

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARS YÖRESİNDE EVCİL KAZLARDA (*ANSER ANSER*)
CRYPTOSPORIDIUM TÜRLERİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

Yüksek Lisans Tezi

Bio. Sibel ÇAĞATAY

Danışman

Prof. Dr. Barış SARI

PARAZİTOLOJİ ANABİLİMDALI

KARS-2019

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARS YÖRESİNDE EVCİL KAZLARDA (*ANSER ANSER*)
CRYPTOSPORIDIUM TÜRLERİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

Yüksek Lisans Tezi

Bio. Sibel ÇAĞATAY

Danışman

Prof. Dr. Barış SARI

Bu tez Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2016-TS-88 proje numarası ile desteklenmiştir.

PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

KARS-2019

TC
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Parazitoloji Anabilim Dalı Yüksek lisans Programı çerçevesinde Sibel ÇAĞATAY tarafından hazırlanmış olan “Kars Yöresinde Evcil Kazlarda (*Anser Anser*) *Cryptosporidium* Türleri Üzerine Araştırmalar” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmenliği uyarınca değerlendirilerek oy **birliği**..... ile **kabul** edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28/06/2019

Adı Soyadı: Sibel ÇAĞATAY

İmza:

Başkan: Prof.Dr. Atila AKÇA

Üye: Prof.Dr.Alparslan YILDIRIM

Üye: Prof.Dr.Bariş SARI



Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../... gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Kazlar evcilleştirilen ilk kanatlı hayvanlar olup, diğer kanatlılara göre farklı verim özelliklerine sahip olan; yabancı bitkileri, otları, selüloz içeriği yüksek yem maddelerini sindirebilen, soğuk iklim koşullarına, hastalık etkenlerine dayanıklı, barınak gereksinimi az olan besi kabiliyeti yüksek kanatlılardır. Oldukça zeki, kolay öğrenen, iyi bir hafızaya sahip olan kazlar su kuşları arasında yer alan, ördek ve kuğularla benzer özellikler gösterirler (Acha ve Szyfres 1989, Tilki ve Saatçi 2013).

Dünyada ve ülkemizde kanatlı hayvan yetiştiriciliği içerisinde kaz yetiştiriciliği (kazların üreme yeteneklerinin diğer kanatlılara göre daha sınırlı olması nedeniyle) son sıralarda yer almaktadır. Dünyada; İngiltere, Kanada, Çin, ABD, Polonya, Fransa, Bulgaristan ve Rusya'da kaz yetiştiriciliği yapılmaktadır. Dünya'da birçok ülkede kaz yetiştiriciliğinin ekonomik bir yeri olmasına rağmen, Türkiye'de yapılan yetiştiricilik ekonomik olmaktan uzaktır. Ülkemizde kaz üretimi Doğu Anadolu, Orta Anadolu ve İç Ege Bölgesi olmak üzere başta Kars, Erzurum, Ağrı, Van, Muş gibi şehirlerimizde yapılmakta olsa da küçük kaz gruplarına ülkemizin her ilinde rastlanmaktadır. Doğu Anadolu Bölgesinde özellikle Kars ve Ardahan'da kaz yetiştiriciliğinin yaygın olmasının nedenleri arasında; tarım ürünlerinin çeşitliğinin fazla olmaması, soğuk havalarda kaz eti ve yağının tercih edilmesi, sanayinin yeterince gelişmemesi, gelir kaynağının daha çok hayvancılığa dayalı olması ve kazın aile tipi kanatlı yetiştiriciliğine uygun olmasındandır (Acha ve Szyfres 1989, Tilki ve Saatçi 2013).

Kaz tüyü, karaciğer, kaz eti, yumurta kazlardan elde edilen başlıca ürünlerden olup baş, ayaklar, taşlık ve bağırsaklar da tüketilmektedir. Kaz tüyü; hijyenik, terletmeyen, yıkanabilir bir dolgu maddesi olduğundan mont, yorgan, yastık, uyku tulumu, olta iğnesi yapımında kullanılmaktadır. Kaz eti lezzetli bir et olup, Dünya kanatlı eti üretimi içinde kaz ve ördek etinin payı %7,2'dir. Kaz etinin her kilogramında tavuk etinden çok daha fazla enerji vardır. Çünkü kazlarda daha fazla yağ bulunur. Kazlar etleri için beslendiklerinde diğer kanatlı türlerine göre çok daha fazla canlı ağırlığa ulaşırlar. Kaz yetiştiriciliğinin önemli ürünlerinden birisi de karaciğerdir. Başta Fransa, Macaristan, İsrail olmak üzere dünyada birçok ülkede

karaciğer üretimi yapılır. Kazların üreme ve kuluçka performansları mevsimlere göre değişiklik gösterir. Soğuğa dayanıklı olan kazların yumurta verimi ocak-şubat ayında başlayıp haziran-temmuz aylarına kadar devam eder. Kars ve çevresinde yapılan araştırmalara göre Türkiye’de kaz yetiştiriciliğinde kaz başına düşen yumurta sayısının 20-30 adet/yıl olduğu, ancak koşulların iyileştirilmesi ile bu oranın artacağı vurgulanmıştır (Acha ve Szyfres 1989, Tilki ve Saatçi 2013).

Kazların paraziter hastalıkları arasında sindirim sistemi parazitleri yaygın görülmekle birlikte, kaz palazlarında *Cryptosporidium* türlerinin durumu hakkında tüm dünyada ve ülkemizde sınırlı bilgi bulunmaktadır. Kars yöresinde ekonomik değeri bulunan hayvan yetiştiriciliği açısından sığır ve koyun yetiştiriciliğinden sonra üçüncü sırada yer alan kaz yetiştiriciliğinde paraziter hastalıklarla ilgili araştırma sayısı yok denecek kadar azdır. Kars yöresinde buzağı ve kuzularda yaygın görülen *Cryptosporidium* türlerinin kazlardaki durumunun ilk defa belirlenebilmesi amacıyla bu tez konusu üzerinde araştırma yapılmıştır.

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, tez konumun seçimi ve yürütülmesinde teorik ve pratik deneyimlerinden faydalandığım tez danışmanım sayın hocam Prof. Dr. Barış SARI’ya;

Bu tezin oluşumunda, materyalin toplanmasında ve laboratuvar çalışmalarında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden sayın Prof. Dr. Atila AKÇA, sayın Prof. Dr. M. Özkan ARSLAN, sayın Prof. Dr. Zati VATANSEVER, sayın Doç. Dr. Gencay Taşkın TAŞÇI, Araştırma Görevlisi Nilgün AYDIN ile Kars Meslek Yüksek Okulu Öğretim Görevlisi Neslihan GÜNDÜZ’e, ayrıca “Kazlarda *Cryptosporidium* türleri üzerine araştırmalar” isimli ve 2016-TS-88 numaralı projeden hazırlanan tezimiz için Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü’ne;

Eğitimimin her aşamasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve emeği geçen herkese sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	III
KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ	VI
ŞEKİLLER ve RESİMLER LİSTESİ	VIII
TABLolar LİSTESİ	IX
ÖZET	X
SUMMARY	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1. Hastalığın Tanımı, Tarihçesi ve Etken	1
1.2. Morfoloji	5
1.3. Biyoloji	7
1.4. Cryptosporidiosis Epidemiyoloji-Bulaşma	12
1.5. Patogenez ve Klinik-Patolojik Bulgular	16
1.6. Cryptosporidiosis de Teşhis	19
1.6.1. Direkt Dışkı Muayenesi	23
1.6.2. Boyama Yöntemleri	23
1.6.2.1. Modifiye Ziehl-Neelsen (mZN) Boyama Yöntemi	24
1.6.2.2. Kinyoun Asit-Fast Boyama Yöntemi	24
1.6.2.3. Modifiye Asit-Fast Yöntemi	24

1.6.2.4.	Karbol Fuksin Boyama Yöntemi	24
1.6.3.	İmmunolojik Yöntemler	25
1.6.3.1.	Direkt İmmunfloresans Antikor Testi (DFA)	25
1.6.3.2.	İndirekt Fluoresan Antikor Test (IFAT)	26
1.6.3.3.	Enzyme- Linked İmmunsorbent Assay (ELISA)	26
1.6.4.	Moleküler Biyolojik Yöntemler	28
1.7.	Cryptosporidiosis de Tedavi-Korunma-Kontrol	28
2.	KANATLI HAYVANLARDA CRYPTOSPORİDİOSİS	31
3.	KAZLARDA CRYPTOSPORİDİOSİS	38
4.	MATERYAL VE METOT	41
4.1.	Materyal	41
4.1.1.	Hayvan Materyali	41
4.1.2.	Dışkı Örnekleri	41
4.2.	Metot	44
4.2.1.	Karbol-fuksin Boyama Metodu	44
4.2.1.2.	Boyama Yöntemi	44
4.2.2.	ELISA Metodu (Enzim Linked Immunosorbent Assay)	45
4.2.2.1.	ProSpecT <i>Cryptosporidium</i> Microplate Assay (<i>ThermoFisher Scientific</i> , Remel) Test Kiti	45
4.2.2.1.1.	Testin Kullanım Amacı ve Prensibi	45
4.2.2.1.2.	Test Kitinin İçeriği	46
4.2.2.1.3.	Örneklerin Hazırlanması	47

4.2.2.1.4.	Testin Yapılışı	48
4.2.2.1.5.	Sonuçların Değerlendirilmesi	50
5.	BULGULAR	51
5.1.	Karbol Fuksin Boyama Yöntemi Sonuçları	51
5.2.	ELISA Kiti (ProSpecT <i>Cryptosporidium</i> Microplate Assay (ThermoFisher Scientific, Remel products) ile Yapılan Test Sonuçları	52
5.3.	Karbol Fuksin Boyama Yöntemi İle Elisa Kiti Test Sonuçlarının Karşılaştırılması	54
6.	TARTIŞMA VE SONUÇ	57
7.	KAYNAKLAR	60
8.	ÖZGEÇMİŞ	73

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

AP	Auramine Phenol
ASTM	American Society for testing and material
°C	Santigrad Derece
CSA	<i>Cryptosporidium</i> 'a özgü antijenler
Crypto	<i>Cryptosporidium</i>
CDC	Center's for Disease Control and Prevation
DFA	Direct Immunfloresans Assay
DNA	Deoksiribonükleik asit
ELISA-(EIA)	Enzyme-linked immunosorbent assay
FDA	ABD gıda ve ilaç dairesi
HCl	Hidroklorik asit
KOH	Potasyum Hidroksit
IFA	İndirek Fluoresan Antikor Test
IFAT	İndirek Fluoresan Antikor Testi
mAF	Modifiye Asit Fast Boyama
mZN	Modifiye Ziehl Neelsen
ICR	Information Coollection Rule
L	Litre
ml	Mililitre
Mzn	Modifiye Ziehl Neelsen
USEPA	U.S. Environmental Protection Agency
μ	Mikron
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre
NaCl	Sodyum klorür

nm	nanometre
SAF	Sodyum asetat-asetik asit formalin
SDB	Sulandırma Solüsyonu
PVA	Polivinil alkol
rpm	Revolution per minute
PBS	Sulandırma Solüsyonu
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu



ŞEKİL ve RESİM LİSTESİ

Şekil 1. *Cryptosporidium* ookistinin morfolojik yapısı.

Şekil 2. *Cryptosporidium* türlerinde genel biyoloji.

Şekil 3. *Cryptosporidium parvum*'un bulaşma yolları ve epidemiyolojisinde rol alan faktörler.

Resim 1. Kaz yavrularından alınan dışkı örneklerinin toplandığı yerlerin harita da görünümü.

Resim 2. Kazlardan dışkı örneklerinin alınması.

Resim 3-4. ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay (*ThermoFisher Scientific*, Remel) Test Kiti ve İçeriği.

Resim 5-6-7. ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay (*ThermoFisher Scientific*, Remel) Test Kitinin Uygulanması.

Resim 8. Karbol Fuksin boyama yönteminde görülen *Cryptosporidium* spp. ookistleri (x 40).

Resim 9. ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay (*ThermoFisher Scientific*, Remel products) Test kiti yönteminde pozitif ve negatif sonuçların görünümü. A1: Pozitif kontrol, A2: Negatif Kontrol, A7, A8, B10,: Pozitif Sonuçlar, A4, C1, D1,:Negatif Sonuçlar.

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. İnsan ve hayvanlarda bulunan önemli *Cryptosporidium* türleri ve bazı özellikleri.

Tablo 2. İnsanlar, evcil ve yabani hayvanları enfekte eden büyük ve küçük *Cryptosporidium* türleri.

Tablo 3. *Cryptosporidium* türlerinin teşhisi için kullanılan yöntemler.

Tablo 4. Kanatlılarda görülen *Cryptosporidium* türleri ve bazı genotiplerin ookist morfolojileri.

Tablo 5. Kanatlılarda kullanılan çeşitli antikriptosporidial ilaçların etkinlikleri.

Tablo 6. Araştırmada Kullanılan Dışkı Örneklerinin Gruplandırılması.

Tablo 7. Kaz civciv, palaz ve erişkinlerinden alınan dışkı örneklerinin toplandığı yerler ve detayları.

Tablo 8. Karbol Fuksin Boyama Yöntemine göre kazlarda *Cryptosporidium* pozitifliği.

Tablo 9. ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay (*ThermoFisher Scientific*, Remel products) Test kiti yöntemine göre *Cryptosporidium* pozitifliği sonuçları.

Tablo 10. Karbol fuksin boyama yöntemi ile mikroskopi ve ELİSA kiti yöntemi ile *Cryptosporidium* pozitiflik sonuçları.

Tablo 11. Kaz civciv, palaz ve erişkinlerden alınan dışkı örneklerinde yerleşim yerlerine göre ELİSA kiti ile belirlenen pozitiflik oranları (%).

ÖZET**KARS YÖRESİNDE EVCİL KAZLARDA (*Anser anser*)*****CRYPTOSPORIDIUM* TÜRLERİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

Kars ili ve civarı, Türkiye'de kaz yetiştiriciliğinin en yaygın yapıldığı yerlerden birisidir. Bu bölge kaz yetiştiriciliği, özellikle yoksul köylü kadınlar başta olmak üzere yerel halk için önemli bir ek gelir kaynağıdır. Sağlıklı ve verimli kaz yetiştirme açısından paraziter hastalıklar oldukça önemlidir. Cryptosporidiosis dünyada hayvan ve insanların en yaygın intestinal protozoon enfeksiyonlarından birisidir. Hastalık, özellikle genç hayvanlar olmak üzere yenidoğanların ishali etiolojisinde birincil derecede role sahiptir. *Cryptosporidium parvum*, *C. hominis*, *C. baileyi*, *C. meleagridis*, *Cryptosporidium* sp., 5 farklı kaz ve ördek genotipi, kazların solunum yolu, bağırsak, bursa Fabricius, kloaka ve konjaktivasında tespit edilmiştir. Bu çalışma, buzağı ve kuzularda cryptosporidiosisin yaygın olarak tespit edildiği Kars ilinde kazlardaki *Cryptosporidium* türlerinin durumunu belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

Bu çalışma, Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki Kars ilinde yürütülmüştür. Dışkı örnekleri rastgele seçilen 188 sağlıklı kazdan Mayıs-Aralık 2016 arasında toplanmıştır. Hayvanlar, 0-1 aylık (n = 81), 1-3 aylık (n = 25), 3-4 aylık (n = 49) ve 5-6 aylık (n = 33) olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Dışkı örnekleri her bir hayvandan kloakal sıvıplar kullanılarak alınmış ve her bir örnek tek kullanımlık plastik poşetlerde saklanmıştır. Örnekler karbol fuksin boyama yöntemi ve ticari bir enzim immunoassay kiti (EIA) olan Remel ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate assay (Thermo®) kullanılarak *Cryptosporidium* yönünden incelenmiştir. Kazlardaki *Cryptosporidium* görülme sıklığı karbol fuksin boyama ile %3.72 (7/188), EIA ile ise %38.2 (72/188) olarak belirlenmiştir. *Cryptosporidium* enfeksiyonu EIA yöntemi ile 0-1 aylık, 1-3 aylık, 3-4 aylık ve 5-6 aylık kazlarda sırasıyla %19.75, %28, %51.02 ve %72.7 oranında tespit edilmiştir.

