogenez.....	11
2.4.1. Klinik belirtiler.....	11
2.5. Bulaşma Yolları.....	12
2.6. Tanı.....	13
2.6.1. Direkt dışkı muayenesi .....	13
2.6.2. Boyama yöntemleri .....	14
2.6.3. İmmunolojik yöntemler .....	15
2.6.4. Moleküler biyolojik yöntemler .....	15
2.7. Tedavi .....	16

2.8. Korunma .....	16
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	18
3.1. Çalışma Sahası ve Örneklerin Toplanması.....	18
3.2. ELISA Metodu (Enzim Linked Immunosorbent Assay).....	18
3.2.1. ELISA kiti içeriği.....	19
3.2.2. ELISA testinin uygulanması.....	20
3.2.3. ELISA test sonuçların değerlendirilmesi.....	21
3.3. İstatistiksel Analiz.....	21
4. BULGULAR.....	22
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	24
KAYNAKLAR.....	28
ÖZGEÇMİŞ.....	33
EKLER.....	34
EK 1. Etik Kurul Raporu.....	34
EK 2. Tez Orijinallik Raporu.....	35

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>AP</b>	: Auramine phenol
<b>DFA</b>	: Direct immunfloresans assay
<b>EIA</b>	: Enzyme immun assay
<b>ELISA</b>	: Enzyme liked immunosorbent assay
<b>IFA</b>	: İndirekt fluoresan antikor assay
<b>mAF</b>	: Modifiye asit-fast
<b>mZN</b>	: Modifiye Ziehl-Neelsen
<b>PCR</b>	: Polimeraz chain reaction

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b>	<i>Cryptosporidium</i> 'un yaşam döngüsünde ookistlerin gelişim evreleri.....	9
<b>Şekil 2.</b>	<i>Cryptosporidium</i> 'un yaşam döngüsü.....	10
<b>Şekil 3.</b>	Çalışmada kullanılan <i>Cryptosporidium</i> Antijen ELISA (orijinal).....	19
<b>Şekil 4.</b>	<i>Cryptosporidium</i> Antijen ELISA mikroyeğinde görülen pozitif (koyu sarı) ve negatif örnekler (renksiz).....	22



## TABLULAR LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b>	<i>Cryptosporidium</i> 'un sınıflandırılması.....	3
<b>Tablo 2.</b>	<i>Cryptosporidium</i> türleri	5
<b>Tablo 3.</b>	Van yöresinde çeşitli çalışma gruplarında görülen <i>Cryptosporidium</i> vakalarının dağılımı.....	6
<b>Tablo 4.</b>	Bazı apicomplexa protozoonlarının başlıca genomik karakterleri .....	7
<b>Tablo 5.</b>	Van yöresindeki buzağılarda <i>Cryptosporidium spp.</i> koproantijenlerinin klinik durum ve yaşa göre yaygınlığı.....	23
<b>Tablo 6.</b>	Van yöresindeki buzağılarda <i>Cryptosporidium spp.</i> koproantijenlerinin klinik durum ve cinsiyete göre yaygınlığı.....	23

## 1. GİRİŞ

Cryptosporidiosis, *Cryptosporidium* cinsi protozoon parazitlerin neden olduğu dünyada sıkça karşılaşılan ve 200'ü aşkın hayvanda görülen zoonotik bir hastalıktır. Özellikle omurgalıların gastrointestinal sistemine yerleşen *Cryptosporidium* türleri, kanatlılarda, balıklarda ve sürüngenlerde de karşımıza çıkar. Buzağılarda üriner sisteme, kanatlılar da ve domuzlarda solunum sistemine yerleşen türler, maymunlarda safra kesesi, safra yolları ve pankreasa yerleşebilmektedir. İnsanlarda ise gastrointestinal sistemin dışında solunum sistemi ve konjunktivada görülmektedir (Fayer, 2004).

Dünyada, *Cryptosporidium* cinsi protozoonlarla ilgili ilk bilimsel çalışma 1895 yılında J.J. Clarke tarafından yapılmıştır. J.J. Clarke, incelediği farelerde *Cryptosporidium* parazitini mide epitelleri üzerinde bulunan “spor kümesi” şeklinde gözlemlemiştir. Ardından Edward Ernest Tyzzer, çalışmalarında evcil farelerden yararlanarak onların mide bezlerini incelemiştir. Bu inceleme sonucunda gözlemlediği “spor kümesi”ne bir tanımlama getirerek *Cryptosporidium* demiştir (Ekinci, 2012).

*Cryptosporidium* cinsi protozoonlardan kaynaklanan enfeksiyonlar bazen akut tipte bazen de kronik tipte seyretmektedir. Bunun nedeni, konağın immun sistemine ve yaşına bağlı olarak enfeksiyonun şiddetinin ve süresinin değişmesidir. İmmun sistemi baskılanmış ya da immun yetmezliği olan enfekte konaklarda hastalık tablosu daha şiddetli seyrederek konağın ölümüyle sonuçlanabilir.

İnsan ve hayvanların sindirim sistemine yerleşen *Cryptosporidium*'lar su, toprak, hava ve solunum yoluyla konağa bulaşmaktadır. Dönemsel salgınlara neden olan hastalık, özellikle kırsal bölgelerde enfekte buzağı, kuzu gibi genç hayvanların çok sayıda ookisti dışkılarıyla dışarı atması sonucu yayılır. Bu ookistler, dış ortamda uzun süre canlı kalabildiği için özellikle sosyoekonomik düzeyi düşük olan ve su hijyeninin yeterince sağlanamadığı bölgelerde içme sularına karışarak salgınlara neden olabilmektedir. Dünyada *Cryptosporidium* cinsi protozoonların neden olduğu ilk salgın 1993 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nin Wisconsin eyaletinin Milwaukee şehrinde kayıtlara geçmiştir. 1993 yılındaki salgın 403 000 kişiyi etkilerken 100 kişinin de ölümüne neden olmuştur. Türkiye'de de insanlarda ve hayvanlarda sıkça görülen

*Cryptosporidium*, yenidoğan buzağlarda bakteriyel ve viral enfeksiyonlarla beraber seyretmektedir. Buzağlarda özellikle neonatal dönemde şiddetli diare tablosuyla seyreden hastalık “Neonatal Diare Sendromu” olarak da adlandırılmaktadır (Drisdelle, 2010; Fayer, 2004).

İnsan ve hayvanların önemli intestinal protozoon enfeksiyon etkenlerinden olan *Cryptosporidium* türlerinin son yüzyılda çeşitli moleküler tekniklerle tür düzeyinde belirlenmiş olması, zoonoz tür içermesi ve özellikle buzağlarda neden oldukları ekonomik kayıpları ile dikkat çekmektedir (Ekinci, 2012). Bu özelliklerinden dolayı bu protozoonun hızlı ve erken teşhisi önem kazanmaktadır. Bu çalışmada, koproantijen ELISA yöntemi ile Van merkezde yetiştirilen buzağlarda *cryptosporidium* prevalansının araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Taksonomi

*Cryptosporidium* cinsi protozoonların sistematikteki yerini Leger belirlemiştir. Leger'in 1911 yılında yerini belirlediği *Cryptosporidium*, ökaryotik bir protozoon olup tek hücrelidir ve şubesi Mioza şubesi, alt şubesi Apicomplexa, altsınıfı Cryptogregarida, takımı Cryptogregarida ve aile olarak Cryptosporidiidae ailesine mensuptur (Xiao ve ark., 2004; Fayer, 2010).

**Tablo 1.** *Cryptosporidium*'un Sınıflandırması (Fayer, 2008)

Alan	<b>Eucaryota</b>	Chatton, 1925
Alem	<b>Chromista</b>	Caval.-Sm. 1981
Üst alem	<b>Harosa</b>	Cavalier- Smith, 2010
Alt alem	<b>Halvaria</b>	Cavalier- Smith, 2010
Üst şube	<b>Alveolata</b>	Cavalier- Smith, 1991
Şube	<b>Mioza</b>	Cavalier- Smith, 1987
Alt şube	<b>Myzozoa</b>	Cavalier-Smith & Chao, 2004
Kök altı	<b>Apicomplexa</b>	Levine, 1970
Üst sınıf	<b>Sporozoa</b>	Leuckart, 1879
Sınıf	<b>Gregarinomorpha</b>	Grassé, 1953
Alt sınıf	<b>Cryptogregarida</b>	Cavalier-Smith, 2014
Takım	<b>Cryptogregarida</b>	Cavalier-Smith, 2014
Aile	<b>Cryptosporidiidae</b>	Léger, 1911
Cins	<b>Cryptosporidium</b>	Tyzzler, 1907

*Cryptosporidium* diğer apicomplexalardan, apicoplast organelleri, plastid ve mitokondri genomlarını kaybetmeleriyle ve konak özgüllük çeşitliliği ve morfolojik olarak ookistlerin daha küçük olmasıyla ayrılırlar. *Cryptosporidium* konak hücre içinde hücrenin apikal yüzeylerinde toplanır ve konak hücreye tutunması için besleyici organel veya multi membranlı tutunma şekillenir bu da parazitofor vakuolün tabanında gerçekleşir. Morfo-fonksiyonel açıdan ookistlerin iki tipi vardır. Otoenfektif döngüyü enfekte olmuş konakta ince cidarlı olanlar başlatırken küçük ebatlı olanın içinde polar

granüller, sporokist ve mikrofil bulunmamaktadır. *Cryptosporidium* coccidianlara göre ilkel/basit apicomplexan gregarine parazitleriyle daha yakın bağlantılıdır (Akalin, 2018).

### 2.1.1. *Cryptosporidium* türleri

*Cryptosporidium* türleri farklı hayvanlarda karşımıza çıkar. Özellikle sığır yavrularında neonatal dönemde karşılaşılan ishal bulgusunun nedeni araştırılırken yalnızca virüs, bakteri ve parazitler değil *Cryptosporidium* türleri de akla getirilmelidir. *Cryptosporidium*'un sığırlarda dört türü bulunmasına rağmen yenidoğan buzağılarda yalnızca *C.parvum* klinik hastalıklarda ilişkilendirilmiştir. *C. andersoni*'nin ise sadece yetişkin sığırları enfekte ettiği incelenmiştir (Thomson, 2017).

## 2.2. Epidemiyoloji

*Cryptosporidium* türü parazitler dünyanın her yerinde görülmektedir. *Cryptosporidium* ile ilgili ilk bilimsel çalışmayı 1895 yılında fareler üzerinde yapan Clarke'yi 1907 yılında Ernest Erward Tyzzer izlemiştir. Clarke gibi farelerin mide bez epitelini inceleyen Tyzzer, *Cryptosporidium* adını verdiği yeni bir cins saptamış ve bu ilk incelemesini *Cryptosporidium muris* türü olarak yayınlamıştır (Current ve Garcia, 1991). 1912 yılında yani *C. muris*'in yaşam döngülerinin aşamasını tamamladıktan iki yıl sonra yine farelerin ince bağırsağı üzerinde çalışarak daha küçük ookistlere sahip *C. parvum*'u isimlendirmiştir. 1929 yılında ise çalışmalarına tavukların sekum epitelini inceleyerek devam edip bu türün *C. parvum* ile aynı olduğunu raporlamıştır Xiao ve ark., 2004; Ekinci, 2012).

1955 yılında Slavin, *C.meleagridis* türünün hindilerde hastalık ve ölüme neden olduğunu saptamıştır (Fayer ve Ungar, 1986; Fayer, 2008). Bu çalışmaları 1971 yılında ishalleri buzağuların dışkılarını inceleyerek Panciera ve arkadaşları takip etmiştir (Spano ve Crisanti, 1999; Ekinci, 2012). 1974 yılında Meuten ve arkadaşları buzağının ileum ve kolonlarında görülen lezyonları inceleyerek *Cryptosporidium* gözlemlemiştir. İnsanlara ilişkin *Cryptosporidium* vakaları ise ilk kez 1976 yılında rapor edilmiştir (Burgu, 1984; Tzipori ve Ward, 2002).

Günümüzde kanatlı, sürüngen gibi birçok hayvanda görülen *Cryptosporidium* türü parazitlerle dünyanın Fransa, İspanya, Hindistan gibi ülkelerinde karşılaşılmaktadır. Özellikle sığırlarda görülen *Cryptosporidium* türlerinin epidemiyolojisi önemli faktörler içermektedir. Çünkü ookistleri oldukça dayanıklıdır ve boyutları nedeniyle kirli sulardan süzülmeleri güçtür (Fayer, 2004; Ekinci, 2012). Enfektif dozlarının düşük olmasının yanında zoonotik bulaş da oldukça kolaydır.

**Tablo 2.** *Cryptosporidium* Türleri (Şimşek, 2011)

Species (Tür)	Konak
<i>C. parvum</i>	İnsan, Sığır
<i>C. muris</i>	Fare
<i>C. andersoni</i>	Sığır
<i>C. baileyi</i>	Tavuk
<i>C. melaegridis</i>	Hindi
<i>C. serpentis</i>	Yılan
<i>C. nasorum</i>	Balık
<i>C. ryanae</i>	Sığır
<i>C. agni</i>	Koyun
<i>C. ameivae</i>	Kertenkele
<i>C. anserinum</i>	Sığır
<i>C. bovis</i>	Sığır
<i>C. crotali</i>	Yılan
<i>C. ctenosauris</i>	Kertenkele
<i>C. cuniculus</i>	Tavşan
<i>C. felis</i>	Kedi
<i>C. garhami</i>	İnsan
<i>C. lampropeltis</i>	Kertenkele
<i>C. vulpis</i>	Tilki
<i>C. wrairi</i>	Domuz
<i>C. rhesi</i>	Maymun
<i>C. tyzzeri</i>	Tavuk
<i>C. hominis</i>	İnsan

Sığırların *Cryptosporidium* ile enfekte olmasında en önemli faktörlerden biri yaştır. Yaş arttıkça riskin azaldığı gözlemlenirken 21 günlük buzağularda *Cryptosporidium* cinsi protozoonların görülme oranı oldukça yüksektir. Türkiye’de de

belli bölgelerde insanların geçim kaynağının hayvancılık olmasından kaynaklı *Cryptosporidium* cinsi protozoonların enfekte ettiği genç hayvanlara sıklıkla rastlanmaktadır. Türkiye’de buzağılarda *Cryptosporidium* vakalarına ilk kez 1984 yılında rastlanmıştır (Burgu, 1984). Tablo 3’te Van ilinde farklı yıllarda yapılan çalışmalarda insanlarda ve hayvanlarda *Cryptosporidium* türü parazitlerin görülme oranı verilmiştir.

**Tablo 3.** Van yöresinde çeşitli çalışma gruplarında görülen *Cryptosporidium* vakalarının dağılımı (Akalin, 2018)

Yıl	Çalışma grubu	Oran	Açıklamalar
2004-2006	Çocuklar	% 4,9	Diareli çocuklar
2008	Sığır	% 13,19	Buzağılar
2008	Farklı Gruplar	% 8,1- 1,1- 10,7- 13,2	%8,1 sığırlar %1,1 kesimhanede çalışan insanlar, %10,7 keçiler %13,2 koyunlar
2013	Mutfak Personeli	% 1,27	

### 2.3. Morfoloji

*Cryptosporidium* bulunduğu şubenin diğer üyeleriyle ortak morfolojik özellikler gösterirken ayırt edici çeşitli özellikler de gösterir. Bu farklı özellikler polar halkalar ve konoid, roptriler ve mikronem, yoğun granüller, pelikül, mikroporlar olarak sınıflandırılabilir (Şlapeta ve Morin-Adeline, 2011).

Genelde bir adet bulunan polar halkalar, pelikülün iç membran tabakasından oluşur. Konak hücrelerin istilasında rol alan konoid koni şekline sahip küçük bir yapıdır ve tarif edilemeyen filamentlerin spiral şeklini almasıyla oluşur. Roptriler ve Mikronemler parazitofor vakuol oluşması, konak hücrelere tutunma ve konak hücrelere yayılma için gerekli ürünleri içeren organellerdir. Dense granüller de yoğun granül içeriğine sahip salgı organelleridir ve parazitin yerleştiği konakta parazitofor vakuol olgunlaşmasında görevlidir. Mikroporlar, Apicomplexa şubesine bağlı üyelerin

nerdeyse bütün gelişim evrelerinde mevcuttur. Beslenme pelikülden köken alan mikroporlar aracılığıyla olur (Morissette ve Sibley, 2002; Blanckman ve Bannister, 2001).

*Cryptosporidium* türlerinin gelişme dönemleri incelendiğinde endojen ve eksojen olarak iki ana gelişme görülür. Bulaşıcı ve enfektif formu ise ookistlerdir. Bu ookistler kalın duvarlı olup dört sporozit bulundurmaktadır (Şimşek, 2011).

Enfekte hayvan binlerce ookisti dışkı aracılığıyla dış ortama bıraktığında su ve gıda gibi maddeler bu ookistlerin yayılmasını kolaylaştırır. Özellikle *C. parvum*'un su kaynaklı bulaştığı bilinmektedir. Daha çok insanlarda karşılaşılan *C. hominis* ise suyun yanında gıda kaynaklı da bulaşabilmektedir (Fayer ve ark., 2008).

Bugün yalnızca *C. parvum* ve *C. hominis*'in genom dizi analizi net olarak bilinmektedir (Abrahamsen ve ark., 2004). Bu iki türün sekiz kromozomu bulunur ve toplam genom büyüklüğü *C. parvum*'da 9,11Mb iken *C. hominis* 9,16 Mb büyüklüğündedir. Toplam gen sayısına bakıldığında 3 952 gen sayısına *C. parvum* sahipken 3 994 gen sayısına *C. hominis* sahiptir. *Cryptosporidium* türlerinin genomik yapısıyla diğer apicomplexa protozoonların genomik yapısı birbirinden farklılık gösterir (Xu ve ark., 2004). Bazı apicomplexa protozoonlarının ve *C. parvum* ve *C. hominis* türlerinin başlıca genomik karakterleri tablo 4'te verilmiştir.

**Tablo 4.** Bazı apicomplexa protozoonlarının başlıca genomik karakterleri (İnci, 2016)

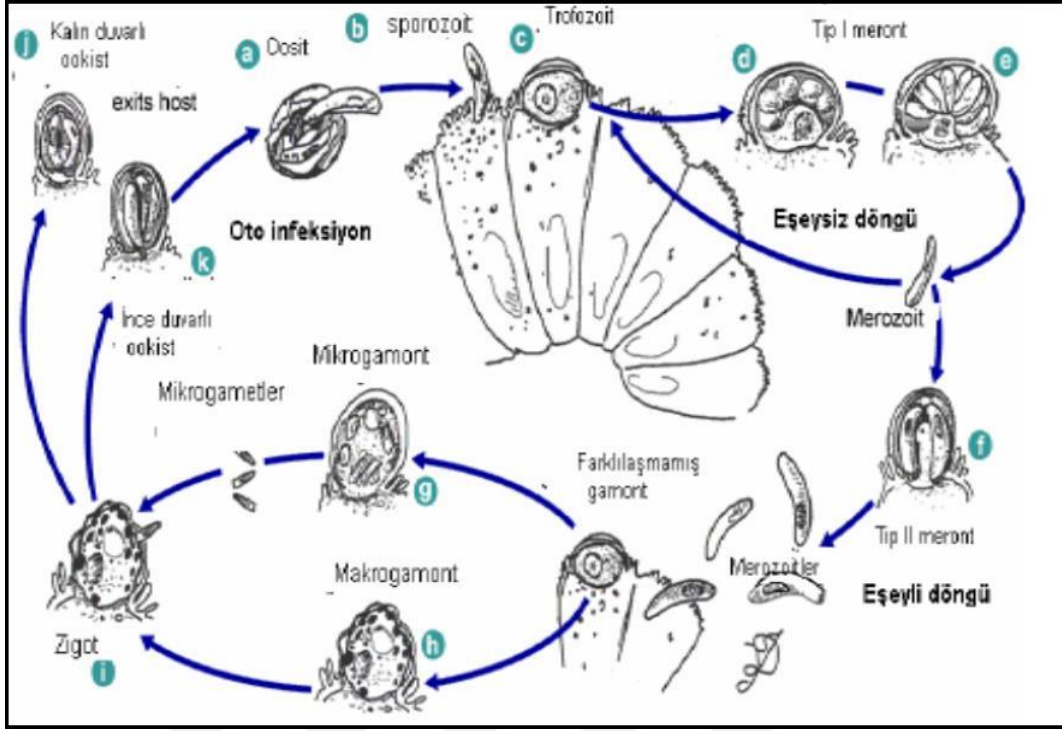
	<i>C. parvum</i>	<i>C. hominis</i>	<i>T. parva</i>	<i>B. bovis</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>T. gondii</i>
Kromozom Sayısı	8	8	4	4	14	14
Büyükük (Mb)	9,11	9,16	8,3	8,2	22,85	63
Ortalama Gen Uzunluğu (bp)	1,720	1,576	1,514	1,407	2,283	2,341
Toplam Guanin+Stozin Dağılımı	31,9	32,3	34,1	41,8	19,4	52,3
Gen Sayısı	3,952	3,994	4,035	3,671	5,268	7,286