Kazlarda *Cryptosporidium* spp. ookistlerinin prevalansı Avrupa'da %50-72, Amerika'da ise %6.8-77.8 oranlarında bildirilmiştir. Bu çalışma ile Kars ve Türkiye'de yerli kazlarda *Cryptosporidium* türlerinin varlığı ilk kez bildirilmektedir. Bu araştırmanın sonuçları Kars bölgesinde yapılan önceki çalışmaların sonuçları ile karşılaştırıldığında, pozitiflik oranının hem boyama yöntemlerinde hem de ELISA'da daha düşük olduğu görülmektedir. Bu, önceki çalışmaların semptomatik hayvanlarda veya daha yüksek risk grubu hayvanlarda *Cryptosporidium* prevalansının araştırılmasından kaynaklandığını düşündürmektedir.

Bununla birlikte, *Cryptosporidium* türlerini tanımlamak ve kontaminasyon kaynağındaki genotipleri belirlemek için daha kapsamlı ve detaylı moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü (2016-TS-88) tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Cryptosporidium* spp, Kaz, Karbol Fuksin Boyama, Enzim İmmunoassay (EIA), Kars

SUMMARY

Investigations On *Cryptosporidium* Species In Domesticated Geese (*Anser anser*) In The Province Of Kars, Turkey

Kars province and the surrounding area are one of the most common goose breeding places in Turkey. Goose breeding in this region is an important additional source of income for the locals, particularly for the poor peasant women. Parasitic diseases are a very important constraint on healthy and efficient goose production.

Cryptosporidiosis is one of the common major intestinal protozoan infections of animals and man in the world. The disease plays a primary role in the etiology of neonatal diarrhea especially in young animals. Five different goose and duck genotypes, *Cryptosporidium parvum*, *C. hominis*, *C. baileyi*, *C. meleagridis*, *Cryptosporidium sp.*, have been identified in the respiratory tract, intestine, bursa of Fabricius, cloaca and conjunctiva of geese.

This study was carried out in order to determine the status of *Cryptosporidium* species in geese in the province of Kars in which cryptosporidiosis is commonly detected in calves and lambs.

The study was performed in Kars province in the Northeastern Anatolia region of Turkey. Fecal samples were collected from 188 randomly selected healthy geese from May 2016 to December 2016. The animals were classified into four age groups: 0-1 month old (n=81), 1-3 months old (n=25), 3-4 months old (n=49) and 5-6 months old (n=33). Fecal samples were taken from each animal using cloacal swabs and deposited into disposable plastic bags. The samples were examined by carbol fuchsin staining and using a commercial enzyme immunoassay (EIA) kit, the Remel ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate assay (Thermo®) for *Cryptosporidium*.

The prevalence of the presence of *Cryptosporidium* among the geese was 3.72% (7/188) with carbol fuchsin staining and 38.2% (72/188) with EIA.

Cryptosporidium infection was detected by EIA in 19.75%, 28%, 51.02% and 72.7 % of the geese aged 0-1 month, 1-3 months, 3-4 months and 5-6 months, respectively.

The prevalence of *Cryptosporidium* spp. oocysts in geese has been reported to be 50–72% in Europe and 6.8-77.8 % in USA. The presence of *Cryptosporidium* species in domesticated geese in Kars and in Turkey is reported for the first time in this study.

When the results of this study are compared with the results of previous studies undertaken in the Kars region, it is seen that the positivity rate is lower with both the staining method and ELISA. This may be due to the fact that the previous studies investigated the prevalence of *Cryptosporidium* in animals with symptoms or in animals in higher risk groups.

Molecular studies are required in order to determine the *Cryptosporidium* spp. and to identify agent genotypes at the source of contamination.

This study was financially supported by the Scientific Research Council of Kafkas University (2016-TS-88).

Key Words: *Cryptosporidium* spp., Goose, Carbol Fuchsin Dying, Enzyme Immunoassay (EIA),Kars.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Zoonotik özelliği, su ve gıdalarla bulaşan hastalıklardan birisi olması, özellikle ruminatlarda ekonomik kayıplara sebep olması nedeniyle Dünya’da son yıllarda parazitolojide en çok araştırmanın yapıldığı parazitlerden birisi de *Cryptosporidium* türleridir.

Türkiye’nin Doğu Anadolu Bölgesinde yer alan Kars ilinde kaz yetiştiriciliğinin yaygın olarak yapılmasına bağlı olarak; yöre halkı için gerek eti ve karaciğeri, gerekse de tüyünün ekonomik değeri sebebiyle geçim kaynağı olması açısından kazların sağlığı önem arz etmektedir.

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de ve Kars yöresinde kanatlı hayvanların ve bu kanatlı hayvanların içerisinde kazların sağlığını tehdit eden hastalıklardan biri de cryptosporidiosisdir. Bu çalışma, Kars ilinde daha önce buzağı, kuzu gibi hayvanlarda tespit edilen cryptosporidiosis’in aynı ilde kazlardaki durumunun belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Zoonotik ve ekonomik açıdan önemli bir grubu oluşturan *Cryptosporidium* enfeksiyonlarının kazlardaki teşhisinin rutin muayenede sıklıkla kullanılan karbol-fuksin boyama ve kopro-antijen ELISA testi ile karşılaştırmalı olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.1. Hastalığın Tanımı, Tarihçe ve Etken

Cryptosporidiosis, *Cryptosporidium* soyuna bağlı parazit protozoonlarca oluşturulan zoonotik bir enfeksiyondur. Cryptosporidiosis dünyada yaygın olarak gözlenen bir hastalık olup memeliler, kanatlılar, balıklar, keseli hayvanlar ve sürüngenlerde dahil olmak üzere 200’ü aşkın hayvan türünü enfekte edebilmektedir. Cryptosporidiosis’e sebep olan etkenler; Apikompleksa kökü, Sporozoa sınıfında yer alan *Cryptosporidium* soyuna bağlı protozoonlardır. Bu soyda hastalığa sebep olan

birçok türden bahsedilse de yapılan epidemiyolojik taramalar, zoonotik önemi ile dikkat çeken ve memelilerdeki başlıca tür olan *Cryptosporidium parvum*'un dünyada oldukça yaygın olduğunu göstermiştir (Dubey ve ark. 1990, Fayer 2008, Anonim 2019b).

Cryptosporidium 1885 yılında ilk defa Clarke tarafından fark edilip “fare mide epiteli üzerinde yer alan spor kümeleri” şeklinde bildirilmiştir (Fayer ve Ungar 1986; Dubey ve ark. 1990; Fayer 2008). Eski Yunancada “saklı kist” anlamına gelen *Cryptosporidium* Tyzzer tarafından 1905 yılında gastrik mukoza hücrelerinde gösterilmiştir. 1912’de *Cryptosporidium parvum* Tyzzer tarafından ilk kez tür düzeyinde laboratuvar farelerinin ince bağırsaklarında bulunarak tanımlanmış ve etkenin oluşturduğu hastalık cryptosporidiosis olarak adlandırmıştır (Fayer ve Ungar 1986, Fayer 2008).

Cryptosporidium enfeksiyonlarının civcivlerin sekal epitelinde ilk tanımlanması Tyzzer (1929) tarafından yapılmıştır. Slavin (1955) yeni bir tür olarak isimlendirdiği *C. meleagridis*'in genç hindilerde mortaliteye sebep olduğunu bildirmiştir. Evcil kazlarda *Cryptosporidium anserinum* olarak isimlendirilen türü (Proctor ve Kemp, 1974) ve etlik piliçlerde (Fletcher ve ark. 1975) bursa Fabricius'ta *Cryptosporidium* ilk kez bildirilmiştir. Ayrıca Current ve ark. (1986) evcil tavuklarda *C. baileyi* isimli türü, yine tavukların proventrikulusunda Pavlesek (1999) tarafından *C. galli* türünü tanımlamışlardır.

Günümüzde insan ve hayvanlarda bazı türlerin isimleri tartışılrsa da yaklaşık 30-35 adet *Cryptosporidium* türü tespit edilmiş olup, bütün dünyada *C. parvum* ve *C. hominis* türlerinin en yaygın türler olduğu bildirilmiştir (Fayer ve Ungar 1986, Zhou ve ark. 2004, Nakamura ve Meireles 2015, Ryan ve ark. 2016, Thomson 2016, Anonim 2019b). Aynı zamanda birçok hayvan türü ve insanlarda da 40 civarında genotip ve subtip olarak bildirimler mevcuttur (Fayer ve Xiao 2008, Ryan ve ark. 2014, Thomson 2016, Anonim 2019b).

Cryptosporidium türleri apikompleksan intraselüler parazitler olup canlıların solunum, boşaltım ve sindirim yollarının epitelyal hücrelerinin mikrovilluslarını enfekte ederler (Fayer ve Xiao 2008).

Lager tarafından 1911 senesinde *Cryptosporidium* türlerinin sınıflandırması yapılmıştır. Ökaryotik protozoon olan *Cryptosporidium* türlerinin DNA'ları bir çift zarla etrafi çevrili olarak nükleus içinde bulunmaktadır. *Cryptosporidium* türleri, Apicomplexa bölümü, Sporozoa sınıfı, Coccidia alt sınıf, Eucoccidida takımı, Eimeriorina alt takımı, Cryptosporididae ailesi, *Cryptosporidium* cinsine dahil olarak sınıflandırılmıştır (Fayer ve Xiao 2008).

Sistematikteki *Cryptosporidium* etkenlerinin ayrıntılı sınıflandırılması aşağıda gösterilmiştir (Xiao ve ark. 2004, Fayer ve ark. 2010, Karaer ve Dumanlı 2010).

Alem: Protista

Kök: Alveolata

Kökaltı: Apicomplexa, Levine, 1970

Sınıf: Coccidea, Leuckart, 1879

Dizi: Cryptosporiida

Aile: Cryptosporidiidae Leger, 1911

Soy: *Cryptosporidium*, Tyzzer, 1910

Önemli Türler: *C. parvum*, Tyzzer, 1912

C. hominis, Morgan-Ryan ve ark. 2002

C. andersoni, Lindsay, Upton, Owens, Morgan, Mead ve Blagburn 2000

C. bovis, Fayer, Santin, Xiao 2005

C. ryanae, Fayer, Santin, Trout 2008

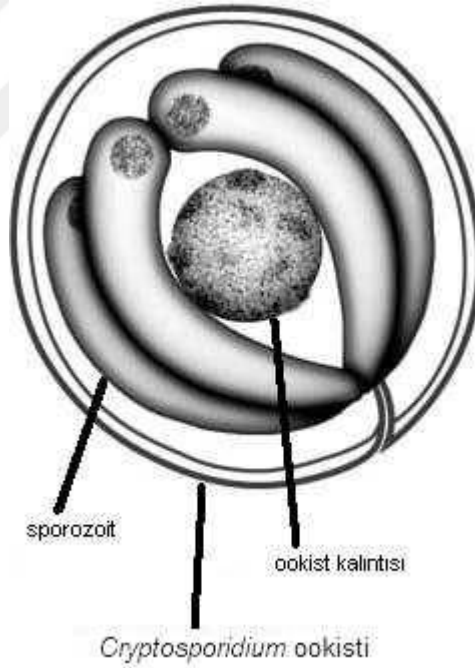
İnsan ve hayvanlarda tespit edilen önemli ve yaygın *Cryptosporidium* türlerinin ookist büyüklükleri, buldukları ana konaklar ve zoonotik durumlarını içeren bilgiler Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. İnsan ve hayvanlarda bulunan önemli *Cryptosporidium* türleri ve bazı özellikleri (Fayer 2008, Smith 2008, Plutzer ve Karanis 2009, Anonim 2019a).

Türler	Yerleşim Yeri	Ana Konak	Ortalama ookist aralığı (µm)	İnsan Enfeksiyonu
<i>C. andersoni</i>	Mide, abomazum	Sığır	7.4 x 5.5 / 6.0-8.1 x 5.0 -6.5	Yok
<i>C. baileyi</i>	Trake, Bursa Fabricius, Kloka	Kanatlı	6.2 x 4.6/5.6-6.3 x 4.5-4.8	Yok
<i>C. bovis</i>	İnce bağırsak	Sığır	4.9 x4.6/4.8-5.4 x 4.2-4.8	Yok
<i>C. canis</i>	İnce bağırsak	Köpek	5.0 x 4.7/3.7-5.9 x 3.7-5.9	Var
<i>C. felis</i>	İnce bağırsak	Kedi	5.0 x4.5	Var
<i>C. galli</i>	Proventrikulus	Tavuk, Kuşlar	8.3 x 6.3/8.0-8.5 x 6.2-6.4	Yok
<i>C. hominis</i>	İnce bağırsak	İnsan	5.2 x 4.9/4.4-5.9 x 4.4-5.4	Var
<i>C. meleagridis</i>	İnce bağırsak	Hindi	5.2 x 4.6/4.5-6.0 x 4.2-5.3	Var
<i>C. molnari</i>	Bağırsak	Balık	4.7 x 4.5/3.2-5.5 x 3.0-5.0	Yok
<i>C. muris</i>	Mide	Rodent	7 x5	Var
<i>C. parvum</i>	İnce bağırsak	Memeliler (Çiftlik hayvanları), İnsan	4.5x5.5	Var
<i>C. scopthalmi</i>	Bağırsak, nadiren mide	Balık	4.4 x 3.9/3.7-5.0 x 3.0-4.7	Yok
<i>C. serpentis</i>	?	Sürüngenler	2.8x 3.6	?
<i>C. suis</i>	İnce bağırsak	Domuz	4.6 x 4.2/4.4-4.9 x 4.0-4.3	Var
<i>C. varanii</i>	İnce bağırsak	Sürüngenler	4.8 x 4.7/4.8-5.1 x 4.4-4.8	Yok
<i>C. wrairi</i>	İnce bağırsak	Gine domuzu, kobay	5.4 x 4.6/4.8-5.6 x 4.0-5.0	Yok
<i>C. ryanae</i>	Sığır	?	3.7x3.2	?
<i>C. fayeri</i>	Kanguru	İnce bağırsak	4.9x4.3	?

1.2. Morfoloji

Cryptosporidium türleri küçük ookistlere sahip olup yaklaşık 4.5-5.4 x 4.2-5.0 μ çapında yuvarlak ve oval şekillidir (Şekil 1). İnce ve kalın duvarlı ookistlerin büyüklükleri gelişme dönemlerine göre farklılık gösterip 4 adet sporozoit ve ookist kalıntısı içerirler (Dubey ve ark. 1990). Sporozoitler 5.2x1.2 μ m boyutlarında, hareketli, virgül şeklinde ince bir zarla çevrilidir (Thompson ve ark. 2005). Bu sporozoitler apikal oluşumları ile konak bağırsak hücrelerinin apikal yüzeyindeki hücrelere tutunarak bu hücrelere girerler (Sears ve Kircpatrick 2001). Dış çevre koşullarına karşı fazlaca dirençli olup atıldığı an itibariyle enfektif olan ookistlerdir (Fayer ve Xiao 2008).