### 2.3.1. Yaşam döngüsü

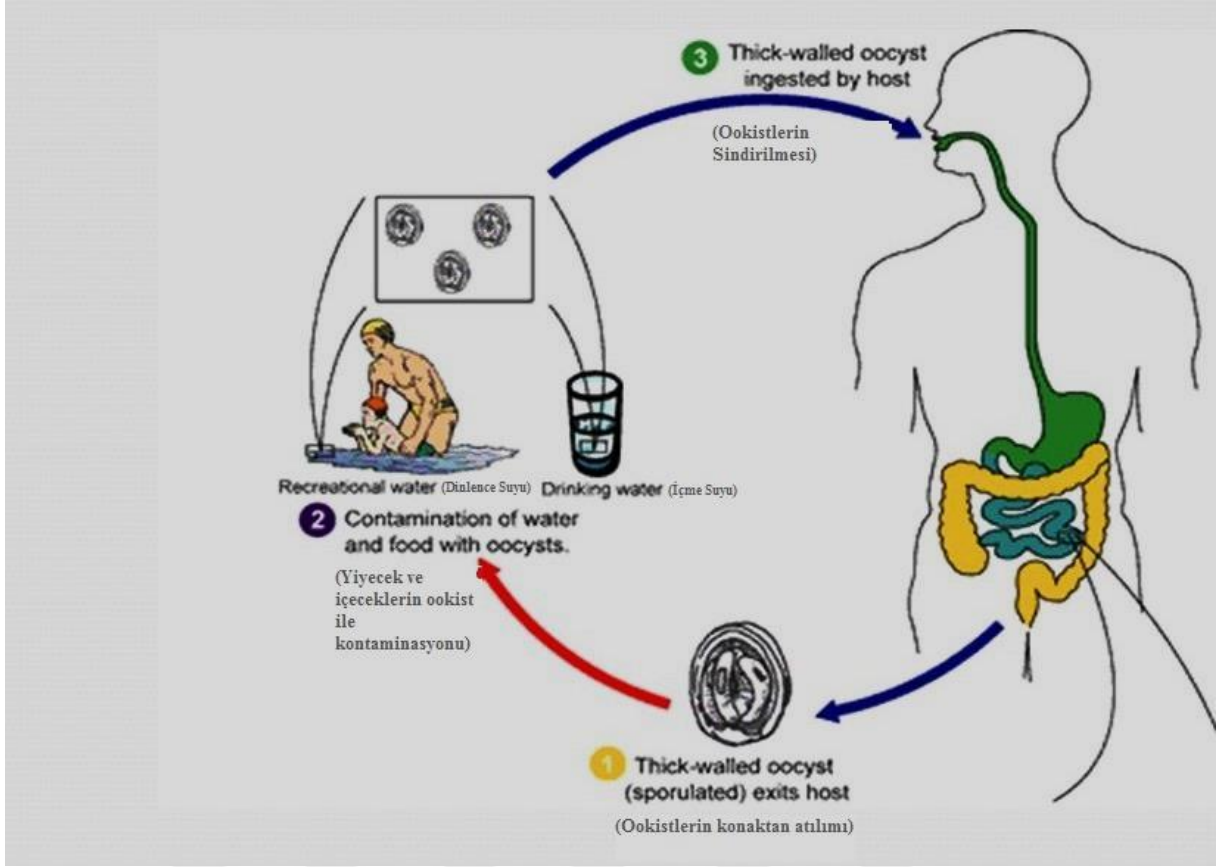
Enfekte konağın dışkı ve mukus gibi yollarla dış ortama bıraktığı ve dış ortamda yayılan sporlanmış ookistler, başka bir konağa solunum ya da ağız yoluyla yerleşir. İnce cidarlı ve hareketli yapıları bulunan ookistler sindirim veya solunum sistemi içine ilerler ve enfektif sporozoitleri burada serbest bırakır. Sindirim sisteminde serbest kalan sporozoitler, ilerlemeye devam eder ve ince bağırsak epitel hücreleri işgal edilir. Böylece *Cryptosporidium*'un yaşam döngüsünün konak içindeki safhası (endojen safha) başlamış olur. Sporozoitler bu safhada dairesel şekil alarak 2-2,5 µm çapında, yuvarlak veya oval yapılı, tek çekirdekli trofozoit yapısına dönüşür. Bu durum sporozoit ve merozoit arasında bir geçiş formudur.

Trofozoit içerisindeki çekirdeğin bölünmesiyle 6-8 çekirdek meydana gelir ve böylece 6-8 merozoit oluşur. Eşseysiz bölünme aşaması olan bu bölünme sonrasında iki tip meront (merozoitleri taşıyan hücre) tanımlanır. Ancak bu her *Cryptosporidium* türü için geçerli değildir çünkü *C.parvum* merontun iki tipini bulundururken *C. baileyi* merontun üç tipini bulundurur. (Thompson ve ark., 2005; Fayer, 2008; Ekinci, 2012). Merozoitin sekiz adedini taşıyan Tip I merontların çatlaması sonucu serbest kalan merozoitler yeni hücreleri enfekte ederler. Enfekte olan hücrelerde merogoninin yenisi başlar ve Tip I meront ya da Tip II meront karşımıza çıkar.

Tip II merontlar dört adet Tip II merozoiti oluşturur ve merozoitler serbest kaldığında gametler oluşmaya başlar. Eşeyli çoğalmanın başladığı bu dönemde merozoitler farklı konak hücrelerinin içine girdikten sonra makrogamontlara ve mikrogamontlara dönüşürler. Mikrogamet in makrogamet ile birleşmesiyle de zigot oluşur. Döllenen makrogametlerden oluşan olgunlaşmamış ookistler gelişerek enfektif dört adet sporozoit oluşturur. Sindirim ve solunum yoluyla konağı terk eden ookistlerden kalın cidarlı olanları konaklar arasında bulaşı sürdürür. %20 oranındaki ince cidarlı olanlar ise konakta kalarak bağırsak boşluğunda açılır. Bu da enfeksiyonun devam etmesine neden olur. Eşeyli ve eşseysiz çoğalmanın aynı konak üzerinde kesintisiz bir şekilde devam ettiği bu enfeksiyona oto enfeksiyon denir (Thompson ve ark., 2005; Şimşek, 2011; Ekinci, 2012; Akalın, 2018).



Şekil 1. *Cryptosporidium*'un yaşam döngüsünde ookistlerin gelişim evreleri (Delioğlu, 2011)



Şekil 2. *Cryptosporidium*'un yaşam döngüsü (Goldoft ve Todd, 2008)

## 2.4. Patogenez

*Cryptosporidium* enfeksiyonlarında patogenez sporozoitlerin, bağırsak enterositlerindeki fırça kenarlı yapıya tutunmaları ile başlar. Bu etkileşimden sonra ince ve kalın bağırsak boyunca enfeksiyon yayılır ve endojen formlar daha güçlü hale getirilmiştir. Bazen solunum epitel dokusu, mide mukozası, safra kanalı ve safra kesesi de enfekte olabilir.

*Cryptosporidium* kaynaklı enfeksiyon sonucunda ince bağırsak mukozası bozulur ve lezyonlar çekum, kolon ve duodenumda saptanır. Hastalığın seyrine göre bağırsak viluslarında hafif ve orta şiddette olmak üzere genel atrofi ve füzyon gözlenir. Enterokolitisin yanında mukoza kalınlığında azalma ve lamina propria hücre birikimi görülür. Bağırsakların emilim yüzeyi azalırken bağırsak mukozasında hiperemiyle beraber nötrofil granülositleri infiltrasyon olur.

*Cryptosporidium* türleri için konak-parazit arasındaki bağ ve invazyon önemlidir ve bu bağı etkileyen çeşitli faktörler vardır. *Cryptosporidium* türleri yerleştiği konağın farklı dokularını etkiler. Bu türlerden insanlarda parazitlik yapan *C. hominis* öncelikli olarak ince bağırsak ve kalın bağırsağa yerleşirken mide, safra kanalı, safra kesesi ve solunum sistemi *C. hominis* için insanlarda yerleşeceği ikincil dokulardandır. *C. parvum* koyun, keçi, domuz, sığır, fare gibi hayvanların ince bağırsağının yanında insan ince bağırsağına da yerleşir. Birincil doku olarak seçtiği ince bağırsağın yanında mide, safra kanalı, safra kesesi ve solunum sistemine de yerleşmektedir. Sığırları konak olarak seçen bir başka *Cryptosporidium* türü *C. andersoni* kırkbayıra yerleşir. Konağı tavuk olan *C. meleagridis* ve *C. baileyi* türlerinin yerleştiği birincil ve ikincil dokular birbirinden farklılık gösterir. *C. meleagridis* birincil olarak bağırsak, bursa fabricus ve kloak dokularına yerleşirken ikincil doku olarak mideyi seçer. *C. baileyi* ise trake, bronşlar, akciğer ve hava keselerini birincil doku olarak seçerken bağırsak, kloak ve fabricus kesesini ikincil doku olarak seçer (Thompson ve ark., 2005).

### 2.4.1. Klinik belirtiler

*Cryptosporidium* türlerinde en belirgin klinik belirtiler diyaredir. Özellikle yeni doğanlarda ve immun sistemi baskılanmış sığırlarda sarımtırak, yeşil renklere ya da

renksiz, kötü kokulu, mukuslu ya da kanlı dışkılama görülür. Diyareye halsizlik, iştahsızlık, beden ısısında hafif artış, gelişme geriliği, hayvanın arka tarafının dışkı ile bulaşık olması, kılların canlılığını yitirmesi-matlaşması ve dehidratasyon gibi belirtiler de eşlik edebilir. Yapılan bilimsel çalışmalarda Cryptosporidiosis ile enfekte en genç buzağının 4 günlük olduğu bilinmektedir (Snodgrass ve ark., 1980). Klinik belirtiler, ookistler konağa alındıktan sonra 3-5 günde ortaya çıkar ve 4-18 gün kadar devam edebilir. Ancak birçok olayda geçici iyileşme sonrasında enfeksiyonun tekrarladığı görülmüştür. Tablonun şiddetlendiği vakalarda aşırı dehidratasyona bağlı olarak metabolik asidosis ve ölüm görülebilir. Cryptosporidiosis'in şiddetli seyretmesi konağın vücuduna yerleşen ookist sayısı, sürü bağıışıklığı, başka enfeksiyonların varlığı, besleme gibi faktörlere göre değişkenlik göstermektedir. Özellikle yaşı üç haftadan küçük olan buzağılarda ölüm oranı yüksektir.

Neonatal diyareli vakalarda, *Cryptosporidium* türlerinin yanında başkaca enteropatojenler de görülebilmektedir. Cryptosporidiosis, rotavirus, coronavirus, ETEC-K99, Salmonella gibi etkenlerle beraber seyredilmektedir. Örneğin *C. parvum* ile beraber *Salmonella spp.* ortak hastalık tablosuna 35 günlük buzağılarda rastlanmaktadır. Bunun yanında klinik belirtilerin görülmediği vakalarda da (buzağı gibi) *Cryptosporidium* ookistleri saptanabilir (Dubey ve ark., 1990; İnci, 2016).