Şekil 1. *Cryptosporidium* ookistinin morfolojik yapısı (Alvarez-Pellitero ve ark. 2004'den faydalanılmıştır).

Ookistler; parlak alan, faz-kontrast veya diferansiyel interferans kontrast mikroskobu ile tespit edilebilir. Doğru ölçümler yapmak için ookistler su gibi bir ortamda süspansiyon haline getirilmelidir. Ookistler küçük oldukları için, varlıklarını doğrulayabilmek için yüksek büyütme hedefleri kullanılmalıdır. Ölçümler 100X objektifle yapılmalıdır. Bu yöntemler genellikle konsantrasyona tabi tutulmamış dışkılarıdaki ookistlerin saptanması için tavsiye edilmemektedir. Ancak saflaştırılmış ookistlerin tespiti için kullanılabilir (Fayer ve Xiao 2008). İnsanlar, evcil ve yabani hayvanları enfekte eden büyük ve küçük *Cryptosporidium* türleri Tablo 2’de gösterilmiştir.



Tablo 2. İnsanlar, evcil ve yabani hayvanları enfekte eden büyük ve küçük *Cryptosporidium* türleri (Fayer ve Xiao, 2008).

Bulunduğu Konak	Büyük türler	Küçük türler
Deve	<i>C.andersoni, C.parvum?</i>	
Kedi	<i>C. felis</i>	
Sığır	<i>C.parvum, C. bovis, C.andersoni</i> <i>deerlike genotype</i>	<i>C.suis</i>
Tavuk	<i>C. baileyi</i>	<i>C. meleagridis, C.galli</i>
Çakal	<i>C. canis</i> çakal genotipi	
Geyik	<i>C. parvum</i>	
Geyik	<i>C. parvum</i> geyik genotipi	
Köpek	<i>C. canis</i>	
Ördek ve kaz	Kaz genotipi Ive II	<i>C. baileyi, ördek genotipi</i>
Balık	<i>C. scophthalmi, C. molnari</i>	
Tilki	<i>C. canis</i> tilki genotipi	<i>C. canis, köpek genotipi, tilki genotipi II</i>
Keçi	<i>C. parvum</i>	
Gine	<i>C. wrairi</i>	
At	At genotipi	
İnsan	<i>C. hominis, C. parvum</i>	<i>C. meleagridis, C.felis, C. canis, C. baileyi</i>
Kertenkele	<i>C. serpentis, C. varanii</i>	Kertenkele genotipi
Fare	<i>C. muris, fare genotipi</i>	
Sıçan	<i>Sıçan genotipi I</i>	Sıçan genotipi II
Domuz	<i>C. suis</i>	Pig genotip II
Koyun	Geyik genotipi 1-3, sığır genotipi	<i>C. parvum, koyun genotipi</i>
Yılan	<i>C. serpentis</i>	<i>C.varanii, yılan genotipi</i>
Sincap	<i>C. muris, sincap genotipi</i>	
Hindi	<i>C. meleagridis, C. baileyi</i>	

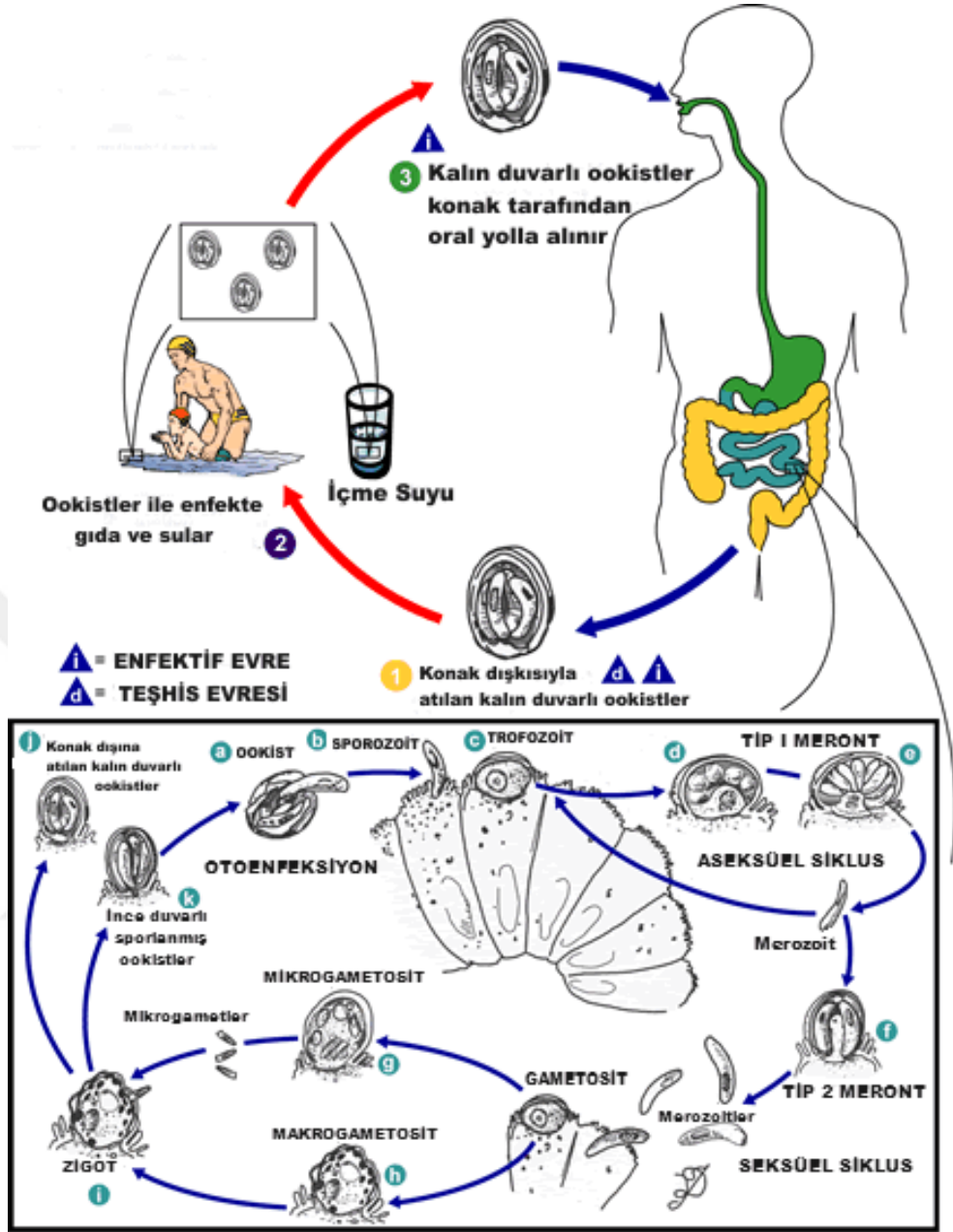
1.3. Biyoloji

Monoksen bir gelişim gösteren *Cryptosporidium* türleri fekal-oral yolla bulaşma gösterirler. *Cryptosporidium* 'lar tüm yaşam siklusunu tek bir konakçada geçirerek gelişmelerini aseksüel ve seksüel olarak sürdürürler (Şekil 2). Ookistlerinin

konakçı içinde sporlanması ve dışkıya geçtiği anda enfeksiyon oluşturabilmesi onları diğer coccidialardan ayıran önemli bir özelliktir (Fayer ve Xiao 2008).

Cryptosporidium'un yaşam döngüsü evreleri sırasıyla (Fayer ve ark. 2008):

1. Ekskistasyon
2. Merogoni (Aseksüel Çoğalma)
3. Gametogoni (Seksüel Çoğalma)
4. Döllenme (Fertilizasyon)
5. Ookist duvarının oluşması
6. Sporogoni



Şekil 2. *Cryptosporidium* türlerinde genel biyoloji (Fayer ve Xiao 2008).

Konakçılarının dışkıları veya solunum yolu sekresyonları ile çok sayıda ookist çevreye atılır. Çevreye yayılan bu ookistler duyarlı konakçılar tarafından kontamine su ve gıdalarla sindirim yoluyla, konjunktiva aracılığıyla ya da solunum yoluyla alınır. Gastrointestinal sistemde sporlanmış kalın duvarlı ookistlerin safra tuzları ve sindirim enzimlerinin etkisiyle açılmasıyla 4 adet hareketli sporozoit serbest hale geçer (De Graff ve ark. 1999, Sears ve Kirkpatrick 2001, Thomson ve ark. 2005,

Fayer 2008). Sindirim yoluyla konak tarafından alınan ookistlerin ince bağırsakta açılması "ekskistasyon" olarak adlandırılır. Ookistin açılmasında etkili olan faktörler arasında pankreatik ve proteolitik enzimler, safra tuzları, vücut ısısı ve sindirim sistemindeki değişik indirgeyici enzimler sıralanabilir. Karakteristik etmenler olmaksızın da ekskistasyon gerçekleşebilmektedir. Örneğin ılık mukozal sıvı içerisinde ookistler açılabilir. Bu durum konjunktiva, solunum sistemi, vajina, uterus, ovaryum, testisler, lenf nodülleri, safra kesesi gibi, ekstraintestinal yerlerde de enfeksiyonlar oluşturarak otoenfeksiyonu desteklemektedir (Dubey ve ark. 1990, Thompson ve ark. 2005, Fayer 2008).

Açılan ookistlerden serbest kalan sporozoitler bağlayıcı proteinleri ile bağırsak epitel hücrelerinin yüzeyine tutunarak aseksüel ve seksüel olarak çoğalırlar (De Graff ve ark. 1999).

Muz dilimi şeklindeki sporozoitler tutunduğu konak epitel hücresinde konak hücresi ve parazit kökenli 2 membrandan oluşan parazitofor vakuoller içinde intraselüler-ekstrasitoplazmik olarak bulunurlar. Epitel hücrelerde bulunan sporozoitler belirgin çekirdeğe sahip olan yuvarlak şekilli trofozoitlere dönüşürler. Oluşan bu trofozoitlerin aseksüel (merogoni) çoğalmasıyla önce 6-8 merozoitli tip I merontlar daha sonra 4 merozoitli tip II merontlar meydana gelir. Tip I merozoitlerin bazıları tekrar yeni bir konak hücresine geçerek kuvvetli bir otoenfeksiyon siklusu başlatırken bazıları ise zigotu oluşturmak üzere seksüel çoğalmaya başlar. Tip II merozoitler, mikro ve makrogamont olarak farklılaşarak gametogoni yoluyla çoğalırlar. Mikrogamontlar yoğun ve küçük çekirdekli olup gelişmelerini sürdürerek 11-16 mikrogamet meydana getirirler. Glikojen ve amilopektin granüllerinden zengin makrogamontlar ise makrogamet halinde gelişmelerini sürdürürler (Current ve ark. 1986, Berger 2006, Özcel ve ark. 2007, Fayer 2008, Fayer ve ark. 2008, Fayer ve Xiao 2008).

Bağırsak lümeninde serbest olarak bulunan mikrogametler konak hücre membranındaki makrogametle birleşirler. Makrogamet ile mikrogamet birleşmesi

sonucu zigotun oluşması ile fertilizasyon gerçekleşmiş olur. Mikrogametler kamçısız ama hareketlidir. Makrogametlerde konak hücrenin membranına yapışmış olarak bulunurlar. Bu mikrogametlerin makrogametleri döllemesi sonucu zigot ve daha sonra ise ookist meydana gelir (Özcel ve ark. 2007, Fayer 2008).

Tip II merozoitlerden zigota kadar olan dönem eşeyli üreme şekli olan gametogonidir. Ookist duvarının oluşması ile oluşan zigot, vücut içerisinde sporogoni yoluyla çoğalarak 4 sporozoitli sporlanmış ookistleri meydana getirir. Böylece sporogoni evresi tamamlanmış olur. Ookistler sporlanmış olarak çevreye atılırlar. *Cryptosporidium* türlerinde iki tip ookist şekillenir; birincisi kalın cidarlıdır ve (yaklaşık %80 kadarı) vücut dışına atılarak, duyarlı konakçılarda enfeksiyona sebep olur. Diğeri ise ince cidarlı oositlerdir (yaklaşık %20 kadarı) ve vücut içinde açılarak otoenfeksiyonlar meydana gelmesine sebep olur. *Cryptosporidium* türlerinde prepatent süre çeşitli hayvan türlerinde 2-9 gün arasında gözlenirken, patent sürenin birkaç günden birkaç haftaya kadar değişebildiği belirlenmiştir (Tzipori ve Ward 2002, Fayer ve ark. 2008, Xiao ve Fayer 2008, Sevinç ve Dik 2015).

Sporozoit ve merozoitler arasındaki bir geçiş aşaması olan trofozoitler (Thompson ve ark. 2005) yuvarlak veya oval, $2 \times 2.5 \mu\text{m}$ büyüklüğünde olup konakçı bağırsak epitelyum hücreleri mikrovilluslarında meydana getirilen, intrasellüler-extrasitoplazmik vakuoller içinde bulunurlar (Crawford ve Vermund 1988, Dubey ve ark. 1990).

Merozoitlerin I ve II tipleri yuvarlak ya da yarım ay şeklinde ve $1 \times 5 \mu\text{m}$ büyüklüğündedir. Mikrogametositler ikinci tip merozoitlerin farklılaşması sonucu oluşup, $4 \times 5 \mu\text{m}$ büyüklüğünde olup kısa süre içinde mikrogametleri oluşturmaları nedeniyle her zaman görünmezler. Mikrogametler (erkek) $0.4 \times 0.95 \mu\text{m}$ büyüklüğünde ve çivi şeklindedirler. Makrogametositler (dişi) küçük çekirdekli ve küremsi şekillidir (Boch ve ark. 1982).

1.4. Cryptosporidiosis de Epidemiyoloji-Bulaşma

Monoksen gelişen ve konak spesifitesi göstermeyen zoonoz karakterde olan *Cryptosporidium* türleri insan ve hayvanlarda ince bağırsak, mide, solunum sistemi, bursa Fabricius, trake, safra kesesi ve pankreas gibi organlarda tespit edilmiştir (Sevinç ve Dik 2015).

Özellikle hayvanlarda *Cryptosporidium* enfeksiyonların da etkili olan risk faktörleri; yaş, ookistlerin çevre koşullarına dayanıklı olması, fekal-oral bulaşma, su ve gıda ile salgın oluşması, mevsimsel koşullar, uzun kış koşulları nedeniyle hayvanların kapalı ortamda kalması, doğum öncesi ve sonrası dönem, sürü büyüklüğü, yetiştirme tipi, besleme tipi, genç ve yaşlı hayvanların bir arada barındırılması, içme suyu şekli (ahır/ahıl içi veya dışı), altlık-yemlik tipi ve temizliği, toplu olarak enfekte dere, çay, gölet vb. yerlerden su içilmesi, işletmede subklinik vakaların olması, ahır/ağıl hijyen durumu, sürüde eski ve yeni ishal vakalarının görülmesi, doğum sonrası kolostrum verilmemesi, sağım öncesi meme temizliği vb. olarak bildirilmektedir (Sarı ve Arslan 2012).

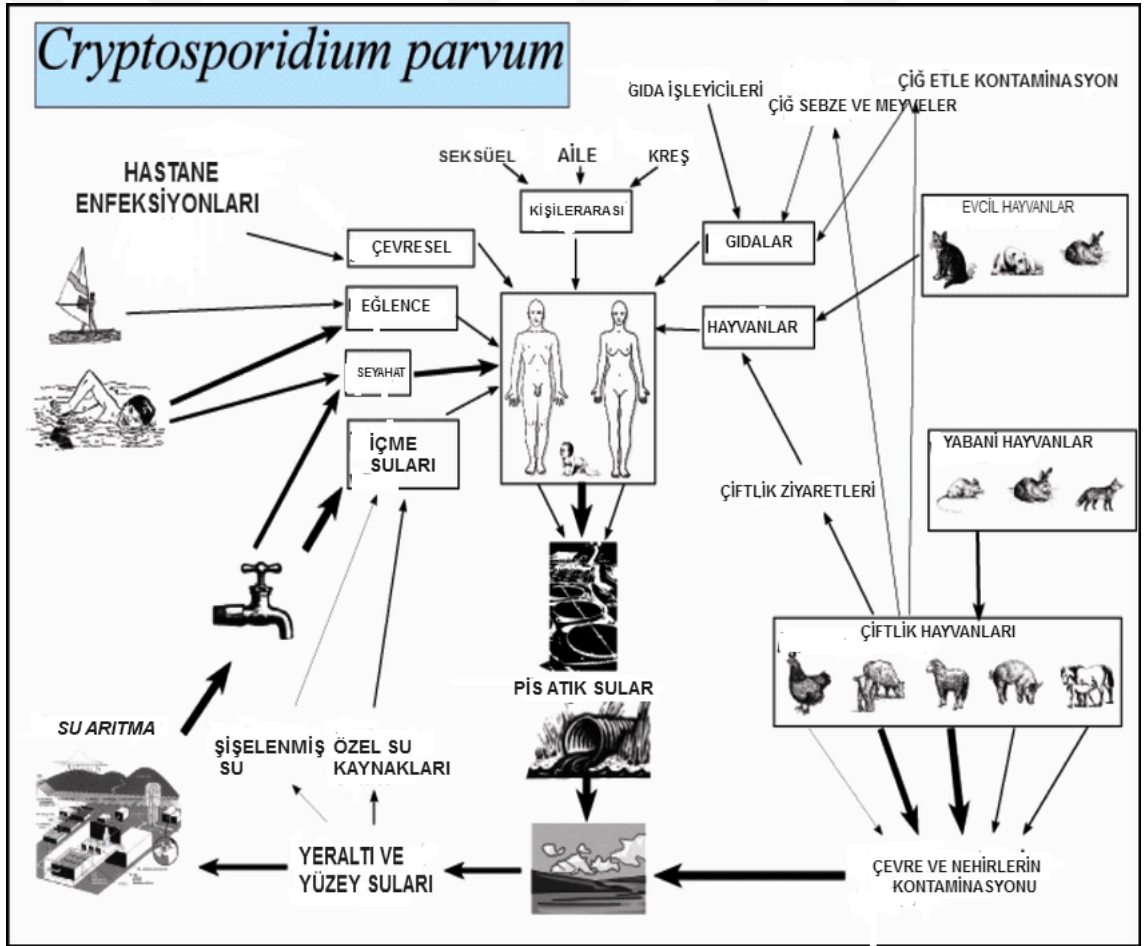
Fırsatçı (oppurtunistik) bir protozon olan *Cryptosporidium* türleri insan ve hayvanlarda neonatal dönemde yoğun ve şiddetli enfeksiyonlar oluşturması yanında bağışıklık sisteminin güçsüz olduğu hayvan ve insanlarda (AIDS ve immun sistemi baskılayan ilaç kullanımı, operasyonlar ve yetersiz beslenme gibi) daha yaygın görülmekte ve şiddetli enfeksiyonlar oluşturabilmektedir. Özellikle hayvancılıkla uğraşan insanlarda, gençlerde ve bağışıklık sistemi zayıf insanlarda görülmektedir (Sevinç ve Dik 2015). Bulaşma enfekte konakların dışkılarıyla atılan ookistlerle kontamine içme suları ve gıdalarla oral yolla alınması ile gerçekleşmektedir. Ookistlerin sounum yoluyla da bulaşabileceği bildirilmiştir. İnsanlarda bulaşma enfekte hayvanlarla direkt temas, kontamine su ve çiğ gıdalar ya da insanların birbirleriyle direkt teması ile olmaktadır (Çetinkaya 2004). Cryptosporidiosis; çocuklar, kötü beslenen kişiler ile AIDS hastaları, kanser için kemoterapi gören

hastalar, organ nakli gerçekleştirilen kişiler, immun supresif hastalar gibi immun sistemi zayıflamış kişiler için daha ciddi bir enfeksiyondur (Fayer ve ark. 2000).

Bulaşma direkt oral yolla, içme sularıyla, kirli sularla kontamine olmuş tarımsal ürünlerle, yüzme havuzlarıyla ve partnerler arası seksüel yolla olabilmektedir (Keusch ve ark. 1995). Ookistlerle kirlenmiş suların kullanılmasının, iyi yıkanmamış sebze ve meyvelerin yenmesi veya uygun şekilde pastörize edilmemiş sütlerin içilmesinin de bulaşmada rol oynadığı bildirilmektedir (Harp ve ark. 1996, Steiner ve ark. 1997). Hayvandan insana bulaşmada yoğun olarak kuzu ve buzağular etkili olmasına rağmen köpek, kedi yavruları, kemirici ve kanatlılar da rol oynamaktadır. Kırsal alanlarda yaşayanların bu hayvanlarla teması sonucu bulaşma şekillenmektedir. Ayrıca insan ve hayvan dışkılarından elde edilen gübrelerin, sulamada kullanılan kontamine suların, çiftlik çalışanlarının toprakla bulaşık ellerinin, sebze yetiştiricilerinin sebzelerin kontaminasyonunda önemli rolleri vardır (Fayer ve ark. 2000, Ryan ve ark. 2016). Yine kontamine su ile sulanmış sebzelerden havuç, salatalık, domates, kırmızı-turp ve marulda *Cryptosporidium* ookistlerinin tespit edildiği bildirilmiştir (Terzi 2005). *C. parvum* hayvanlar arasında besi ve süt sığırlarında, koyun ve domuzlarda oldukça yaygın olarak bulunduğu için hayvansal kaynaklı gıda maddeleri de büyük risk taşımaktadır. Ayrıca sığır ve koyunların kesilmesi sırasında karkas ve tüketilebilir sakatatlar ookistlerle kontamine olmaktadır (Fayer ve ark. 2000). İnsandan insana bulaşmada aile içi ve toplu yaşanan yerlerde (kreş, çocuk yuvası) genel hijyen kurallarına uyulması gerekmektedir (Sarıkaya 2004). *Cryptosporidium parvum*'un bulaşma yolları ve epidemiyolojisinde rol alan faktörler Şekil 3'te gösterilmiştir (Xiao ve Fayer, 2008).

İnsanlarda cryptosporidiosisin salgın halde görülmesinde ruminantlar ve özellikle sığırlar önemli rol oynar. Bu hastalığa neden olan türlerden *C. parvum* türü ana zoonotik tür olup, insan olgularına kişilerin çiftlik ziyaretleri ya da buzağularla direkt teması sonucu rastlanılmaktadır. *Cryptosporidium* türlerinin bulaşmasında, genç ruminantlar ve özellikle neonatal dönemdeki hayvanlar risk faktörü olarak rol oynamaktadırlar. Çünkü *C. parvum* enfeksiyonlarına 30 günlükten

büyük hayvanlarda nadiren rastlanmakta ve yaşlı hayvanlarda atılan ookist sayısı da düşmektedir. *C. andersoni* ve *C. bovis* türleri yaşlı hayvanlarda daha yaygın olarak görülmektedir. (O’Handley ve ark. 1999). Yetiştirme tipi (kapalı veya yarı açık) iklim, hayvanların merada olup olmaması, yaşlılarla bir arada bulunma, atlık durumu, su içme düzeni, su içme şekli, atlık temizleme biçimi ve sıklığı, hayvan sayısı, farklı yaş gruplarındaki hayvanların hayvanların aynı bölmelerde bulunması gibi çeşitli faktörler cryptosporidiosisin yayılışında etkili faktörler olarak sayılabilir. Bunun için hijyen, güvenli su ve yetiştirme tiplerine dikkat edilmelidir (Thompson ve ark. 2005, O’Handley ve Olson 2006, Nichols 2008).



Şekil 3. *Cryptosporidium parvum*'un bulaşma yolları ve epidemiyolojisinde rol alan faktörler (Fayer ve Xiao, 2008'den faydalanılmıştır).

Cryptosporidium türlerinin dünyanın birçok bölgesinde insanlarda ve hayvanlarda oluşturduğu enfeksiyonlar son 40-50 yılda çok fazla dikkat çekmektedir. Enfeksiyonun prevalansı ülkeler arasında farklılık gösterse de dünyanın değişik bölgelerinden çeşitli hayvan türlerinde ve insanlardan bildirilmiştir. Özellikle su ve gıda kaynaklı bulaşan hastalıklar içerisinde paraziter etkenlerden *Giardia* ve *Cryptosporidium* konusunda son yıllarda çok sayıda araştırma ve bildirim yapılmaktadır.

Cryptosporidium insanlarda ilk kez 1976 yılında ABD’de 3 yaşında, immün sistemi sağlam, ishal ve karın ağrısı olan bir çocukta ve 39 yaşında sindirim sisteminde emilim bozukluğu olan, immün sistemi baskılanmış bir erkekte tespit edilmiş olup ilk iki cryptosporidiosis vakası olarak rapor edilmiştir (Casemore ve ark. 1985, Türkçapar 2001). *Cryptosporidium* türlerinin prevalansı, temizliğin ve sanitasyon önlemlerinin tam uygulanmadığı gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek saptanmıştır (Chen ve ark. 1992, Chacin-Banilla ve ark. 1993). Gelişmekte olan ülkelere hastalığın yaygınlığının endüstrileşmiş ülkelere oranla çok daha yüksek bulunduğu ve bu durumun endüstrileşmiş ülkelere içme suyuna uygulanan etkili temizlik ve dezenfeksiyon yöntemlerine bağlı olduğu ileri sürülmektedir (Fayer ve Xiao, 2008).

Son yıllarda, AIDS’li ve immün sistemi baskılanmış olanlarda ağır seyirli ishallerine sebep olan patojenlerden *C. parvum*’un kliniği ve epidemiyolojisine ilişkin ayrıntılı bilgiler verilmiştir. *C. parvum* çalışmaları, sulardan kaynaklı salgınların rapor edilmesiyle de hızlanmıştır. İlk içme suyu kaynaklı salgın 1985’de Kuzey Amerika’da *C. parvum*’un içme su kaynaklarını kontamine etmesiyle rapor edilmiştir. 1993 Nisan ayında ise en büyük su kaynaklı salgın Milwaukee-Wisconsin’de gerçekleşmiş olup 403.000 semptomatik vaka belirtilmiştir. Yine aynı yıllarda kontamine gıda tüketimi ile oluşan cryptosporidiosis vakaları da belirtilmiştir (MacKenzie ve ark. 1994, Över 1996, Strausbauhg, 2000).

Cryptosporidium yüksek ölçüde klora dayanıklıdır. Sonuç olarak, içme sularından bertaraf edilmesi oldukça zordur (Binkley 2015). *Cryptosporidium* enfeksiyonlarında su ile geçiş içme suları, eğlence amaçlı kullanılan sular ve tarımsal alanlarda kullanılan sulama sularıyla olmaktadır. Sularda yapılan bir çalışmada 66 içme su örneğinin % 27'sinde *C. parvum* ookistlerine rastlanmıştır. Yüzey su kaynaklarının ise % 66-97'sinde *C. parvum* ookistlerinin var olduğu gösterilmiştir (Türkçapar 2001). Kuzey Amerika'da 1985-1994 yılları arasında içme suyu kaynaklarının *C. parvum* ile kontamine olması nedeniyle 12 salgın gerçekleşmiştir. Bu salgınlarda ikisinde immunsistemi baskılanmış popülasyonundaki ölüm oranları % 52-68 arasında olmuştur (MacKenzie ve ark. 1994).

Cryptosporidium enfeksiyonlarında inkübasyon periyodu 5-7 gün arasında değişmektedir. İnsan ve hayvanlar tarafından dışkı ile atılan ookistler çevre kontaminasyonunda önemli rol oynar. Atılan ookistlerin çoğunluğu sporlanmış olarak bir kısmı ise 2 gün içinde sporlanmayı tamamladığı için kısa bir süre içinde başka canlıları enfekte edebilir. Ookistlerin dış ortamda ve dezenfektanlara karşı dirençli olmaları da enfeksiyonun yayılışında oldukça önemlidir (Sevinç ve Dik 2015, Bogan 2018). Aynı zamanda çok sayıda ookist atılması ve az sayıda ookistin alınmasıyla enfeksiyon gerçekleşebildiği için *Cryptosporidium* enfeksiyonları kolayca yaygınlığını devam ettirebilmektedir. Örneğin buzağılarda 30 ookist enfeksiyonun oluşması için yeterlidir. İshalli genç buzağılar gram dışkıda 10^7 'den daha fazla ookist atarlar. Konaktan atılan ookistler efektiftir. Sığırlarda *C. parvum*'un prepatent süresi 2-7 gün olup, enfekte hayvanlar dışkıları ile 2-3 hafta kadar (ortalama 10 gün) ookist çıkarırlar (Fayer 2008, Wyatt ve ark. 2010, O'Hara ve Chen 2011). 83-123 arasında ookistin sularda enfeksiyon oluşturmak için yeterli olduğu belirtilmiştir (Chappell ve ark. 2006).

1.5. Patogenez ve Klinik-Patolojik Bulgular

Enfeksiyon protozoonların epitel hücrelerin mikrovilluslarının fırçamsı kenarlarına tutunarak bağırsak mukozasının fonksiyonlarını bozmasıyla başlar.

Sindirim sisteminde ince bağırsak mikrovilluslarının atrofisi sonucunda malabsorbsiyon ve laktoz aktivitesinde azalma meydana geldiği, bunlara bağlı olarak da fırçamsı kenarlarda ki maldigesyonun orta şiddetli bir ishale neden olduğu ileri sürülmektedir (Xiao ve Fayer 2008).

Cryptosporidiosis de ishal gelişmesinde rol oynayan faktörler arasında *Cryptosporidium* 'ların epitel hücreleri istilası ile epitel bütünlüğünün bozulması, enfeksiyona bağlı olarak bağırsak fonksiyonlarının bozulması, parazitten enterotoksin salgılanması ve konağın enfeksiyona verdiği cevap şeklinde sayılabilir. *Cryptosporidium* enfeksiyonlarında, mukozal bariyer bozulur ve bunun sonucunda makro moleküllerin permaabilitesi artar. Artan permaabiliteye bağlı olarak bağırsak epiteli içerisinde bulunan iyonlar ve su tekrar lümeneye atılır ve lümen içi sıvı miktarında artış olur (Thompson ve ark. 2005).

Hastalıkta görülen en belirgin semptom sarı sulu pis kokulu bir ishal tablosudur. İştahsızlık, dehidrasyon, kas titremeleri, kilo kaybı, kıllarda karışıklık ve ateş eşlik eden diğer belirtilerdir. Hastalığın ilerlemiş dönemlerinde ishalin mukus, fibrin, gaz kabarcığı ve kan izleri taşıdığı bildirilmektedir. Cryptosporidiosis yüksek morbidite ve düşük mortalite ile seyreden bir enfeksiyondur. Bu protozoonun diğer enteropatojenlerle (*Giardia*, *Eimeria* gibi protozoonlar, *E.coli* ve *Proteus* grubu bakteriler ile *Rota* ve *Corona* viruslar) birlikte ortaya çıktığı enfeksiyonlarda klinik bulguların daha şiddetli ve ölümün daha fazla olduğu saptanmıştır (Thompson ve ark. 2005, Xiao ve Fayer 2008, Anonim 2019a).