## 2.5. Bulaşma Yolları

Sığırlarda *Cryptosporidium*'un yayılması incelendiğinde çiftlik içinde ya da çiftlikler arasında bulaş olduğu görülmüştür. Yetişkin hayvan *Cryptosporidium parvum* ookistini dışkılama yoluyla atar. Yenidoğan ve emzirilme dönemindeki buzağılar ise bu ookistlerle kontamine olduğunda bulaşma döngüsü başlar. Buzağının kontamine olan yaşam alanı ya da doğrudan temas enfekte buzağıdan diğer buzağılara parazitini taşınmasına neden olur. Özellikle buzağılama dönemlerindeki artış hastalığın yayılmasının önemli etkenlerinden biridir. Buzağuların, buzağıdan buzağıya doğrudan temasın yanında kontamine sular ve yetişkin koyun gibi hayvanlar aracılığıyla enfekte olduğu da bilinmektedir.

Çiftlikler arasındaki bulaşma çiftlik içi hareketler veya enfekte hayvanların satın alınması yoluyla olur. Bunun yanında yakın veya ortak otlatma, serbest dolaşan yaban hayatı yoluyla da bulaşma gerçekleşebilir.

*Cryptosporidium* türleri risk grubunda bulunan insanlar arasından da kolayca bulaşabilmektedir. Çocuk bakıcıları, enfekte kişiyle ilgilenen insanlar, uluslararası yolculuk yapanlar, filtre edilmemiş, arıtılmamış ya da suyu kontamine olmuş kaynaklardan içen insanlar, veteriner hekimlerin enfekte çiftlik hayvanlarıyla ilgilenenleri, veteriner teknisyenleri, hayvan sahipleri, çiftlik çalışanları, insan dışkısına cinsel yolla maruz kalanlar, HIV virüsü taşıyanlar, enfekte evcil hayvan besleyenler *Cryptosporidium*'un bulaşmasını kolaylaştırmaktadır (Carpenter ve ark., 1999; Kelley, 2014; CDC, 2015c).

## **2.6. Tanı**

Yenidoğan buzağılarda ishalleri dışkı görülmesi birçok patojenin birlikte oluşturduğu bir semptom olduğu için tek başına *Cryptosporidium*'u tanımlamamıza yardımcı olmaz. Bu yüzden hastalığın tanısı için ayırıcı teşhise gidilmesi ve enfeksiyonun miks karakterde olup olmadığı belirlenmelidir. Bunun için bakteriyolojik, virolojik ve parazitolojik yöntemler kullanılabilir. *Cryptosporidium* enfeksiyonlarının teşhisine boyasız preparatlar, boyama yöntemleri, immunolojik yöntemler, antijen ve moleküler tanı yöntemleri yardımcı olur. Parazitin prevalansını belirlemek için ise boyama yöntemleri ve direkt floresan antikor testi (DFA) ile enzim immunoassay (EIA, ELISA) ve hızlı dipstick benzeri testler tercih edilmektedir (Ok ve ark., 1997, Geurden ve ark., 2008, Smith, 2008, Uyar ve Taylan Özkan, 2009).

### **2.6.1. Direkt dışkı muayenesi**

İshalleri buzağıdan alınan dışkı örneği *Cryptosporidium* türlerine bağlı ookist yönünden direkt olarak incelenebilmektedir. Ancak dışkı sulu değilse ve yumuşak ya da katı kıvamda ise sulandırılarak süzülür ve santrifüj edilir. Ardından dipteki sedimentten yaymalar hazırlanır ya da sukroz flotasyon yöntemi ile flote edilir. Bu işlem dışkı alındıktan hemen sonra yapılacaksa dışkıyı korumak için ek bir işleme gerek olmaz ancak dışkı uzun süre saklandıktan sonra incelenecekse %10 luk formalin, polivinyl

alkol (PVA) fiksatifleri ve sodyum asetat-asetik asit formalin (SAF) koruyucu olarak kullanılmalıdır. Ookist canlılığı uzun süre sağlanmak isteniyorsa 4 °C'de saklanacak şekilde dışkıya %2,5'luk potasyum dikromat ilave edilir ancak moleküler analizler yapılacaksa formalinde saklanmalıdır (Smith, 2008).

### 2.6.2. Boyama yöntemleri

Boyama yöntemlerinde hazırlanan preparatlarda kaç tane *Cryptosporidium* ookisti olduğu hayvandaki hastalığın şiddetini anlamamıza yardımcı olur. Boyama yöntemlerinde Karbol Fuksin, Auramin Fenol (AP), Modifiye Ziehl-Neelsen, Kinyoun Asit-fast, Modifiye Asit-fast (mAF) yöntemleri kullanılmaktadır.

Auramine Phenol (AP, Auramin Fenol) boyama yönteminde hazırlanan dışkı yaymaları *Cryptosporidium* ookistleri yönünden floresans mikroskopta incelenir. Hızlı bir teknik olan Auramine Phenol boyama yönteminde *Cryptosporidium* ookistleri siyah zemin üzerinde parlak yeşil floresans veren, yuvarlak, 3-7 mikron büyüklüğünde görülür. Aynı ookistler daha sonra DNA ekstraksiyonu için de kullanılabilir (Smith, 2008).

Modifiye Ziehl-Neelsen (mZN) boyama yönteminde 20'lik objektifte ookistler görülebilir. DNA ekstraksiyonu için daha sonra kullanılabilen ookistler kırmızı yapılar şeklinde solgun yeşil zemin üzerinde görülür (Smith, 2008).

Kinyoun Asit-Fast boyama yöntemi *Cryptosporidium* ookistlerini açık pembeden kırmızıya çalan renkte boyamaktadır. Bunu mavi veya soluk kırmızı zemin üzerinde yapar. Ookistler parlak kırmızı değildir bu yüzden dışkıda seyrek bulunduğu gözden kaçabilirler (Mıstık ve ark., 1992; Ok ve ark., 1997).

Modifiye Asit-Fast yönteminde ookistler, yoğun kırmızı-pembe renge boyanır ve çoğunun içinde birden fazla sayıda siyah muntazam olmayan mavi zemin üzerinde kolaylıkla fark edilen granüller görülür (Ok ve ark., 1997).

Karbol Fuksin boyama yönteminde eter-alkol karışımında temizlenmiş dışkı örneği lam üzerine bir bağıt yardımı ile bir damla kadar alınır ve yine aynı miktar karbol-fuksin dışkı örneğinin yanına konularak karıştırıldıktan sonra ince bir dışkı

frotisi hazırlanır. Hazırlanan froti 1-2 dakikalık kurumaya bırakıldıktan sonra üzerine bir damla immersiyon yağı damlatılır ve lamelle kapatılarak 40x10 büyütmede incelenir. Boyama sonrasında ookistlerin şeffaf, oval yapıda, düzgün duvarlı, parlak ve kırmızı zemin üzerinde şiddetli ışık kırıcı özellikte oldukları gözlenir (Burgu, 1984; Özlem ve ark. 1997).

### **2.6.3. İmmunolojik yöntemler**

Direct Immunfloresans Assay (DFA), İndirekt Fluoresan Antikor Assay (IFA) ve Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) testleri *Cryptosporidium* türlerinin immünolojik yöntemle tanısına yardımcı ve boyama tekniklerine göre daha duyarlı testlerdir.

Direkt immunofloresans testi (DFA), günümüzde referans test olarak kabul edilmektedir. Çünkü 20 modifiye asit-fast boyama yöntemlerine oranla daha yüksek duyarlılık (%99) ve spesifiteye (%100) sahiptir. Ayrıca bu test dışkı örneklerinden SAF solüsyonu içinde saklanılanlara da uygulanabilmektedir.

IFA testi pahalı bir teknik olması ve uygulama için floresans mikroskoba ihtiyaç duyulması nedeniyle dezavantajlıdır ancak dışkı örnekleri az sayıda ookist içerse de incelenebilir. Böylece hastalığa erken dönemde tanı konulabilir ve asemptomatik taşıyıcıların belirlenmesi sağlanır.

Enzimli İmmun Test veya Enzyme Immun Assay (EIA) olarak ta adlandırılan ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) testi parazitolojide yaygın olarak kullanılan bir testtir. Çünkü yüksek duyarlılık içerir, kolay uygulanır, kullanılan reaktiflerin uzun süre saklanabilmesi mümkündür, çok sayıda numune kısa sürede çalışılabilir, sonuçların spektrofotometrede objektif olarak değerlendirilebilir (Özcel ve ark., 1997).

### **2.6.4. Moleküler biyolojik yöntemler**

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), *Cryptosporidium* türlerinin tanımlanması için yaygın olarak kullanılan ve yüksek derecede hassasiyete sahip bir tanı yöntemidir.

Hızlı ancak hassas olması nedeniyle cansız mikroorganizmalar, laboratuvar kontaminasyonu, çıplak nükleik asitlerden kaynaklı yanlış pozitifler görülebilmektedir (Fayer ve ark. 2000).

## 2.7. Tedavi

Günümüzde Cryptosporidiosis enfeksiyonunu ortadan kaldıracak bir tedavi henüz bulunmamaktadır. Ancak hastalık belirtilerinin şiddetini ve ookist sayısını azaltacak şekilde geniş spektrumlu antibiyotikler ve antiprotozoal bileşikler kullanılabilir. Buzağılarda en önemli belirti diyare olduğu için tedavide de öncelik diyarenin şiddetine bağlı dehidrasyonun önlenmesidir. Bu yüzden sıvı tedavisi ve asit-baz dengesini düzenleyen tedavi uygulanır. Normal immuniteye sahip bir hastada elektrolit tedavisinin etkili olduğu bilinmektedir (Sears ve Kirkpatrick, 2001; Fahey, 2003). Spiramycin, lasalocid, halofuginone lactate, decoquinate ve paromomycine Cryptosporidiosis enfeksiyonunun tedavisinde kullanılan ilaçlar arasındadır. Halofuginone lactate'ın 120mg/kg dozda buzağılara verilmesiyle parazite ait klinik bulguları azalttığı ancak ilacın kesildikten sonra da hayvanların ookist çıkarımına devam ettiğini görülmüştür (Naciri ve ark., 1993). Bu ilaçların yanında Anti-*Cryptosporidium* antikorları içeren kolostrum da Cryptosporidiosis enfeksiyonunun tedavisinde fayda sağlamaktadır (Thompson ve ark., 2005).

## 2.8. Korunma

Cryptosporidiosis enfeksiyonları hayvanlarda kilo kaybı, beslenme bozukluğu hatta ölüme neden olabildiği için enfeksiyonun önlenmesi ekonomik açıdan önemlidir. *Cryptosporidium* türleri arasında ana zoonotik tür *C. parvum*'dur. 30 günlükten büyük hayvanlarda *C. parvum*'a nadiren rastlanırken özellikle neonatal dönemdeki hayvanlarda ve genç ruminantlarda enfeksiyon etkeni olmaktadır. Bu yüzden *Cryptosporidium* türlerinden korunmada en etkili faktör kolostrumdur çünkü kolostrum neonatal dönemdeki hayvanlarda kan yoluyla aktarılamayan antikorların oral yolla alınmasını sağlar. Ağız yoluyla kolostral antikor alan buzağılar alamayanlara oranla ölüm ve hastalık riski 2-4 kat azalmaktadır. Ancak yeni doğanın kolostrumu vücuduna

aldığı süre önemlidir bu yüzden en geç 12-24 saat içinde alması gerekmektedir (İnci, 2016).