Tavuklarda ve hindilerde sindirim sistemiyle alınan *C. meleagridis* bursa Fabricius ve kloaka da enfeksiyon oluşturur. İshalle karakterize olan enfeksiyonun hindilerde mortalitesi düşüktür. *C. baileyi*; tavuk, ördek, hindi gibi kanatlılarda ölümle sonuçlanabilen solunum sistemi enfeksiyonlarına neden olur. Genç bıldırcınlarda bazen tablo ağırlaşır ve %90'a varan ölümle sonuçlanabilir. Klinik olarak; depresyon, hırıltılı solunum, göz ve burundan akıntının gelmesi, solunum güçlüğü, aksırma, kuvvetli öksürük, anoreksi, konjiktivitis ve infraorbital sinüslerde

şişme olduğu tespit edilmiştir. Ancak bursa Fabricius ve kloaka enfeksiyonlarında klinik belirti gözlenmemiştir (Current ve ark. 1986, De Graff ve ark. 1999, Sreter ve Varga 2000).

Bağırsak cryptosporidiosisinde otopsi bulgusu olarak bağırsaklarda gazlı bir şişlik, bağırsak lümeninde kan veya mukoid sıvı, açık sarı sulu içerik, intestinal mukozada konjesyon, mezenteriyel lenf yumrularında ödem ve büyüme görüldüğü gözlenmektedir. Ancak bu bulgular tanı için yeterli değildir. Buzağılarda *Cryptosporidium* ookistlerinin ince bağırsakların distal kısmında bulunduğu ve ileum mukozasında değişikliklerin çok şiddetli olduğu belirlenmiştir. Bu bölgelerin hiperemik ve ileumun bazı bölgelerinde şişlik görüldüğü, mukoza kalınlığındaki azalma enfeksiyonun klinik şiddetine göre değişmektedir. Yine bağırsak villuslarında farklı derecelerde ödem, yapışma ve atrofi gözlenmektedir (Özer 1990, Thompson ve ark. 2005, Anonim 2019b).

Kanatlılarda, *Cryptosporidium* lar daha çok larinks, trake gibi solunum sistemi organlarına yerleşirler. Bu sistemde oluşturdukları makroskobik bulgular; burun delikleri, infraorbital sinuslar ve tracheada bol mukus, sinuslarda şişme, hava kesesinde opaklaşma, akciğerlerde kırmızı-gri benekli bir görünüm ve mukozalarda nekroz, inflamasyon olarak bildirilmektedir (De Graff ve ark. 1999, Sreter ve Varga 2000, Anonim 2019b). Küçükerden ve ark. (1997), Elazığ yöresinde 1-45 günlük 454 civcive ait bursa Fabricius ve ince bağırsaktaki incelemeleri sonucu %8,1 bursal, %4,4 intestinal cryptosporidiosis bulmuşlardır. Patolojik muayenelerde ise bağırsaklarda sulu içerik, villuslarda atrofi, mononükleer hücre infiltrasyonu, bursa fabricusda ise yangısal reaksiyon, lenfoid follüküllerde atrofi saptanmıştır.

Histopatolojik olarak ileum mikrovilluslarında şişme, kısalma ve atrofi, lamina propria da fazla sayıda mononükleer hücre ve nötrofil infiltrasyonu görülür. Ayrıca intestinal kanalda hücre döküntüleri ve mikrovillus epitellerinde *Cryptosporidium* ların değişik formları histopatolojik incelemelerde görülmüştür (Özer 1990). Klinik bulgu göstermeyen abomazum cryptosporidiosisinde bez

lümenlerinde genişleme ve epitel hücrelerinde atrofi gibi bulgulara rastlanmıştır. Enfeksiyon sırasında yapılan mikroskopik muayenelerde abomazum bez epitel hücrelerine tutunmuş çok sayıda çeşitli evrelerdeki *Cryptosporidium* 'lar görülmüştür (Thompson ve ark. 2005).

Kanatlıların bursa Fabricius enfeksiyonlarında klinik ve makroskopik bulgular gözlenmemektedir. Buna karşılık histopatolojik olarak plikaları döşeyen epitel hücrelerinin mikrovillus kenarlarında çok sayıda *Cryptosporidium* 'ların gelişme evrelerine, plikal epitellerde hiperplaziye ve heterofil infiltrasyonuna rastlanmaktadır. Yine kanatlıların, solunum sistemi epitel hücrelerde hipertrofi ve hiperplazi supepitelyal bağ dokuda lenfosit, plazmosit, histiyosit ve heterofil infiltrasyonu görülmektedir (Bermudez ve ark. 1984, De Graff ve ark. 1999, Sreter ve Varga 2000).

1.6. Cryptosporidiosis de Teşhis

Cryptosporidium türlerinin teşhisi, Tablo 3'te görüldüğü gibi; mikroskopik teknikler (direkt dışkı muayenesi), serolojik-immunolojik yöntemler, flow sitometri, histopatolojik ve moleküler yöntemler olmak üzere 5 farklı biçimde konulmaktadır (Shams ve ark. 2016, Anonim 2019a). Ayrıca 1990'lı yıllardan günümüze kadar sulara *C. parvum* teşhisinde çeşitli güncel metodlar geliştirilmiştir (Betancourt 2002). Su örneklerinde hazırlanan preparatlar değişik metodlar ile boyanabilmektedir. Bu boyama metodları içerisinde; İodine boyama, Giemsa boyama, Trikrom boyama, Auramine-Rodamin boyama, modifiye Ziehl-Neelsen boyama, Acridine Orange boyama ve modifiye Köster metodu sıralanabilir (Casemore 1991, Murray ve ark. 1994).

Cryptosporidium 'ların klinik tanısı oldukça güçtür. Tipik semptomlara bakılarak hastalıktan şüphe edilebilir. Akut *Cryptosporidium* enfeksiyonlarında en kolay tanı dışkı ile atılan ookistlerin görülmesi ile konulabilir. Direkt mikroskopik

incelemede *Cryptosporidium* ookistleri mayalarla benzerlik gösterdiği için boyasız preparatlarda *Cryptosporidium* 'ları tanımak güçtür (Sreter ve Varga 2000).

Cryptosporidium'ların teşhisi amacıyla safranin-methylen blue, karbol-fuksin, Asit-fast, Auramine-Rhodamine, Acridine Orange, giemsa, nigrosin, kinyon asit-fast, Ziehl-Neelsen ve modifiye asit-fast gibi boyama yöntemlerinin kullanıldığı bildirilmiştir. Asit-fast yöntemiyle boyanan *Cryptosporidium* ookistleri parlak kırmızı renkte görülür. Genelde sık yapılan laboratuvar tanısında zor olmayışından kısa sürede sonuç alınması sebebiyle en çok kullanılan teknik dışı boyamadır (Sungur ve ark. 2008).

İmmunolojik tanıda kullanılan yöntemler Immuno Fluorescence Assay (IFA) ve Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) testleridir. ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi hem hızlı hem de kolay uygulanabilir olması nedeniyle dışkıda *Cryptosporidium* ookistlerinin tespitinde kullanılabilir uygun bir yöntemdir. Genel anlamda ELISA testinin duyarlılığı %93, özgüllüğü ise %99'dur. *Giardia lamblia* veya diğer parazitlerle çapraz reaksiyon vermez ve genellikle %10'luk formalin çözeltisinde saklanan örneklerle çalışılmaktadır. *Cryptosporidium*'ların immunolojik teşhis yöntemlerinden bir tanesinde monoklonal antikor kullanılarak yapılan IFA (Immuno Fluorescence Assay) testi olup bu testin özgüllüğü oldukça yüksektir. *Cryptosporidium* ookistlerinin tanımlanmasında kullanılan IFA yöntemi, ookist yüzeyinde bulunan antijenik yapılara floresan boya ile işaretli monoklonal antikorların bağlanması prensibine dayanmaktadır. IFA tekniği ile yapılan direkt floresan antikor boyama yöntemi diğer protozoonlar, helmintler, enterik bakteriler ve maya benzeri mantarlarla çapraz reaksiyon vermez. IFA tekniği ile az sayıda ookist içeren dışkılarda bile teşhise gidildiği için erken dönemde tanı konulmasında ve asemptomatik taşıyıcıların saptanmasında kullanılan önemli bir yöntemdir. Bunlardan rutin olarak boyama yöntemleri ve direkt floresan antikor testi (DFA) ile enzim immunoassay (EIA, ELISA) ve hızlı dipstick benzeri testler, parazitin prevalansını belirlemede tercih edilmektedir. Boyama yöntemlerine göre immunolojik metodların daha duyarlı olduğu belirtilmektedir (Casemore 1991,

Ok ve ark. 1997, Geurden ve ark. 2008, Smith 2008, Uyar ve Taylan Özkan 2009). İmmünolojik yöntemlerden bir tanesi olan ve monoklonalantikor kullanılarak yapılan IFA testin özgünlüğü oldukça yüksek olup, aside dirençli boyama tekniklerinden daha duyarlı olduğu bulunmuştur (Quilez ve ark. 1996).

Histopatolojik teşhis; alınan doku örneklerinin hematoxilen-eozin ile boyanarak *Cryptosporidium*'ların çeşitli gelişme evrelerinin ışık ve elektron mikroskop ile görülmesi esasına dayanır. Bu yöntem pahalı ve uzun zaman aldığı için günümüzde pek tercih edilmez. Serolojik olarak spesifik IgG, IgM antikorlarının ve sporozoit antijenlerinin gösterilmesi ile tanı konulabilir. Özellikle bağırsak dışı yerleşen etkenlerin neden olduğu cryptosporidiosis teşhisi amacıyla (safra, karaciğer, akciğer gibi) trake sıvısı, bronkoalveolar lavaj sıvısı ve organ biyopsi örneklerinde ookist ve diğer gelişme dönemlerinin görülmesi esasına dayanır (Vohra ve ark. 2012).

PZR ise *Cryptosporidium* ookistlerinin tanısında kullanılacak hassas ve özel moleküler bir tekniktir. Parazitin cins, tür ve genotipinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. PZR yöntemi kullanılarak sulardaki ya da asemptomatik taşıyıcılardaki *Cryptosporidium* ookistlerini tespit etmek mümkün olmaktadır (Guerrant 1997, Pollok ve Farthing 1997).

Tablo 3. *Cryptosporidium* türlerinin teşhisi için kullanılan yöntemler (Shams ve ark. 2016, Anonim, 2019a'dan faydalanılmıştır).

	TEŞHİS TİPLERİ	KULLANILAN YÖNTEMLER
I	Mikroskopik Teknikler	<i>Flotasyon Yöntemleri</i> (Sheather'in şeker solüsyonu, Çinko sülfat, Doymuş Tuzlu Su)
		<i>Sedimentasyon Yöntemleri</i> (Formalin-eter, Formalin etil-asetat)
		<i>Boyama Yöntemleri</i> (H-E, Romanowski, Modifiye asit-fast, Safranin-metilen mavisi, DMSO Modifiye asit fast)
II	Serolojik-İmmunolojik Teknikler	Antijen arayan metodlar (İmmunokromatografik hızlı tanı testleri (ICT), Enzim Immonoassay (EIAs), Hemaglutinasyon testleri)
		Antikor Arayan Metodlar (IFA)
III	Flow Sitometri	
IV	Histopatolojik İncelemeler	
V	Moleküler Teknikler	PZR, Real-time PZR, Multipleks PZR, Nested PZR
		FISH (Floresans in situ hibridizasyon)
		LAMP

1.6.1. Direkt Dışkı Muayenesi

Cryptosporidium tanısı için alınan dışkı örnekleri ookistler yönünden incelenmektedir. Alınan dışkı örnekleri sulu ise direkt, eğer sulu değilse dışkı bir kaba konulup iyice ezildikten sonra üzerine distile su dökülüp iyice ezdikten sonra başka bir kaba süzülüp bir santrifüj tüpüne alınıp santrifüj edilir. Santrifüj ettikten sonra üzerindeki sıvıyı döküp dipteki sedimenti iyice karıştırıp vorteksledikten sonra yaymalar hazırlanır ya da üzerine çinkosülfat koyup santrifüj edilip flotasyona tabi tutularak incelenmektedir. Dışkı örnekleri eğer hemen incelenecekse fiksatif kullanmaya gerek yoktur. Eğer uzun süre saklanıp ve sonrasında incelenecekse %10' luk formalin, sodyum asetat-asetik asit formalin (SAF) ve polivinil alkol (PVA) gibi fiksatifler koruyucu olarak (prezervatif) kullanılmaktadır. Boyama yöntemlerinin birçoğunda PVA pek tercih edilmemektedir. Ookist canlılığının uzun süre devamı için dışkı örneklerinin %2,5 luk potasyum dikromat eklenerek 4°C de saklanması önerilmektedir. Fakat moleküler analizler yapılacaksa formalinde saklanması tercih edilmelidir (Smith 2008).

1.6.2. Boyama Yöntemleri

Cryptosporidium enfeksiyonlarının teşhisinde; karbol fuksin, Auramin Fenol (AP), Modifiye Ziehl-Neelsen, Kinyoun Asit-fast, Modifiye Asid-fast (mAF) gibi boyama yöntemleri kullanılmaktadır. Boyama yöntemlerine göre immunolojik metotların tanıda daha duyarlı olduğu belirtilmektedir (Ok ve ark. 1997, Geurden ve ark. 2008, Smith 2008, Uyar ve Taylan Özkan 2009). Boyama yöntemleriyle hazırlanan preparatlardaki ookist sayıları, ookist atılım yoğunluğu ile hayvandaki enfeksiyon şiddeti belirlenmektedir (Burgu 1984, Castro-Hermida ve ark. 2002, Sarı ve ark 2009).

1.6.2.1. Modifiye Ziehl-Neelsen (mZN) Boyama Yöntemi

Dışkıda *Cryptosporidium* ookistlerinin varlığını belirlemek için yapılan bir boyama yöntemidir. Ookistler solgun yeşil zemin üzerinde kırmızı yapılarda 20'lik objektifte görülebilmektedir. Boyanmış ookistler daha sonra DNA ekstraksiyonu için kullanılabilirler (Smith 2008).

1.6.2.2. Kinyoun Asit-Fast Boyama Yöntemi

Cryptosporidium ookistleri mavi veya soluk kırmızı zeminde, açık pembeden kırmızıya çalan renkte boyanmaktadır. Ookistler parlak kırmızı olmadıklarında ve dışkıda seyrek bulunduğu gözden kaçabilirler (Mıstık ve ark. 1992, Ok ve ark. 1997).

1.6.2.3. Modifiye Asit-Fast Yöntemi

Cryptosporidium ookistleri, modifiye asit fast boyama yöntemi ile hazırlanan preparatlarda yoğun kırmızı-pembe renge boyanır ve çoğunun içinde birden fazla sayıda siyah muntazam olmayan granüller (sporozoitler) görülmektedir. Ookistler mavi zemin üzerinde kolaylıkla fark edilmektedir. Mayaları maviye boyayan metilen mavisi karşıt boya olarak kullanılmaktadır (Ok ve ark. 1997).