*Cryptosporidium* türlerinin neden olduğu enfeksiyonların yayılmasını önlemek için çevresel faktörlere dikkat edilmelidir. Kapalı veya yarı açık yetiştirme tipi, iklim, hayvanların merada olmaması, yeni doğan hayvanlarla yetişkinlerin bir arada bulunması, altlık durumu, su içme düzeni ve şekli, içme suyunun hijyeni, altlık temizleme biçimi ve sıklığı, bir arada bulunan hayvan sayısı, farklı yaş aralıklarındaki hayvanların aynı bölmelerde bulunması gibi çeşitli faktörler çevresel faktörler arasında sayılabilir.

Cryptosporidiosis enfeksiyonlarının yayılmasını önlemek için ookist yayılımının önüne geçmek gerekir. *Cryptosporidium* ookistleri, dış ortamda canlılıklarını uzun süre koruyabilir, az sayıda ookist hayvanı enfekte edebilir ve birçok dezenfektana karşı dirençlidir. Bu yüzden ookistlerin yayılmasına yönelik önlemler alınmalıdır. *Cryptosporidium* ookistlerinin -20 °C'de 72 saat süreyle dondurularak ya da 45 °C - 55 °C'de 20 dakika süreyle ısıtılarak patojenitesi azalmaktadır (Unat, 1995). Ookist dezenfeksiyonu için de % 0,08'lik sodyum hipoklorit (NaClO) kullanılmaktadır. Ayrıca %5'lik amonyak (NH<sub>3</sub>) +4°C'de 18 saat uygulandığında ookist etkinliğini yok etmektedir. Bunların yanında hayvanların toplu şekilde değil tek tek barındırılması, hayvan barınaklarındaki havalandırmaya dikkat edilmesi, su hijyeninin sağlanarak her hayvana ayrı su kabı temin edilmesi, yemlik ve samanlıkların dışkı ile bulaşmasının önüne geçilmesi, buzağının annesi ile barındırılmaması, altlıkların sık değiştirilmesi, enfeksiyonu taşıyan hayvanlarla sağlıklı olanların ayrı yerlerde barındırılması enfeksiyona karşı alınacak önlemler arasındadır (Gündüz, 2012; İnci, 2016; Akalın, 2018).

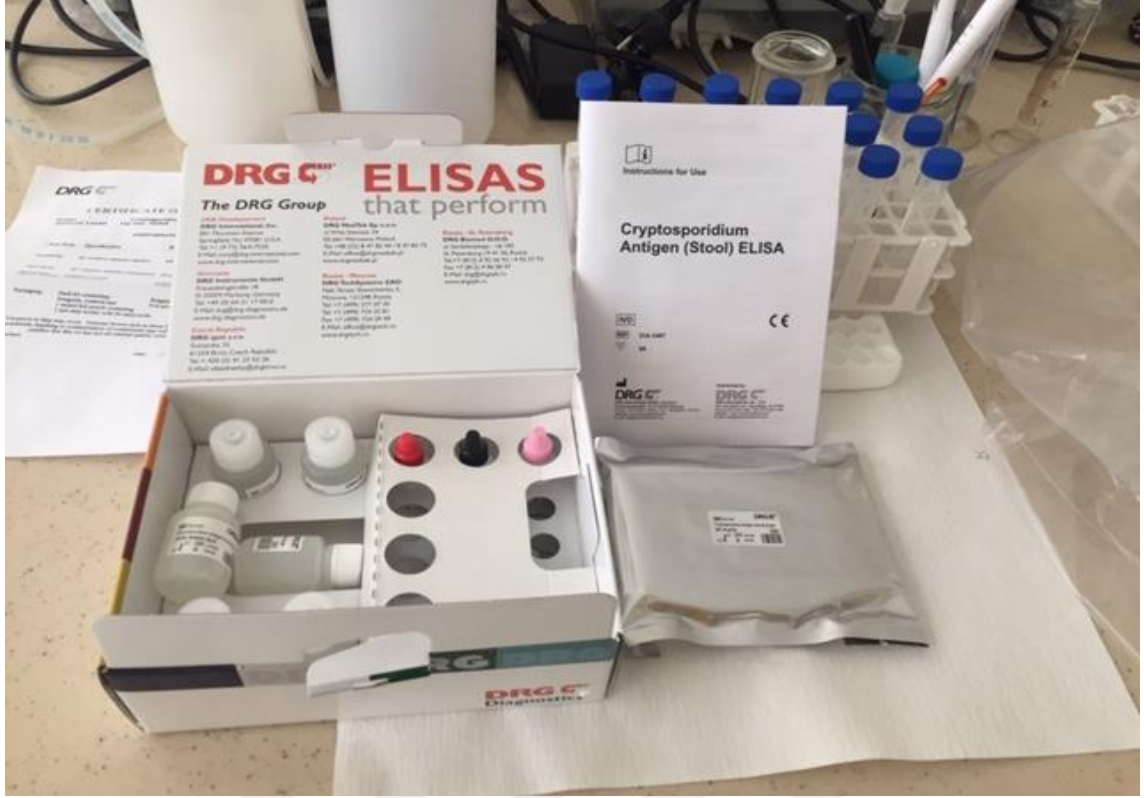
### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Çalışma Sahası ve Örneklerin Toplanması

Bu çalışma, Mart-Nisan 2021 tarihleri arasında Van ve yöresinde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Van ve yöresinde yetiştirilen ve rastgele usulle seçilen 6 aylığa kadar olan toplam 94 buzağı belirlenmiştir. Bu amaçla her hayvanın rektumundan yaklaşık 50-100 gr dışkı kaplarına alınmış ve numaralandırılmış protokole geçilerek ve incelenmek üzere laboratuvara getirilmiştir. Hayvanların yaş ve cinsiyet özellikleri kaydedilmiştir. Çalışmada kullanılan dışkı örnekleri ishalleri ve normal olarak gruplandırılmıştır.

#### 3.2. ELISA Metodu (Enzim Linked Immunosorbent Assay)

ELISA testi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmada, *Cryptosporidium* antijenlerinin araştırılması amacıyla ELISA (stool) kiti (DRG Inc., EIA-3467, USA) kullanılmıştır (Şekil 3).



**Şekil 3.** Çalışmada kullanılan *Cryptosporidium* Antijen ELISA kiti (orijinal)

ELISA testi kit prosedüründe belirtildiği şekilde yapılmıştır. Hazırlanan mikroplattler ELISA okuyucusunda (Bio-Tek Instruments, MicroQuant micropleyt reade) 450 nm dalga boyunda okutulmuştur.

### 3.2.1. ELISA kiti içeriği

- a. 96 kuyucuklu *Cryptosporidium* antikor kaplı pleyt
- b. Pozitif ve negatif kontrol
- c. Stok solüsyonlar ve tamponlar:
  - i. Enzim konjugat
  - ii. Kromojen
  - iii. Dışkı sulandırma tamponu

iv. 20X Konsantre yıkama solüsyonu

v. Stop solüsyonu.

### 3.2.2. ELISA testinin uygulanması

#### Örneğin Hazırlanması

İshalli olan dışkı örnekleri direkt olarak, normal kıvamlı olanlar ise sulandırılmıştır.

Kitin uygulanmasında aşağıdaki aşamalar izlenmiştir.

1- Tüm malzemeleri (solüsyonlar + pleyt) kullanmadan en az yarım saat önce oda ısısına (+15-25 C<sup>0</sup>) çıkartılmıştır.

2- Yıkama solüsyonunu 20 kat distile su ile seyreltildi. Dilüsyon buffer solüsyonu ise sulandırılmadan kullanılmıştır.

3- Dışkı örnekleri 0,1 gr dışkı 0,7 ml dilüsyon buffer ile sulandırıldı ve dilue edilmiş örnekler her bir göze 100 mikrolitre olacak şekilde konulmuştur.

4- Pleytin ilk kuyucuğuna pozitif kontrol serum, sonraki kuyucuğuna ise negatif kontrol serumlardan 100 µl konulmuştur.

5- Numuneler pleytlere konulduktan sonra oda ısısında (+15-25 C<sup>0</sup>) 1 saat inkübasyona bırakılmıştır.

6- İnkübasyondan sonra pleyt daha önce (2 numaralı aşamada açıklandığı gibi) hazırlanmış olan yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkanmıştır.

7- Enzim konjugatından her göze iki damla olacak şekilde tüm gözlere eklenmiş ve oda ısısında ile 30 dk. inkübe edilmiştir.

8- Pleyt tekrar yıkanmıştır.

9- Kromojen her göze iki damla olacak şekilde tüm gözlere eklenmiş ve yine oda ısısında 10 dk. inkübe edilmiştir.

10-Her göze iki damla kullanıma hazır stop solüsyonu eklenmiştir.

11- Renk değişimi 450 nm filtre kullanarak ELISA okuyucusunda okutulmuştur.

### **3.2.3. ELISA test sonuçların değerlendirilmesi**

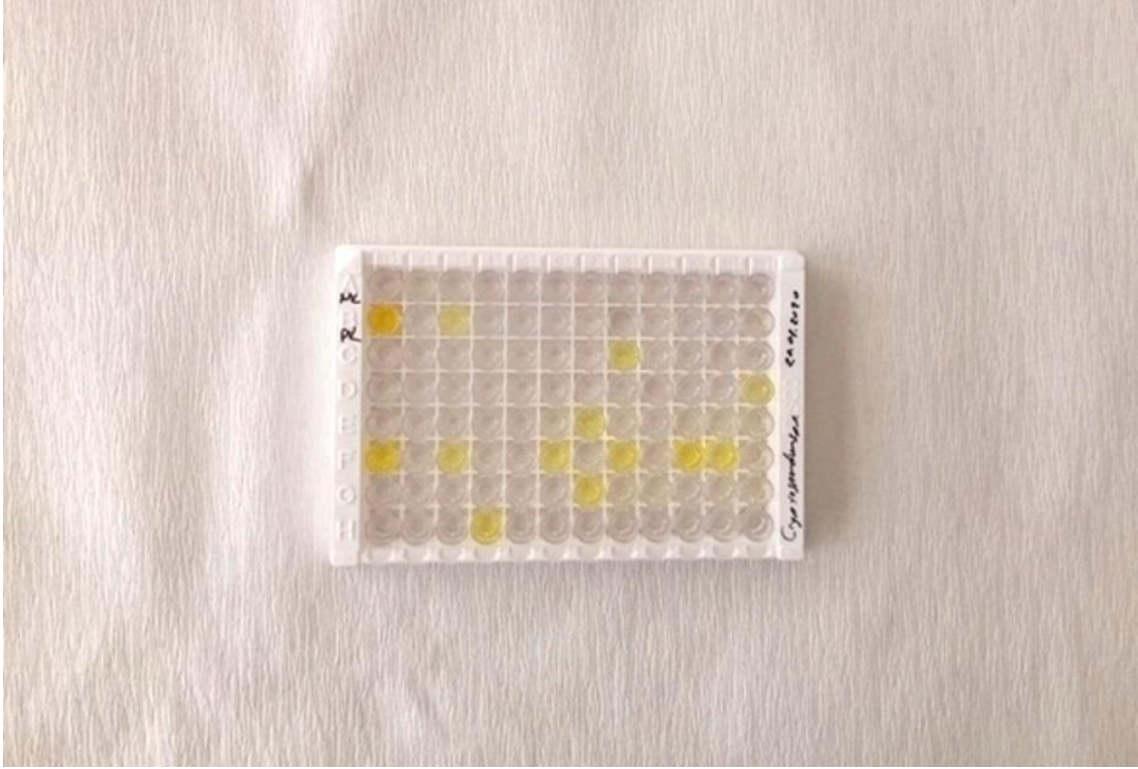
Sonuçların değerlendirilmesinde 0,08 OD biriminden büyük ve koyu sarı olan örnekler pozitif (+), 0,08 OD biriminden düşük ve renksiz olanlar ise negatif (-) olarak kabul edilmiştir.

### **3.3. İstatistiksel Analiz**

Verilerin istatistiksel analizleri, gruplar arasındaki farkın anlamlılık derecesine göre SPSS paket programı kullanılarak,  $p < 0,05$  anlamlı kabul edilip veriler değerlendirilmiştir.

## 4. BULGULAR

*Cryptosporidium spp.* ELISA kiti (DRG, EIA-3467, USA) ile koproantijenler yönünden incelenen 94 dışkı örneğinin 12'si (%12,7) pozitif bulunmuştur (Şekil 4).



**Şekil 4.** *Cryptosporidium* Antijen ELISA mikroyeğinde görülen pozitif (koyu sarı) ve negatif örnekler (renksiz)

*Cryptosporidium spp.* yaygınlığı üç aylıktan küçük buzağılarda (%24,3; 10/41) 3-6 aylık gruba göre (%3,7; 2/53) daha yüksek saptanmıştır. *Cryptosporidium spp.* saptanan 12 pozitif olgunun 10'nun ishalleri, 2'sinin normal olduğu gözlenmiştir. *Cryptosporidium spp.* koproantijenleri en yüksek oranda (%10,6; 10/94) üç aylıktan küçük ishalleri buzağılarda görülmüştür (Tablo 5). Hayvan yaşlarına göre cryptosporidiosis bakımından pozitiflik istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0,05$ ;  $p = 0,003$ ).

Dişilerde pozitiflik oranı 4/44 (%10), erkeklerde ise 8/50 (%16) olarak belirlenmiştir (Tablo 6). Cinsiyet durumuna göre pozitiflik oranları karşılaştırılmış ve

kopropozitif hayvanlar arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ;  $p=0,317$ ).

**Tablo 5.** Van yöresindeki buzağılarda *Cryptosporidium spp.* koproantijenlerinin klinik durum ve yaşa göre yaygınlığı.

Yaş	İncelenen buzağı sayısı	İshalli		Normal	
		N	%	N	%
< 3 aylık	41	8	19,5	2	4,8
3 - 6 aylık	53	2	3,7	-	-
<b>Toplam</b>	<b>94</b>	<b>10</b>	<b>10,6</b>	<b>2</b>	<b>2,1</b>

**Tablo 6.** Van yöresindeki buzağılarda *Cryptosporidium spp.* koproantijenlerinin klinik durum ve cinsiyete göre yaygınlığı.

Cinsiyet	İncelenen buzağı sayısı	İshalli		Normal	
		N	%	N	%
Erkek	50	7	14	1	2
Dişi	44	3	6,8	1	2,2
<b>Toplam</b>	<b>94</b>	<b>10</b>	<b>10,6</b>	<b>2</b>	<b>2,1</b>

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

*Cryptosporidiosis* dünyanın çeşitli ülkelerinde yaygınlık gösterdiği ve birçok hayvanla beraber insanlarda da parazitlik yaptığı için 1895'ten bu yana araştırma konusu haline gelmiştir. Sosyo-ekonomik seviyenin düşük olduğu gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde daha yaygın görülür ve buna bağlı olarak *Cryptosporidium* cinsi protozoonlardan kaynaklanan enfeksiyonlar ve mortalite oranı bu ülkelerde daha yüksek seyretmektedir. *Cryptosporidium* türleri incelendiğinde ise *C. parvum* ve *C. hominis* türlerinin dünyada daha fazla yaygınlık gösterdiği görülmüştür. Suriye, Afganistan, Ürdün gibi Ortadoğu ülkelerinde daha çok *C. parvum* yaygınken Afrika, Avustralya, Kuzey Amerika, Güney Amerika, Japonya, Çin gibi ülkelerde *C. hominis* yaygınlığı daha fazladır. (Xiao L., 2010, Shrivastava A.K. ve ark., 2017).

*Cryptosporidiosis* buzağı, kuzu ve oğlaklarda ciddi ishal görülmesi ve ölümlere neden olabilmektedir. Bugüne kadar sığırlarda bu hastalıktan sorumlu türler *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium bovis*, *Cryptosporidium ryanae* ve *Cryptosporidium andersoni* olarak tespit edilmiştir. Bu türlerden *Cryptosporidium parvum* hem zoonoz olması hem de neonatal buzağılarda şiddetli diyare tablosuna sebebiyet vermesi bakımından diğerlerinden ayrılmaktadır (Şimşek, 2011; Arslan 2015; Gong ve ark., 2017)

*Cryptosporidium* enfeksiyonuna ilk defa 1976 yılında iki insanda rastlanmıştır. 1984 yılında İngiltere'de 24 olgu kaydedilirken ülkemizde ise ilk olarak 1984 yılında bildirilmiştir (Şimşek, 2011; Arslan, 2015). Dünyanın her yerinde görülen bu vakalarda bulaşmanın sadece insanlar ve hayvanlar aracılığıyla değil çeşitli gıdalar, içme ve kaynak suları aracılığıyla da olduğu yapılan araştırmalarla kanıtlanmıştır. Özellikle *Cryptosporidium* cinsi protozoonlar içme suyu süzgeçlerinden kolaylıkla geçmelerinin yanında klora dirençlidir. Bu iki nedenle kaynak sularında *Cryptosporidium* cinsi parazitlerin prevalansı yüksektir ve parazit az sayıda da olsa enfeksiyona neden olur. Şu ana kadar *Cryptosporidium* enfeksiyonu yönünden kaydedilmiş en büyük salgın Amerika'nın Milwaukee eyaletinde gerçekleşmiştir ve indirekt bulaşma kontamine olmuş içme suyu nedeniyle olmuştur. Bu salgın sonucunda 403 000 kişinin *Cryptosporidiosis* sonucu enfekte olduğu kaydedilmiştir (MacKenzie ve ark.,1994).

Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde yapılan çalışmalara bakıldığında kaynak ve içme sularında farklı oranda *Cryptosporidium* ookistlerine rastlanmıştır (Kurşun 2003; Aysal, 2004; Kaçmaz, 2015; Yalçın 2017). Bu çalışmanın yapıldığı Van yöresinde incelenen içme sularında pozitiflik bulunmuştur (Çiçek ve ark. 2011).

*Cryptosporidium* 200'ün üzerinde hayvan türünde parazitlik yapmaktadır. Örneğin ülkemizde son yıllarda yapılmış konvansiyonel çalışmalarla *Cryptosporidium* spp. ookistleri; Aydın'da kedilerde %5 (Uğursal, 2021), Van'da kedilerde %10,44 (Karakuş ve ark., 2021), Ege Bölgesinde köpeklerde %15,5 (Öner, 2019), Van'da köpeklerde %15,78 (Denizhan ve ark., 2019), Kars yöresinde kazlarda %3,2 (Çağatay, 2019) oranında tespit edilmiştir. Cryptosporidiosis çeşitli hayvan türlerinde görülse de yaygınlığının en fazla araştırma konusu yapıldığı hayvanlar besi hayvanlarıdır. Özellikle neonatal dönemdeki buzağılar için dünya çapında morbidite ve mortalite nedenidir.

Dünyada *Cryptosporidium* ookist teşhisinde konvansiyonel yöntem kullanan ülkeler bulunmaktadır. Bu yöntemle buzağılarda *Cryptosporidium* ookisti prevalansı üzerine çalışmalar yapan bazı ülkeler ve *Cryptosporidium* oranları şu şekildedir; Brezilya'nın Paraíba eyaletinde %25, İran Urmiye'de % 2,5, Avusturya'daki buzağı örneklerinde bu oran %55,4, İsveç'te %36,7, Cezayir'de %52,2, Fransa'da 1995 ve 1996 yıllarının farklı aylarında yapılan iki çalışmanın ilkinde %17,9, ikincisinde %43,4, Bangladeş'te %8,3, Mısır'ın Kafr El Sheikh Eyaletinde 30,2, Arjantin'de %25,5, Güney Etiyopya'da %69,6'dır (Rahman ASM ve ark., 1998; Lefay D. ve ark., 2000; Amer S. ve ark., 2010; Feitosa T.F. ve ark., 2013; Björkman C. ve ark., 2015; Ouakli N. ve ark., 2018; Tavassoli M. ve ark., 2018; Lombardelli J.A. ve ark., 2019; Lichtmannsperger L. ve ark. 2020; Hailu M. ve ark., 2020).

Türkiye'de kırsal alanlarda insanlar tarafından önemli bir geçim kaynağı olan hayvancılık için koyun, keçi, sığır gibi hayvanların *Cryptosporidium* cinsi protozoonlar yönünden incelenmesi ve parazitin bulaşmanın yaygınlığı söz konusuysa veteriner hekimler ve besi yetiştiricileri tarafından önlemler alınması hem hayvan ve insan sağlığı hem de ülke ekonomisi açısından önemlidir. *Cryptosporidium* buzağılarda bağışıklık sisteminin diğer yaş gruplarına oranla düşük olması sebebiyle daha fazla parazitlik yapmaktadır. Özellikle bir aylıktan daha küçük buzağılarda daha yaygın görülmektedir. Bu çalışmada da en yüksek prevalans üç aylıktan küçük buzağılarda belirlendi. Yaş

grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ( $P<0,05$ ;  $p=0,003$ ). *Cryptosporidium* enfeksiyonunun 1-3 aylıklarda daha yüksek oranda görüldüğü benzer çalışmalarda bildirilmiştir (Ekinci, 2012; Akalın, 2018).