1.6.2.4. Karbol Fuksin Boyama Yöntemi

Bu yöntemde eter- alkol karışımında temizlenmiş dışkı örneği lam üzerine bir baget yardımı ile bir damla kadar alınır. Aynı miktar karbol-fuksin dışkı örneğinin yanına konularak bir lamelin köşesi yardımı ile karıştırıldıktan sonra ince bir dışkı frotisi hazırlanır. Hazırlanan froti 1-2 dakika kuruması için bekletilir. Kuruyan froti üzerine bir damla immersiyon yağı damlatılır ve lamelle kapatılarak 40x10 büyütmede incelenir. Mikroskobun bu büyütmesinde 20 sahadaki ookist sayılarak

ortalaması alınır. Boyama sonunda ookistler kırmızı zemin üzerinde şiddetli ışık kırıcı özellikte, şeffaf, parlak, düzgün duvarlı ve oval yapıda gözlenirler. Karbol fuksin boyama yönteminde x40'lık ve x100'lük objektifte mikrometre ile ayar yapılarak ookistler içinde sporozoitler görülebilir (Burgu 1984, Özlem ve ark. 1997, Sungur ve ark. 2008).

1.6.3. İmmunolojik Yöntemler

Parazitolojide immunolojik tanı yöntemleri yaklaşık olarak 30 yıl kadar önce kullanılmaya başlanmıştır. *Cryptosporidium* türlerinin dışkıda immunolojik olarak araştırılmasında, Direct Immunfloresans Assay (DFA), İndirekt Floresan Antikor Assay (IFA) ve Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve hızlı tanı testleri geliştirilmiştir (Ok ve ark. 1997, Carey ve ark. 2004, Doğruman-Al 2011).

İmmunolojik teknikler boyama yöntemlerinden daha duyarlılardır (Starling ve Arrowood 1993). Çok sayıda örnek çalışılabilmesi, değerlendirme yapılmasında deneyim gerektirmemesi gibi avantajları sayesinde immunolojik testler laboratuarlarda tercih nedeni olmuştur.

1.6.3.1. Direkt İmmunfloresans Antikor Testi (DFA)

Direkt immunofloresans testi (DFA), *Cryptosporidium* türlerinin yüzey antijenlerini tanıyan floresan işaretli monoklonal antikor içermektedir. Direkt immunfloresansın günümüzde referans test olarak kabul edilmesinin nedeni, modifiye asit-fast boyama yöntemlerine göre daha yüksek duyarlılık (%99) ve özgüllüğe (%100) sahip olmasıdır. Bu yöntem aynı zamanda SAF solüsyonu içinde saklanılan dışkı örneklerine de uygulanabilmektedir. (Doğruman-Al 2011).

1.6.3.2. İndirekt Fluoresan Antikor Test (IFAT)

İmmunolojik yöntemlerden biri olan IFA testinin monoklonal antikor ve özgülüğü oldukça yüksektir. Serolojik tanı yöntemlerinden olan İndirekt Fluoresan Antikor Assay (IFA) testinde; *Cryptosporidium* ookistlerine karşı konakta oluşan IgA, IgG ve IgM antikorları, Enzyme Linked İmmnosorbent Assay (ELISA) testinde ise bu antikorlara ek olarak IgE antikorları tespit edilir. Bu testler ile kısa sürede çok sayıda örneğin çalışılabilmesi, değerlendirme yapılmasında deneyim gerektirmemesi gibi nedenlerden dolayı tercih sebebidir (Doğruman-Al 2011).

IFA yönteminde ookistlerin antijenik yapıları fluoresan boya ile işaretli monoklonal antikorlara bağlanarak ookistler siyah zeminde yeşil renkte görülürler. Yine bu tekniğin önemli özelliklerinden biride dışkı örneğinde az sayıda ookist bulunsada erken dönemde teşhisin gerçekleşmesi ve asemptomatik taşıyıcıların belirlenmesi olarak ifade edilmiştir. Uygulama için fluoresans mikroskoba ihtiyaç duyulması ve maliyetin yüksek olması testin dezavantajlarından (Carey ve ark. 2004).

1.6.3.3. Enzyme- Linked İmmunsorbent Assay (ELISA)

Antijen antikor reaksiyonlarını göstermek için enzimlerin kullanıldığı serolojik bir tanı yöntemidir. Duyarlılığa sahip olması, kolay uygulanabilmesi, kullanılan reaktiflerin uzun süre saklanabilmesi, çok sayıda örneğin kısa sürede çalışılabilmesi sonuçların spektrofotometrede objektif olarak değerlendirilebilmesi bu testi avantajlı yapmaktadır. Bu nedenle parazitolojide yaygın olarak kullanılmaktadır (Zeyrek ve Dirim Erdoğan 2011). Bu yöntemin esas amacı; antijen-antikor kompleksine enzim ile işaretli antiglobulinin ilave edilmesi ve substratın eklenmesi ile eğer antijen var ise renk oluşumunun gözlenmesidir. Yine bu renk oluşumu kimyasal bir olay olup enzimin aktivitesine bağlıdır (Ak 1997).

Dışkıda *Cryptosporidium* ookistlerinin tespitinde kullanılabilen uygun bir cihaza gereksinim duyulması ve pahalı olması ELISA'nın kullanımını sınırlamaktadır (Kehl ve ark. 1995).

Cryptosporidium antijenlerinin fokal örneklerde ookist konsantrasyonu ile veya ookist konsantrasyonu olmadan aranması mümkündür. ELISA ve immünokromatografik ticari kitler içinde en çok kullanılan uygulamalardır. ELISA 96 kuyucuklu mikroplyetlerinin veya şeritlerinin kuyucuklarına bağlanan bir antikorun, fekal süspansiyonlarda *Cryptosporidium* antijenine bağlanması ilkesine dayanır. İkinci bir antikor, yakalanan antijen üzerindeki maruz kalmış epitoplara bağlanır ve onu iki antikor arasında sandviç yapar. Bu reaksiyon iki şekilde görselleştirilebilir. Ya ikinci antikor bir enzim ile etkilenebilir veya ikinci antikora bağlanan bir üçüncü antikor enzim ile etiketlenir. Üçüncü enzim etiketli antikorun kullanılması, tahlilin hassaslığını artırabilir. Reaksiyon, enzim tarafından katalize edilen bir substrat ilave edildikten sonra görselleştirilir; yoğunluğu görsel olarak değerlendirilebilen çözünür bir renk üretir veya spektrofotometre ile bazı ticari ELISA kitleri, farklı IFA grubundan çok farklı rapor gruplarına sahip olsalarda enfeksiyon tespitinde bazı IFA kitlerinden daha iyidir. Kliniksel numuneler, %10 formalin, SAF, PVA veya diğer fiksatif maddelerde fiske edilmeden veya fiske edilerek tanı laboratuvarlarına gönderilebilir. Teşhis uzmanı, kullanılan herhangi bir fiksatifin, kullanılan test yönteminin doğruluğuna müdahale edip etmediğini belirlemelidir. Bunlar normalde kitlerin uygulanma prosedüründe listelenir. Herhangi bir laboratuvarında antijen tespit yöntemlerinin uygunluğu, *Cryptosporidium* enfeksiyonlarının göreceli prevalansına, günlük işlenen numune sayısına ve test maliyeti ile zamandan tasarruf arasındaki dengeye bağlıdır. Kopro-antijen tespiti immünoassay'ları mikroskopik yöntemlerden daha kısa sürede yapıp gerçekleştirilmesi daha kolaydır ve deneyim gerektirmez (Fayer ve Xiao, 2008).

1.6.4. Moleküler Biyolojik Yöntemler

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) *Cryptosporidium* ookistlerinin tanısı için ilk defa 1990 yılında kullanılmıştır (Laxer ve ark. 1991). Moleküler yöntemler tür/genotip ve subtiplendirme düzeyinde farklı *Cryptosporidium* türlerini ayırt etmek için geliştirilmiştir. Bu yöntemler genellikle insan ve hayvanlardaki *Cryptosporidium* türlerini karakterize etmek için kullanılmaktadır (Xiao 2010). Cansız mikroorganizmalar, laboratuvar kontaminasyonu, çıplak nükleik asitlerden kaynaklanan yanlış pozitifler ortaya çıkabilmektedir (Fayer ve ark. 2000).

Son zamanlarda, az ookist atılımının olduğu ve diğer teşhis yöntemleri ile etkenin tespit edilmesinin güç olduğu hasta ve taşıyıcılarda, değişik çevresel kaynaklarda, *Cryptosporidium* türlerinin tanımlanması amacıyla yoğun olarak kullanılan PZR'ın cryptosporidiosisin teşhisinde kullanılabilecek en etkin ve uygun yöntemlerden olduğu bildirilmiştir (Sungur ve ark. 2008).

Cryptosporidium türlerinin tespitinde moleküler yöntemlerin (PZR vb.), dışkı boyama ve serolojik teşhis yöntemlerine göre (ELİSA, IFA gibi) daha duyarlı olduğu ve uygun olmayan koşullarda saklanmış örneklerde bile etkenin tespit edilmesinde avantajlar sağladığı bilinmektedir (Sungur ve ark. 2008). Cryptosporidiosis teşhisinde kullanılmış olan gerçek zamanlı PZR yönteminin, yüksek duyarlılık ve özgüllük yanında, kontaminasyon riskinin az olması, parazitemi oranını belirleyebilmesi, eş zamanlı hızlı tanı ve kantitasyona olanak sağlaması ve dolayısıyla tedavi etkinliğinin takibi gibi avantajlarının olduğu bildirilmiştir (Şimşek ve ark. 2012).

1.7. Cryptosporidiosis de Tedavi-Korunma-Kontrol

Cryptosporidiosis tedavisi amacıyla çok sayıda etken madde denenmiş, ancak hastalığı tamamen ortadan kaldıracak etkili bir ilaç bulunamamıştır. İlaç

uygulamaları ve araştırmaları günümüzde halen devam etmektedir. İshal nedeniyle bozulan sıvı elektrolit dengesini düzeltmeye yönelik sıvı ve elektrolit desteği tedavinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır.

Cryptosporidiosis'in tedavisinde 200 üzerinde antimikrobiyal, anticoccidial ve antri protozoal bileşikler, antihelminetikler ve geniş spektrumlu antibiyotikler gibi çeşitli kimyasal maddelerin kullanımı denenmiştir (Tzipori ve Griffiths 1998, Sears ve Kirckpatrick 2001, Xiao ve ark. 2004). Lasolosid sodyum, spiramisin, halofuginone laktat, paromomisin, azitromisin, nanozoxide, artesunate, sulfonamidler, nitazoxanide ve monensin gibi ilaçlar profilaktik ve terapötik amaçla kullanılan bazı etken maddelerdir. Kullanılan bu ilaçların enfeksiyonu tamamen ortadan kaldırmadığı, ancak ookist sayısında ve ishalin şiddetinde azalma sağladıkları bir gerçektir (Sreter ve Varga 2000, Thompson ve ark. 2005, Xiao ve Fayer 2008, Sevinç ve Dik 2015, Checkley ve ark. 2015, Mostafa ve ark. 2018).

İmmun sistemi sağlam olan canlılarda tedavi için su ve elektrolit kaybını karşılamak yeterli olmaktadır. İmmun sistemi bozulmuş kişilerde ilk önce immün sistemini baskılayan dış faktörlerin ortadan kaldırılması amaçlanmaktadır (Ok ve ark. 1995, Lovery ve ark. 2001, Sears ve Kirckpatrick 2001, Fahey 2003).

Anti-*Cryptosporidium* antikorları içeren kolostrum da yararlı olabilmektedir (Thompson ve ark. 2005, Checkley ve ark. 2015, Sevinç ve Dik 2015). Buzağılarda yapılan bir çalışmada kolostrum almayan buzağıların kolostrum alanlara göre 2-4 kat hastalık ve ölüm riski taşıdığı belirtilmektedir (Sevinç ve Dik 2015). Son yıllarda parazitin yüzey antijenleri gp 15, gp 40 ve g p60 ile devam eden aşı çalışmaları da yoğunlaşmıştır (Checkley ve ark. 2015, Ryan ve ark. 2016).

Cryptosporidium enfeksiyonlarında bulaşma kaynaklarının önüne geçilerek önemli bir koruma sağlanmış olur. *Cryptosporidium*'ların en önemli bulaşma kaynağı kontamine sulardır. Ayrıca kişiden kişiye ve kontamine gıdalarla bulaşma

şekillenmektedir. Büyük salgınlar genellikle birçok kaynaktan gelen içme suyundan veya dinlenmiş suyla temastan ortaya çıkmaktadır. Kontamine yüzme havuzları ve göl gibi su kaynaklarından ağız yoluyla su alınması, kontamine sebze ve meyvelerin yenilmesi, kişiden kişiye doğrudan veya dolaylı bulaşma, çiğ süt içilmesi, enfekte canlı ile temas bulaşma yolları içerisindeki önemli faktörler olarak dikkati çekmektedir (Xiao ve Fayer 2008).

Cryptosporidiosis'e karşı tam olarak etkili bir tedavi yöntemi geliştirilememiştir. Bu yüzden uzun süre dış ortamda canlılıklarını devam ettiren ookistlerin çevreye bulaşmasını kontrol altına almak gerekmektedir. *Cryptosporidium* ookistleri +4-6 °C'de nemli ortamda 1 yıldan fazla canlılığını sürdürebilir (Graczyk ve ark. 2008, Anonim 2019b). Ookistler 70 C°'de 20 dakikada, 80 C°'de ise 2 dakikada inaktif olurlar (Bogan, 2018). Ayrıca *Cryptosporidium* ookistleri birçok dezenfektana (sodyum hipoklorit, klorin, fenol gibi) karşı dirençlidir (Yoder ve ark. 2012). Ancak %10'luk formalin, %5'lik amonyak parazitleri tahrip ettiği için kontaminasyonların önlenmesinde fumigasyon şeklinde kullanılabilir (Bogan 2018, Anonim 2019b). UV ve irradiye ışınlar ile etilenin, ookistler üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir. İçme suyundan ookistlerin ayrılması için 1 mikronluk filtrasyon etkilidir (Anonim 2019b). 1-4 haftalık buzağılarda önemli bir gastroenterit sebebi olduğu için fekal-oral bulaşmanın önüne geçilmelidir. Bu sebeple hayvanlar tek tek barındırılmalı, boksların, yerlerin, kullanılan araç ve malzemenin kaynatılmış sularla yıkanması, her hayvan için ayrı su kovası kullanılması, ahır havasının çok rutubetli ve sıcak olmaması, altlıkların sık sık değiştirilmesi ve sağlıklı hayvanları ishalleri olanlardan ayrılması gibi hijyenik kurallar önem kazanmaktadır (Özer 1990, Sevinç ve Dik 2015).

Ookistlerin uzun süre dış ortamda canlı kalmaları ve birçok dezenfektana karşı dirençli olmaları, az sayıda ookistin enfeksiyon oluşturma yeteneğine sahip olması, bazı genotipler için hayvanların rezervuar olmaları ve konağın bağışıklık sisteminin baskılanmış olması cryptosporidiosisin yayılmasında etkili olduğu için önlemler alınmalıdır (Truong ve Ferrari 2006, Fayer 2008).

2. KANATLI HAYVANLARDA CRYPTOSPORIDIOSIS

Cryptosporidium soyundaki protozoonlar; memeli, kanatlı, sürüngen, amfibi ve balıklarda gastrointestinal ve solunum sistemi, bursa Fabricius, daha az sıklıkla diğer organlarda parazitlenerek klinik ve subklinik enfeksiyonlara neden olmaktadır (Bermudez ve ark. 1984, Sreter ve Varga 2000, Barta ve Thompson 2006, Gomes ve ark. 2012, Santin 2013). Cryptosporidiosis; Antartika kıtası dışında 30'dan farklı kanatlı türünde sindirim ve solunum sistemini etkileyen bir hastalıktır (Ryan 2010, Nakamura ve Meireles 2015).