Nevşehir’de yetiştirilen buzağı dışkılarında da *C. parvum* ookistlerine rastlamak mümkündür. 2010-2011 yılları arasında Real Time PCR yöntemiyle 150 adet 1-3 aylık buzağı dışkısı incelenerek yapılan çalışmada *C. parvum* pozitiflik oranı %20,7’dir (Şimşek, 2011). Buzağular üzerinde dar kapsamlı başka bir çalışma Afyonkarahisar’da yapılmıştır. Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezine ishal şikayetiyle getirilen 101 buzağı dışkısından 20 tanesinde *Cryptosporidium* ookistlerine rastlanmıştır (Şen, 2017). Tokat ilinde farklı büyükbaş hayvan işletmelerinden temin edilen 107 adet neonatal ishallerli buzağı dışkısı *Cryptosporidium* yönünden immunokromatografik olarak hazır tanı kitiyle analiz edilmiş ve %11,21 oranında pozitiflik saptanmıştır (Coşkun ve ark., 2018). Sivas’ın Şarkışla ilçesinde buzağularda *Cryptosporidium spp.*’nin genel prevalansı %31,4 olarak tespit edilmiştir (Değerli ve ark., 2005). Van ve Hakkâri illeri de sanayi gelişiminin sınırlı olduğu ve tarımın her bölgesinde yaygın olmadığı Doğu Anadolu illerindedir. Bu yüzden yerel halk arasında küçükbaş ve büyükbaş hayvan yetiştiriciliği önemli geçim kaynaklarından sayılır ve bu illerde yetiştirilen besi hayvanlarında da cryptosporidiosis vakalarına rastlanır. Hakkâri’de 123 adet 3-12 aylık buzağı ve dana, 17 adet sığır dışkısı modifiye Ziehl-Neelsen yöntemiyle incelendiğinde *Cryptosporidium* %31,70 olarak en fazla 3-6 aylık buzağularda görülürken toplamda 31 vakada (%22,14) ookiste rastlanmıştır (Göz ve ark., 2007). Siirt’te hızlı diagnostik test ile 100 ishallerli 10 sağlıklı buzağı dışkısı incelendi ve %10 oranında *Cryptosporidium* ookistlerine rastlandı (Tunçay İ., 2016). Haziran 2016- Şubat 2017 tarihleri arasında Van’da yetiştirilen 50 adet buzağıyla yapılan çalışmada buzağuların 30’u ishallerli 20’si sağlıklı olarak seçilmiştir. İshallerli buzağularda *C. parvum* ookistlerine %10 oranında rastlanmıştır (Ekici, 2018). Bu çalışma, Van’da cryptosporidiosis’in teşhisinde dışkıda parazitin excret/secret antijenlerini tespit etmek için ELISA metodu ile yapılmış ve buzağularda fasciolosis yaygınlığının %12,7 olduğu ortaya konmuştur. Bu sonuçlar Türkiye’nin çeşitli bölgelerinden bildirilen bazı bulgular (Tunçay 2016; Coşkun ve ark., 2018) ile paralellik göstermekle birlikte, küçük farklılıkların olduğu, bunun sebepleri de

araştırmalardaki örnek sayısı, klinik durum ve buzağı yaşının etkili olabileceği kanaatine varılmıştır.

Sonuç olarak Van ilinde halk elinde yetiştirilen buzağılarda *Cryptosporidium spp.* prevalansının %12,7 olduğu, bu oranın ishallerde ve 1-3 aylık yaş aralığında daha da yükseldiği saptanmıştır. Bununla birlikte, *C. parvum*'un insanlarda zoonoz olarak cryptosporidiosis neden olması sebebiyle tür teşhisine dayalı yöntemlerin kullanıldığı daha kapsamlı araştırmaların yapılmasına ihtiyaç olduğu da açıktır. Bu testin özellikle cryptosporidiosis açısından fazla sayıda örnek teşkil eden çalışmalarda, hızlı ve duyarlılığının yüksek olması bakımından moleküler tekniklerin yanında ek olarak kullanılmasının son derece önemli olduğu kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- Akalın B. Kütahya ili çevresinde buzağılarda *Cryptosporidium* (Tyzzer, 1907) türlerinin moleküler yöntemlerle araştırılması [Yüksek lisans tezi]. Kütahya: Kütahya Dumlupınar Üniversitesi; 2018.
- Ahmed SO, Hamed MI, Yones DA. Molecular and conventional detection of zoonotic Giardia and *Cryptosporidium* in children and calves in Upper Egypt. Am J Infect Dis. 2016;4(4):91-4.
- Al M. İshalli neonatal buzağılarda rotavirus, coronavirus, e. coli k99 ve *C. parvum*'un hızlı test kitleri ile teşhisi ve bu hastalıkların maternal immünite ile ilişkisinin araştırılması [Yüksek lisans tezi]. Elazığ: Fırat Üniversitesi; 2012.
- Amer S, Fayed M, Honma H, Fukuda Y, Tada C, Nakai Y. Multilocus genetic analysis of *C. parvum* from Egypt. Parasitol Res. 2010;107(5):1043-47.
- Aysal S. Isparta bölgesindeki çeşitli su kaynaklarında *C. parvum*, *G. intestinalis*, *enterohemorrajik E.coli* ve diğer enteropatonların araştırılması [Yüksek lisans tezi]. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi; 2004.
- Björkman C, Lindström L, Oweson C, Ahola H, Troell K, Axén C. *Cryptosporidium* infections in suckler herd beef calves. Parasitol. 2015;142(8):1108-14.
- Blackman MJ, Bannister LH. Apical organelles of apicomplexa: Biology and isolation by subcellular fractionation. Mol Biochem Parasitol. 2001;117(1):11- 25.
- Burgu A. Türkiye’de buzağılarda *Cryptosporidium*’ların bulunuşu ile ilgili ilk çalışmalar. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 1984;31(3):573-85.
- Carpenter C, Fayer R, Trout J, Beach MJ. Chlorine disinfection of recreational water for *C. parvum*. Emerg Infect Dis. 1999; 5(4):579–84.
- Coşkun A, Kaya U. Tokat Bölgesindeki Neonatal Buzağı İshallerinin Etiyolojisinin Belirlenmesi. Manas J Agr Vet Life Sci. 2018;8(1):75-80.
- Cryptosporidium*: Sources of Infection & Risk Factors [İnternet]. 2015 [Erişim tarihi 1 Nisan 2015]. Erişim adresi: <https://www.cdc.gov/parasites/crypto/infection-sources.html>.
- Current WL, Garcia LS. Cryptosporidiosis, Clin Microbiol Rev. 1991;4(3):325–58.
- Çağatay S, Kars yöresinde evcil kazlarda (anser anser) *cryptosporidium* türleri üzerine araştırmalar / Kars yöresinde evcil kazlarda *cryptosporidium* [Yüksek lisans tezi]. Kars: Kafkas Üniversitesi; 2019.
- Çiçek M, Körkoca H, Akkaş Ö. Van İli içme sularının *Cryptosporidium spp.* oookistleri yönünden incelenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg. 2011;68(3):122–6.
- Değerli S, Çeliksöz A, Kalkan K, Özçelik S. Prevalence of *Cryptosporidium spp.* and Giardia spp. in cows and calves in Sivas. Turk J Vet Anim Sci. 2005;29:995-9.
- Denizhan V, Karakuş A. Van İlindeki Sokak Köpeklerinde Gastrointestinal Protozoonların Prevalansı. Dicle Üniv Vet Fak Derg. 2019;12(1):25–9.
- Drisdelle R. Parasites: Tales of Humanity’s Most Unwelcome Guests. Los Angeles: University of California Press; 2010.

- Dubey JP, Speer CA, Fayer R. Sarcocystosis of animals and man. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc; 1989.
- Ekici A, İnsanlarda ve buzağlarda cryptosporidiosis yaygınlığının farklı yöntemlerle araştırılması ve *cryptosporidium* türlerinin tiplendirilmesi [Doktora tezi]. Van: Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi; 2018.
- Ekinci Aİ, Kars yöresinde sığırlarda *cryptosporidium* türlerinin prevalansı ve moleküler karakterizasyonu [Doktora tezi]. Kars: Kafkas Üniversitesi; 2012.
- Fahey TMD. Cryptosporidiosis. Elsevier Science Inc. 2003;10(2):75-80.
- Fayer R, Ungar PLB. *Cryptosporidium spp.* and Cryptosporidiosis. Microbiol Rev. 1986;50(4):458-83.
- Fayer R, Morgan U, Upton SJ. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. Int J Parasitol. 2000;30:1305-22.
- Fayer R, *Cryptosporidium*: A water-borne zoonotic parasite. Vet Parasitol. 2004;126(1-2):37-56.
- Fayer R, Santín M, Trout JM. *C. ryanae* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). Vet Parasitol. 2008;156(3-4):191-8.
- Fayer, R. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. Exp Parasitol. 2010;124(1):90-7.
- Feitosa TF, Vilela VLR, Athayde ACR. First report of *Cryptosporidium spp.* and *Giardia duodenalis* in calves from northeastern Brazil. Turk J Vet Anim Sci. 2013;37:743-46.
- Feng Y, Ortega Y, He G, Das P, Xu M, Zhang X ve ark. Wide geographic distribution of *C. bovis* and the deer-like genotype in bovines. Vet Parasitol. 2007;144(1-2):1-9.
- Goldoft MJ, Todd D. Cryptosporidiosis. Epitrens, 2008;13(7):1-4.
- Gong C, Cao XF, Deng L, Li W, Huang XM, Lan JC ve ark. Epidemiology of *Cryptosporidium* infection in cattle in China: a review. Parasite. 2017;24:1.
- Göz Y, Gül A, Aydın A. Hakkari Yöresinde Sığırlarda *Cryptosporidium sp.*'nin Yaygınlığı. YYÜ Vet Fak Derg. 2007;18(2):37-40.
- Geurden T, Claerebout E, Vercruyssen J, Berkvens D. A Bayesian evaluation of four immunological assays for the diagnosis of clinical cryptosporidiosis in calves. Vet J. 2008;176:400-402.
- Gündüz N, Kars yöresindeki buzağlarda *cryptosporidium* enfeksiyonları prevalansının asit fast boyama (MAF) ve elisa yöntemleriyle belirlenmesi [Yüksek lisans tezi]. Kars: Kafkas Üniversitesi; 2012.
- Hailu M, Asmare K, Gebremedhin EZ, Sheferaw D, Gizaw D, Marco VD ve ark. *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in dairy calves in southern Ethiopia. Parasite Epidemiol Control. 2020;10:e00155.
- Irmak K, Şahal M. Buzağlarda deneysel Cryptosporidiosis'de klinik bulgular ve sağaltım. Türk J Vet Anim Sci. 1993;17:81-88.

- Kaçmaz M, Diyarbakır yöresinde çeşitli su kaynaklarında *cryptosporidium* ve *giardia* türlerinin araştırılması [Yüksek lisans tezi]. Kars: Kafkas Üniversitesi; 2015.
- Karakuş A, Denizhan V. Van İlindeki Kedilerde Gastrointestinal Parazit Enfeksiyonları. Van Sag Bil Derg. 2021;14(2):191-198.
- Kelley AS. Defining Serious Illness. J Palliat Med. 2014;17(9):985.
- Khan SM, Debnath C, Pramanik AK, Xiao L, Nozaki T, Ganguly S. Molecular characterization and assessment of zoonotic transmission of *Cryptosporidium* from dairy cattle in West Bengal, India. Vet Parasitol. 2010;171(1-2):41-7.
- Kolören Z, Delioğlu BK. Prevalence of *Cryptosporidium* species in water supplies of Amasya, Middle Black Sea, by Acid-Fast staining methods. JABS. 2011;5(3):79-82.
- Kozat S, Tuncay İ. Siirt yöresindeki yenidoğan ishallerde *Rotavirus*, *Coronavirus*, *Cryptosporidium Spp*, *Escherichia coli K 99* ve *Giardia lamblia* etkenlerinin prevalansı. Van Vet J. 2018;29(1):17-22.
- Kurşun Ö. Ankara'daki Değişik Su Kaynakları İle Kasaplık Sığır ve Koyun Dışkılarında *Cryptosporidium spp.* oocistlerinin varlığı [Doktora tezi]. Ankara: Ankara Üniversitesi; 2003.
- Küliğ CC, Coşkun A. Sivas ve ilçelerindeki neonatal ishallerde *E. coli*, *Cryptosporidium*, *Clostridium perfringens*, *Rotavirüs* ve *Coronavirüs* Prevalansı. Turk Vet J. 2019;1(2):69-73.
- Lee SH, VanBik D, Kim HY, Lee YR, Kim JW, Chae M. Multilocus typing of *Cryptosporidium spp.* in young calves with diarrhea in Korea. Vet Parasitol. 2016;229:81-89.
- Lefay D, Naciri M, Poirier P, Chermette R. Prevalence of *Cryptosporidium* infection in calves in France. Vet Parasitol. 2000;89:1-9.
- Lichtmannsperger K, Harl J, Freudenthaler K, Hinney B, Wittek T, Joachim A. *C. parvum*, *C. ryanae*, and *C. bovis* in samples from calves in Austria. Parasitol Res. 2020;119:4291-4295.
- Lombardelli J, Tomazic ML, Schnittger L, Tiranti K. Prevalence of *C. parvum* in dairy calves and GP60 subtyping of diarrheic calves in central Argentina. Parasitol Res. 2019;118:2079-2086.
- MacKenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blair KA, Peterson DE ve ark. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. N Eng J Med. 1994;331(3):161-7.
- Makdam M, Başbuğan Y. Relationship between Cystatin C with some hematological and biochemical parameters in neonatal calf diarrhea. TJVR. 2020;4(2):79-87.
- Mıstık R, Helvacı S, Akdiş C, Töre O. Bursa yöresinde sağlıklı ve diareli kişilerde *Cryptosporidium* araştırması. Türkiye Parazit Derg. 1992;16(2):1-5.
- Morrisette NS, Sibley LD. Cytoskeleton of apicomplexan parasites. Microbiol Mol Biol Rev. 2002;66(1):22-38.

- Naciri M, Lelay MP, Mancassola R, Poirier P, C Bernerte R. Role of *C. parvum* as a pathogen in necrotic diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Vet Parasitol.* 1999;85:245-257.
- Naciri M, Mancassola R, Yvone P, Peeters JE. The effect of halofuginone lactate on experimental *C. parvum* infections in calves. *Vet Parasitol.* 1993;45:199-207.
- Ok ÜZ, Girginkardeşler N, Kilimcioğlu A, Limoncu E. Dışkı İnceleme Yöntemleri. Özcel MA, Altıntaş N, editörler. *Parazit Hastalıklarında Tanı.* İzmir: T Parazitol Dern Yay; 1997.
- Ouakli N, Belkhiri A, Lucio A, Köster P, Djoudi M, Dadda A ve ark. *Cryptosporidium*-associated diarrhoea in neonatal calves in Algeria. *Vet Parasitol: Regional Studies and Reports.* 2018;12:78-84.
- Öner G, Ege bölgesindeki köpeklerde *Cryptosporidium spp.*'nin prevalansı [Yüksek lisans tezi]. Aydın: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi; 2019.
- İnci A. Sığırlarda Cryptosporidiosis. Özcel MA, İnci A, Köroğlu E, Karaer Z, Eren H, Yukarı BA, Dumanlı N, Aydın L, Yıldırım A, Editörler. *Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları.* İzmir: Türkiye Parazitol Dern Yay; 2016.
- Özlem MB, Eren H, Kaya O. Aydın yöresi buzağularda *Cryptosporidium*'ların varlığının araştırılması. *Bornova Vet Kontr. Araş Enst. Derg.* 1997;22:15-22.
- Puiu D, Enomoto S, Buck GA, Abrahamsen MS, Kissinger JC. CryptoDB: the *Cryptosporidium* genome resource. *Nucleic Acids Res.* 2004;32:329-331.
- Rahman ASM, Al-Mahmud KA, Islam AWMS, Mondal MMH, Rahman A. *Cryptosporidium* diarrhoea in dairy calves and their attendants in Bangladesh. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1998;27(2):247
- Robaiee IA, Farwachi MA. Direct ELISA aided coprological diagnosis of *C. parvum* infection in diarrheic neonatal calves in Mosul city, Iraq. *J. Adv. Vet. Anim. Res.* 2014;1(1):8-10.
- Sears CL, Kirkpatrick BD. Cryptosporidiosis and Isosporiasis. Gillespie S, Pearson RD, editörler. *Principles and Practice of Clinical Parasitology.* Toronto: John Wiley & Sons Ltd.; 2001.
- Shrivastava AK, Kumar S, Smith WA, Sahu PS. Revisiting the global problem of cryptosporidiosis and recommendations. *Trop Parasitol.* 2017;7(1):8-17.
- Smith H. Diagnostics. Fayer R, Xiao L, editörler. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. 2. Boca Raton, FL: CRC Press; 2008.
- Snodgrass DR, Angus KW, Gray EW, Keir WA, Clerihew LW. Cryptosporidia associated with rotavirus and an *Escherichia coli* in an outbreak of calf scour. *Vet Record.* 1980;106(22):458-460.
- Spano F, Crisanti A. *C. parvum*: The Many Secrets of a Small Genome. *Int J Parasitol.* 1999;30:553-65.
- Šlapeta, J., Morin-Adeline, V. Apicomplexa Levine 1970. Sporozoa Leucart 1879 [Internet]. 2011 [Erişim Tarihi 18.05.2011]. Erişim adresi: <http://tolweb.org/Apicomplexa/2446/2011.05.18>.

Şen İ, Buzağı ishallerinde e coli, cryptosporidium ve giardia yaygınlığı [Yüksek lisans tezi]. Afyonkarahisar: Afyon Kocatepe Üniversitesi; 2017.

Şimşek AT, Nevşehir yöresindeki ishallerde *Cryptosporidium* türlerinin moleküler prevalansı ve karakterizasyonu [Yüksek lisans tezi]. Kayseri: Erciyes Üniversitesi; 2011.

Şimşek AT, İnci A, Yıldırım A, Çiloğlu A, Bişkin Z, Düzlü Ö. Nevşehir yöresindeki yeni doğan ishallerde *Cryptosporidiosis*'in Real Time PCR ve Nested PCR yöntemleri ile saptanması. Erciyes Üniv Vet Fak Derg. 2012;9(2):79-87.

Tavassoli M, Dalir-Naghadeh B, Valipour S, Maghsoudlu M. Prevalence of Gastrointestinal Parasites in Water Buffalo (*Bubalus bubalis*) Calves Raised with Cattle in Smallholder Farming System in the Northwest of Iran. Acta Vet Eurasia. 2018;44(1):6-18.

Thomson S, Hamilton CA, Hope JC, Katzer F, Mabbott NA, Morrison LJ ve ark. Bovine cryptosporidiosis: impact, host -parasite interaction and control strategies. Vet Res. 2017;48(1):1-16.

Thompson RCA, Olson ME, Zhu G, Enomoto S, Abrahamsen MS, Hijjawi NS. Adv Parasitol. 2005;59:77-158.

Tunçay İ, Siirt yöresindeki yenidoğan ishallerde *rotavirus*, *corona virus*, *cryptosporidium SPP*, *escherichia coli k99* ve *giardia lamblia* etkenlerinin prevalansı [Yüksek lisans tezi]. Van: Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi; 2016.

Tzipori S, Ward H. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. Microbes Infect. 2002;4(10):1047-58.

Uğursal A, İshallerde *cryptosporidium SPP*'nin araştırılması [Yüksek lisans tezi]. Aydın: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi; 2021.

Unat EK, Yücel A, Alta K, Unat'ın Tıp Parazitolojisi: İnsanın ökaryonlu parazitleri ve bunlarla oluşan hastalıkları. 5. baskı. İstanbul: Cerrahpaşa Tıp Fak Yay; 1995.

Uyar Y, Taylan Özkan A. Amebiyazis, giardiyazis ve kriptosporidiyazis tanısında antijen tarama yöntemlerinin yeri. Türkiye Parazitol Derg. 2009;33(2):140-50.

Yalçın S, Erzincan ilinde farklı su kaynaklarından *C. parvum*' un moleküler yöntemlerle tespit edilmesi [Yüksek lisans tezi]. Erzincan: Erzincan Üniversitesi; 2017.

Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton JS. *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health. Clin Microbiol Rev. 2004;17(1):72-92.

Xiao L. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: An update. Exp Parasitol. 2010;124(1):80-90.

Xu P, Widmer G, Wang Y, Ozaki LS, Alves JM, Serrano MG ve ark. The genome of *C. hominis*. Nature. 2004;431(7012):1107-12.

## Ek 2. Tez Orijinallik Raporu



T.C.  
**VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü**



### G19 – TEZ ORJİNALLİK RAPORU

<b>Tez Başlığı / Konusu</b>	<b>VAN İLİNDEKİ BUZAĞI DIŞKILARINDA CRYPTOSPORİDUM SPP. ANTİJENLERİNİN ELİSA İLE ARAŞTIRILMASI</b>			
<b>İntihal taraması yapılan bölümler ve sayfa sayıları</b>				
Kapak sayfası	Giriş	Ana bölümler	Sonuç bölümleri	Toplam sayfa sayısı
<b>4</b>	<b>2</b>	<b>14</b>	<b>6</b>	<b>26</b>
İntihal taraması yapılan program			Taramanın yapıldığı tarih	Benzerlik oranı %
Turnitin			11 /08 / 2022	<b>%9</b>
<b>*Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:</b> - Kabul ve onay sayfası hariç, - Teşekkür hariç, - İçindekiler hariç, - Simge ve kısaltmalar hariç, - 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words) - Gereç ve yöntemler hariç, - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - Tezden çıkan yayınlar hariç,				
<p>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihali içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabulettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.</p> <p style="text-align: center;">Gereğini bilgilerinize arz ederim.</p> <p style="text-align: right;">Hazal KAR AKDENİZ İmza</p>				
<b>Öğrencinin Adı Soyadı</b>	Hazal KAR AKDENİZ			
<b>Anabilim Dalı</b>	Parazitoloji (Veteriner)			
<b>Öğrenci No</b>	19930001049			
<b>Programı</b>	<input type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input type="checkbox"/> Doktora			