Kanatlılarda *Cryptosporidium* türlerinin ilk tanımı, Tyzzer (1929) tarafından tavukların sekum epitelinden bildirilmiştir. Daha sonra Slavin (1955) tarafından genç hindilerde ölümlere neden olan *Cryptosporidium meleagridis* tanımlanmıştır. Yaklaşık yirmi yıl sonra evcil kazlarda (*Anser anser*) (Proctor ve Kemp, 1974) ve etlik piliçlerde (Fletcher ve ark, 1975) cryptosporidiosis teşhisi yapılmıştır. Current ve ark. (1986) evcil tavuklarda *Cryptosporidium*'un biyolojik döngüsünü tanımlayarak, *Cryptosporidium baileyi* türünü adlandırmıştır. *Cryptosporidium galli* 1999 yılında Pavlasek, 2003 yılında ise Ryan ve ark. tarafından tavukların proventrikulusundan tanımlanmıştır.

Kanatlılarda; *C. baileyi*, *C. galli*, *C. meleagridis*, *C. avium* olmak üzere dört ana *Cryptosporidium* türü bildirilmiştir. Çoğunlukla moleküler veriler ışığında birçok genotip de tanımlanmıştır (Sreter ve Varga 2000, Smith ve ark. 2007, Xiao ve Fayer, 2008, Ryan 2010, Ryan ve ark. 2014, Nakamura ve Meireles 2015, Holubova ve ark. 2016, Anonim 2019b). Kanatlılarda görülen *Cryptosporidium* türleri ve bazı genotiplerin ookist morfolojileri Tablo 4'te gösterilmiştir (Xiao ve Fayer 2008, Ryan 2010). Biyolojik, morfolojik veya konakçı özgüllük verilerinin eksikliğinin, *Cryptosporidium* kanatlı genotipleri ile ilgili yeni türlerin adlandırılmasına bir engel olarak bildirilmiştir (Fayer 2010). Kanatlı hayvanlarda 4 ana tür dışında *C. andersoni*, *C. muris*, *C. parvum*, *C. hominis* türleri ile kanatlı genotipleri (I-V), kaz genotipleri (I-V), siyah ördek genotipi ve Avrasya çulluk genotipi tanımlanmıştır (Ryan ve ark. 2003, Jellison ve ark. 2004, Zhou ve ark. 2004, Ng ve ark. 2006,

Nakamura ve ark. 2009, Ryan 2010, Qi ve ark. 2011, Gomes ve ark. 2012, Nakamura ve Meireles 2015, Laatanma ve ark. 2017, Anonim 2019b).

Tablo 4. Kanatlılarda görülen *Cryptosporidium* türleri ve bazı genotiplerin ookist morfolojileri (Xiao ve Fayer, 2008, Ryan, 2010).

Tür/Genotip	Ookist Uzunluk (μ)	Ookist Genişlik (μ)
<i>C. meleagridis</i>	4,5-6,0	4,2-5,3
<i>C. baileyi</i>	6,0-7,5	4,8-5,7
<i>C. galli</i>	8,0-8,5	6,2-6,4
Kanatlı genotip II	6,0-6,5	4,8-6,6
Kanatlı genotip III	7,5	6,0
Kanatlı genotip IV	8,25	6,3
Avrasya çulluk genotip	8,5	6,4

Cryptosporidium baileyi, 12 kanatlı takımında özellikle Galliformes takımında en sık klinik veya subklinik hastalık raporları ile en çok teşhis edilen türdür. *Cryptosporidium galli* ise çoğunlukla Passeriformes ve Psittaciformes takımlarında olmak üzere beş farklı kanatlı takımında bulunurken, *C. meleagridis*, 4 kanatlı takımında özellikle de Galliformlar arasında enfeksiyon meydana getirmiştir. Aynı zamanda *Cryptosporidium meleagridis* memelileri etkileyen tek kanatlı *Cryptosporidium* türü olup hem doğal hem de deneysel enfeksiyonlar bildirilmiştir (Sreter ve ark 2000, Cama ve ark 2003, Darabus ve Olariu 2003, Xiao ve Fayer 2008, Nakamura ve Meireles 2015).

Evcil ve yabani kanatlılarda *Cryptosporidium* türlerinin yaygınlığı % 0.8 (Li ve ark. 2015) ile % 44.4 (Oliveira ve ark. 2008) arasında tespit edilmiştir.

Cryptosporidium türlerinin morfoloji ve gelişim evreleri diğer coccidialara benzese de; enfekte konaklardan sporlanmış olarak atılan ookistlerin su ve kontamine gıdalarla veya direkt solunum yoluyla alınmasıyla sporozoitlerin sindirim ve solunum sistemi epiteline nüfuz etmeleri önemli farklarından birisidir (Fayer ve

Ungar 1986). *C. baileyi*'nin yaşam döngüsü memeli cryptosporidiosisinden biraz farklıdır ve III. tip merontta gelişmektedir (Current ve ark. 1986). Diğer bir özellikte *C. baileyi* çok sayıda organının mukozal epitelinde gelişimini tamamlamaktadır (Sreter ve Varga 2000). *C. baileyi* için 2-7 gün olan prepatent süre, *C. meleagridis* için 3-5 gün olup, patent süre sırasıyla 4-32 ile 6-16 gün arasında değişmektedir (Lindsay ve ark. 1988, 1999, Sreter ve Varga 2000). Ayrıca *C. baileyi* enfeksiyonlarının aksine *C. meleagridis* enfeksiyonlarında ookist atılımı daha düşük olmaktadır (Lindsay 1997).

C. meleagridis ince ve kalın bağırsakta, bursa Fabricius ve proventrikulusun epiteliumunda bulunarak enterit ve ölüme neden olabilen enfeksiyonlar oluşturur. (Bermudez ve ark. 1984, Ryan 2010, Thomson 2016). Kanatlılar (hindi, tavuk, papağan, keklik, ördek) dışında buzağı, domuz, tavşan, rat, fare, köpek ve insanlarda enfeksiyon oluşturabilmektedir (Morgan ve ark. 2001, Soltane ve ark. 2007, Ryan 2010). Hindilerde *C. meleagridis* (intestinal cryptosporidiosis) ya sublinik seyreder ya da enterit tablosu ile seyreden gazlı ve mukuslu bir ishal ve ağırlık artışında azalmanın gözleendiği klinik formda ortaya çıkmaktadır (Goodwin ve ark. 1988). Evcil tavuklarda *C. meleagridis* enfeksiyonların da klinik cryptosporidiosis nadir olarak gözlenir ve genellikle diğer etiyolojik ajanlarla birlikte seyreder (Goodwin ve Brown 1989, Lindsay ve ark. 1989). *Cryptosporidium* türlerinin bıldırcın, keklik gibi kanatlılarda yüksek oranlarda morbidite ve mortaliteye (Hoerr ve ark. 1986, Pages-Mante ve ark. 2007) sebep olduğu, ayrıca güvercinlerde klinik olarak ishal yanında histopatolojide incebağırsaklarda hiperemi ve parazitin gelişim evrelerine rastlanıldığı bildirilmiştir (Özkul ve Aydın 1994). İntestinal cryptosporidiosis muhabbet kuşları ve papağanlar gibi ekzotik kuşlarda da gözlenmiştir (Goodwin ve Krabill 1989).

Cryptosporidium spp. ve *C. baileyi* (respiratör/bursal/kloakal cryptosporidiosis) özellikle baykuş, şahin ve kırlangıç gibi yabancı kuşlarda (Van Zeeland ve ark. 2008, Molina-Lopez ve ark. 2010, Bougiouklis ve ark. 2013) üst solunum sistemi, orta kulak ve oküler konjunktivada enfeksiyon oluşturmakla birlikte tavuklar, kaz, hindi, ördek gibi evcil hayvanlarda da enfeksiyonlara neden olmuştur

(Glisson ve ark. 1984, Current ve ark. 1986, Mason 1986, Blagburn ve ark. 1991, Chvala ve ark. 2006, Hamidinejat ve ark. 2014, Anonim 2019b). *Cryptosporidium* enfeksiyonları sadece üst solunum yolu enfeksiyonları gibi görüldüğü gibi bazen *Escherichia coli* ve infeksiyöz bronşitis virusu gibi diğer ajanlarla seyrederek bronş, akciğer ve hava keselerine yayılarak ölümlere neden olabilir (Goodwin 1989, Meireles ve ark. 1999). *C. baileyi*'nin neden olduğu respiratör cryptosporidiosis üst solunum yollarını etkileyen sinüzit ile karakterize (şişkin kafa) sendromu veya alt solunum yollarını (trake, bronş, hava kesleri, akciğer) etkileyen depresyon, uyuşukluk, iştahsızlık, öksürük, hapsirik, nefes darlığı, konjunktivit ve ölüm gibi semptomlarla seyreden diğer sendroma neden olmaktadır (Sreter ve Varga 2000). Ayrıca *Cryptosporidium baileyi*, kanatlılarda humoral immün yanıtta sorumlu organ olan bursa Fabricius'ta ciddi bir enfeksiyon şekillendirmektedir (Scott 2004, Anonim 2019b).

Cryptosporidium türleri ve *C. galli* (gastrik cryptosporidiosis) genellikle subklinik olarak seyrederek ishal, kilo kaybı ve apati gibi klinik bulgulara bazen sporadik mortaliteyle seyredebilmektedir (Antunes ve ark. 2008, Silva ve ark. 2010). *C. galli* ilk kez tavuklarda Pavlasek (1999, 2001) tarafından bildirilmiştir. Proventrikulusun glandüler epitelyum hücrelerine yerleşen yerleşen *C. galli* enfeksiyonları genç ve yetişkin kanatlılarda görülmesinin yanında ookist atılımının aralıklı olması ile de karakterizedir (Pavlasek 1999, 2001, Silva ve ark. 2010). Kanatlı genotip III enfeksiyonları *C. galli* enfeksiyonlarına benzer bir seyir göstermekte kusma, kilo kaybı ile proventrikulusta makroskobik ve mikroskobik lezyonlara sebep olmaktadır (Ravich ve ark. 2014, Anonim 2019a).

Kanatlı genotipleri (I-IV) çok farklı türde kanatlıdan izole edilmiş olup, moleküler çalışmalarda genotip I-II ve ördek genotipinin *C. baileyi* türüne genetik olarak çok benzediği tespit edilmiştir (Meireles 2006, Ng ve ark. 2006). Kanatlı genotip III ise Avrasya çulluk genotipi ile kanatlı genotip IV ise *C. galli* ile identik bulunmuştur (Ryan 2010).

Tavuk, ispinoz ve orman tavuklarında *Cryptosporidium* türlerine böbrekte de rastlanılmıştır. Nekropside böbreklerin büyümüş ve solgun olduğu, histopatolojik olarak üreter epitellerinde hiperplazi tespit edilmiştir (Sreter ve Varga 2000).

Kanatlı cryptosporidiosisinde teşhis, Genel Bilgilerde “Cryptosporidiosis de Teşhis” bölümünde verilen bilgilerle aynıdır. Ancak ookist morfolojisinde elipsoidal ookistler (7.5-8.5x6.0-6.4 μ) gastrik crptosporidiosis=*C.galli*, küresel, düzensiz küresel veya hafif uzun ookistler (4.5-6.0x4.2-5.3 μ) intestinal cryptosporidiosis= *C. meleagridis*, yumurta şeklinde ookistler (6.0-7.5x4.8-5.7 μ) ise solunum/bursal/kloakal cryptosporidiosis=*C. baileyi*'nin varsayımsal teşhisine işaret etmektedir (Current ve ark. 1986, Lindsay ve ark. 1989, Ryan 2010).

İnsan cryptosporidiosisinde *C. hominis* ve *C. parvum* en baskın türlerdir. İnsan cryptosporidiosisinde üçüncü sıklıkta rastlanan tür *C. meleagridis* olarak tespit edilmektedir (Xiao ve Feng 2008, Insulander ve ark. 2013). Bununla birlikte, kanatlılar memelilerle ilişkili olan *Cryptosporidium* türleri tarafından enfekte olmakta ve özellikle su kuşları *C. parvum* ve *C. hominis* gibi zoonotik türlerin ookistlerini mekanik olarak taşıyarak çevrenin kontaminasyonunu artırarak insan cryptosporidiosisinde epidemiyolojik zincirinde önemli rol oynamaktadırlar (Graczyk ve ark. 1998, Zhou ve ark. 2004, Graczyk ve ark. 2008, Plutzer ve Tomor 2009). Örneğin Almanya’da bir araştırmada kanatlılarda en yaygın olarak *C. parvum* türü bildirilmiştir (Anonim 2019b).

Cryptosporidiosis tedavisi için birçok ilaç test edilmiştir. Ancak, ABD gıda ve ilaç Dairesi (FDA) sadece insanlarda kullanılmak üzere nitazoksanidi onaylamıştır (Checkley ve ark. 2015). Halofuginon, değişken etkinlik göstermesine rağmen, hayvan cryptosporidiosis de korunma ve tedavi için hala etkili bir ilaç değildir (Nakamura ve Meireles 2015, Anonim, 2019b). Kanatlı cryptosporidiosisinde kullanılan bazı ilaçlar Tablo 5’te verilmiştir (Sreter ve Varga 2000, Fayer ve Xiao,

2008). Antikoksidiyallerin hiçbirisi *Cryptosporidium* spp.'ye etkili değildir. Çevresel strese ve kanatlı yetiştiriciliğinde kullanılan dezenfektanlara dirençli olan *Cryptosporidium* oositleri için besleme ve bakım koşullarının iyileştirilmesi gerekmektedir (Dikmen ve ark 2017).

Cryptosporidium ookstleri çevresel koşullara ve kanatlı tesislerinde yaygın olarak kullanılan dezanfektanlara karşı dirençlidir. Kanatlı cryptosporidiosis'in önlenmesi ve kontrolünde, ookistlere maruz kalmayı engellemek ile sağlık yöntemi ile ilgili sıkı tedbirlerin alınmasına bağlıdır. Ayrıca cryptosporidiosis'e eşlik eden hastalıkların profilaksisine dikkat etmekte oldukça önemlidir (Sreter ve Varga 2000, Nakamura ve Meireles 2015).

Tablo 5. Kanatlılarda kullanılan çeşitli antikriptosporidial ilaçların etkinlikleri (Sreter ve Varga 2000, Fayer ve Xiao 2008).

Hayvan/Tür	Yaş	İlaç	Dozaj Ve Tedavi Yöntemi	Etki
Tavuk (<i>C. baileyi</i>)	7 gün	Lasalocid Maduramicin Monensin Narasin Salinomycin Semduramicin	Tek veya antioksidan duokvin ile kombine edilen 1x veya 2x önerilen seviyede eklenen ilaçlar	- - - - -
Tavuk (<i>C. baileyi</i>)	1gün	Halofuginone Salinomycin Lasalocid Monensin	3mg/kg besleme 60mg/kg 75mg/kg 110mg/kg 5 gün önce enfeksiyon sonrası 20 gün boyunca besleme	- - - - -
Tavuk (<i>C. baileyi</i>)	6 gün	Garlic extract Diclazuril Toltrazuril	7 Ml/L 1 ppm 25ppm 125 ppm 250 ppm Tedaviler oral yolla 0-2 gün sonra uygulandı	+/-
Tavuk (<i>C. baileyi</i>)	6 gün	Enrofloxacin Paromomycin	50-100 mg/kg enfeksiyondan 1 gün sonra içme suyuna eklendi 333-666 mg/kg enfeksiyondan 1 gün sonra eklendi	+ +
Bıldırcın	4-6 gün	Oxytetracycline Neomycin Furazolidone	? ? ?	- - -
Hindi	7 haftalık	Amprolium Chlortetracycline	? ?	- -
Tavuskuşu	3-4 günlük	Oxytetracycline HCl	200 ppm suda uygulandı	-

+ = *C. parvum* ve *C. baileyi* için etkili - = *C. parvum* ve *C. baileyi* etkisiz

+/- = kısmen etkili

? = Veri yok

3. KAZLARDA CRYPTOSPORİDİOSİS

Evcil kazlarda cryptosporidiosis ile ilgili ilk rapor kalın bağırsak epitel mikrovilluslarında parazitin görülmesi ile bildirilmiştir (Proctor ve Kemp 1974). Daha sonra ölmüş bir kazın kloaka ve bursa Fabricius kazıntılarında *Cryptosporidium* oocistleri bulunmuştur (Palkovic ve Pecka 1989). *Cryptosporidium baileyi* oocistleri ile kazların deneysel enfeksiyonu sonucunda 2 günlük kazlarda bile bursa Fabricius'un epitel hücrelerinde çok sayıda endojen gelişim evreleri gözlenmiştir (Current ve ark. 1986). Doğal enfekte ördek ve kazlarda bursa Fabricius, kloaka ve bağırsaklara ek olarak konjunktiva, sinus infraorbitalis, trake ve akciğer kazıntılarında az sayıda *Cryptosporidium* oocistleri belirlenmiştir (Richter ve ark. 1994).

Kazlarda yapılan çalışmalarda; *C. baileyi*, *C. parvum*, *C. hominis* türleri ile siyah ördek genotipi, misk sığırcı genotip I ve kaz genotipleri (I-V) tespit edilmiştir (Grackyz ve ark. 1998, Morgan ve ark. 2001, Jellison ve ark. 2004, 2009, Zhou ve ark. 2004, Chavala ve ark. 2006, Nakamura ve Meireles, 2015). Laatanma ve ark. (2017) tarafından Cezayir'de yürütülen bir araştırmada yaban kazlarında *C. meleagridis* türü mikroskopi ve PZR yöntemi ile tespit edilmiştir.

Kazlarda cryptosporidiosis ile ilgili genel bilgiler "Kanatlılarda Cryptosporidiosis" kısmında verilmiştir. Bu bölümde sadece kazlarda *Cryptosporidium* ile ilgili çalışmalara yer verilecektir.

Avrupa'da kazlarda ve ördeklerde *Cryptosporidium* enfeksiyonlarının prevalansının %50-72 arasında değiştiği bildirilmiştir (Kozakiewicz ve Palkovic 1989, Richter ve ark. 1994). Yapılan bir araştırmada yaşları 8-63 gün arasında değişen 74 Danimarka kazının konjunktiva, sinus infraorbitalis, trake, akciğer, bağırsaklar, kloaka, bursa Fabricius ve böbrek dokularından alınan örnekler Ziehl-Nielsen Boyama ve İmmunfloresan yöntemle *Cryptosporidium* oocistleri yönünden

incelenmiştir. Pozitifliğin en yaygın olduğu sırasıyla bağırsaklar, bursa Fabricius ve solunum sistemi olarak belirlenmiştir. Kazlarda 8-35 günlük olanlarda *Cryptosporidium* pozitifliği tespit edilmiş, 35 günden büyük kazlarda pozitiflik görülmemiştir (Richter ve ark. 1994).

Özellikle Kanada kazlarının dışkıları ile kirlettikleri su kaynakları veya başka bir su kaynağına (özellikle eğlence amacıyla kullanılan göl vb. sular) taşıdıkları *Cryptosporidium* ookistlerinin halk sağlığını tehdit ettiği konusunda araştırmalar mevcuttur. Ancak kazlarda prevalans oranının düşük olması nedeniyle kazların pasif taşıyıcı olarak zoonotik bulaşmada küçük bir rol oynadıkları kabul görmektedir (Graczyk ve ark. 1998, Zhou ve ark. 2004, Graczyk ve ark. 2007, Novaes ve ark. 2018). Kanada kazlarının dışkılarında canlı *C. parvum* ookistlerinin tespit edilmesi (Graczyk ve ark. 1998), İngiltere’de hayvan dışkılarıyla (hangi hayvan olduğu belirtilmemiş?) kontamine içme suyu kaynaklı cryptosporidiosis salgınının bildirilmesi (Howe ve ark. 2002) özellikle Kanada kazlarının Amerika ve Kanada gibi ülkelerde göçleri esnasında çok sayıda genel kullanım alanını (park, göl, diğer su kaynakları vb.) dışkılarıyla kontamine ederek insan enfeksiyonları için potansiyel bir kaynak olabileceğini düşündürmüştür (Kassa ve ark. 2001, 2004). Bu nedenle Amerika’da 2000-2001 yılları arasında insanların genel kullanım alanındaki (park, mezarlıklar, golf sahaları, sağlık ve eğitim tesisleri gibi) yerlerde kaz dışkıları toplanarak Prospect Microplate Assay kiti kullanılarak *Cryptosporidium* antiijenleri yönünden incelenmiş ve dışkı toplanan bölgelerde %81,8-90 arasında pozitiflik bulunmuştur. Sonuç olarak kaz dışkılarının *Cryptosporidium* türleri yönünden insan sağlığını tehdit eden potansiyel bir kaynak olduğu belirtilmiştir (Kassa ve ark. 2004). Macaristan’da evcil ve yabani su kuşları üzerine yürütülen bir araştırmada, İndirekt Floresan antikor mikroskopisi, PZR ve LAMP yöntemi kullanılarak *Anser anser* ve *Anser anser f. domestica* ırkı kazlarda *Cryptosporidium baileyi* ve *Cryptosporidium* sp. tespit edilmiştir. Hem evcil hemde yabani su kuşlarında tespit edilmiş olan *Cryptosporidium* türlerinin insanlar için bulaşmada oynadığı rol dışında, evcil ve yabani kazların enfeksiyonu birbirlerine bulaştırmasının da muhtemel olduğu bildirilmiştir (Plutzer ve Tomor 2009).

Zhou ve ark. (2004), Amerika’da 209 yabancı Kanada kazından toplanan dışkı örneklerinin 49’unda *Cryptosporidium* spp. (%23,4) tespit etmişlerdir. Bu örneklerden 36 tanesinin kaz genotip I, 9 örneğin kaz genotip II, 35 örneğin ördek genotipi, 4 örneğin *Cryptosporidium parvum* ve 2 örneğin ise *C. hominis* olduğu belirlenmiştir. Yine Jellison ve ark. (2004) Kanada kazlarında yürüttükleri araştırmada 161 örneğin 11’inde nested PZR yöntemiyle *Cryptosporidium* pozitifliği tespit etmişlerdir.

Chavala ve ark (2006) tarafından yürütülen bir araştırmada; PZR tekniği ile *C. baileyi* ile doğal enfekte oldukları (klinik bulgular göstermeyen ve yetersiz histolojik reaksiyonların olduğu) belirlenen 16-36 günlük 20 kazın nekropsilerinde Hematoksilen-Eozin (HxE), Periodic Acid-Schiff (PAS), elektron mikroskopi ve in-situ hibridizasyon tekniği ile bursa Fabricius ve konjunktivada (diğer organlarda etken görülmemiştir) belirgin ölçüde pozitiflik belirlemişlerdir. Özellikle in-situ hibridizasyon tekniğinin doku kesitlerinde az sayıda *Cryptosporidium* etkenleri bulunduğu durumlarda, etkeni tanımlama ve tespitinde iyi bir metod olduğunu belirlemişlerdir.

Kanada kazlarında ELISA yöntemi kullanılarak yapılan bir araştırmada 89/199 (%44.7) *Cryptosporidium* seropozitifliği belirlenmiş olup, yetişkin kazlarda %49.1, gençlerde %51.9, gecekondü bölgelerinde %40.5, kentsel alanda ise %47.2 seropozitiflik tespit edilmiştir (Binkley 2015).

Brezilya’da birçok kanatlı türünde yürütülen bir çalışmada *Anser cygnoides* (kuğu kazı) ırkı bir kazda *C. baileyi* tespit edilmiştir (da Cunha ve ark. 2017).

Türkiye’de kazlarda *Cryptosporidium* türleri ile ilgili herhangi veri tespit edilmemiştir. Kanatlı hayvanlarda ise *Cryptosporidium* ile ilgili sınırlı sayıda araştırma mevcuttur. Bunlardan birinde etlik piliçlerin 21/61’inde (%34,7) oranında bursa Fabricius’ta *Cryptosporidium* ookistlerine rastlanılmış olup (Özkul ve ark, 1991), diğesinde ise 10 günlük bir güvercin yavrusunda ince bağırsaklarda *Cryptosporidium* ookistleri belirlenmiştir (Özkul ve Aydın, 1994). Yine İzmir’de

etlik piliçlerde 10/300 (%3,3) oranında *Cryptosporidium* ookistleri bulunmuştur (Erman 1998). Son olarak Van ilinde yabani kuşların (martı, güvercin, ördek, beç tavuğu ve şahin) dışkılarında modifiye asit fast boyama tekniği kullanılarak 37/127 (%29) oranında *Cryptosporidium* pozitifliği tespit edilmiştir (Kılınç ve ark, 2016).

4. MATERİYAL VE METOT

4.1. Materyal

4.1.1. Hayvan Materyali

Araştırmanın yapılabilmesi için gerekli olan hayvan materyali, Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan Kars ilindeki modern kaz çiftlikleri ile köylerde yetiştirilen geleneksel kaz işletmelerinde yetiştirilen 6 aylığa kadar olan kaz civciv ve palazlarından elde edilmiştir. Araştırmanın yapılabilmesi için gerekli olan izin Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK)'nce 17.12. 2015 tarih ve 2015/127 sayılı kararıyla alınmıştır.

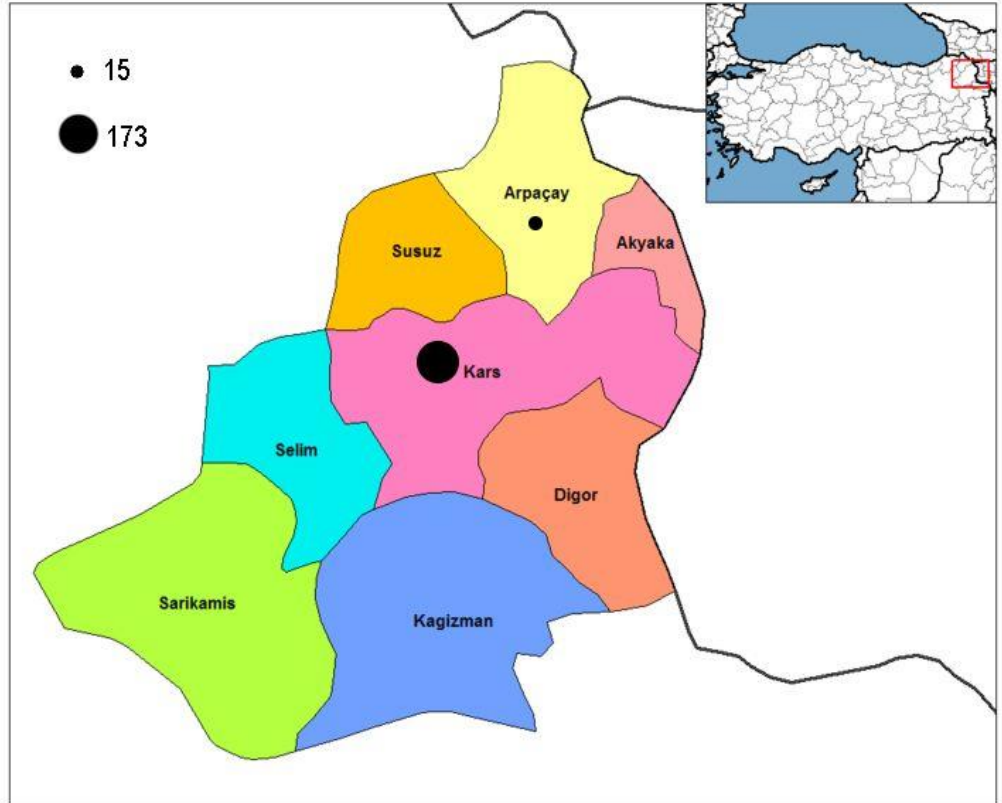
4.1.2. Dışkı Örnekleri

Araştırma materyalini oluşturan dışkı örnekleri; Mayıs-Aralık 2016 tarihleri arasında toplanmıştır. Dışkı örnekleri 0-1 aylık kaz civcivlerinden 81, 1-3 aylık kaz palazlarından 25, 3-4 aylık kazlardan 49, 5-6 aylık kazlardan 33 olmak üzere rastgele seçilen toplamda 188 adet kaz civciv, palaz ve erişkin kazın kloakasından sıvap yardımıyla taze olarak elde edilmiştir. Bu araştırma da kullanılan dışkı örnekleri Tablo 6'daki gibi gruplandırılmıştır.

Tablo 6. Araştırma da Kullanılan Dışkı Örneklerinin Gruplandırılması.

(0-1) aylık	(1-3) aylık	(3-4) aylık	(5-6) aylık	Toplam
81	25	49	33	188

Araştırma materyalini oluşturan dışkı örnekleri; Kars ilinin Merkez mahalleleri ve Merkez köylerinden farklı odaklardan (Subatan mahallesi, Sukapı mahallesi, Paşaçayır mahallesi, Dikme Köyü, Subatan Köyü, Karacaören Köyü, Mezra Köyü, Özel Veteriner Hekim Kliniklerine gelen hasta hayvanlardan) toplanan 173 örnek ile Arpaçay ilçesi Merkezinden toplanan 15 örnekten oluşmuştur. Bu çalışmada kullanılan dışkı örneklerinin toplandığı yerlerin detayları Resim 1 ve Tablo 7’de verilmiştir.

**Resim 1.** Kaz yavrularından alınan dışkı örneklerinin toplandığı yerlerin haritada görünümü.

Tablo 7. Kaz civciv, palaz ve erişkinlerinden alınan dışkı örneklerinin toplandığı yerler ve detayları.

Yaş (Ay)	Kullanılan Dışkı Örneklerinin Toplandığı Yerler ve Detayları									
	Merkez Mahalleler				Merkez Köyler				Arpaçay İlçesi	Toplam Dışkı Örneği Sayısı
	<i>Merkez</i>	<i>Paşaçayı</i>	<i>Subatan</i>	<i>Sukapı</i>	<i>Dikme</i>	<i>Karacaören</i>	<i>Mezra</i>	<i>Subatan</i>		
0-1	5	5	18	-	21	19	8	-	15	81
1-3	4	13	1	-	5	1	1	-	-	25
3-4	23	10	-	-	-	-	-	16	-	49
5-6	1	5	-	5	-	-	12	10	-	33
Yerleşim Yerlerine Göre Toplanan Örnek Sayıları	33	33	19	5	26	20	21	26	15	188

Çalışma için alınan dışkı örnekleri sıvap yardımı ile kazların kloakalarından alınarak tek kullanımlık poşetlere konulup (Resim 2), karbol fuksin boyama yöntemi için +4 C° de muhafaza edilmiş ve genellikle aynı gün incelenmiş ve ELISA testinde kullanılmak üzere – 20 C° de dondurularak saklanmıştır.



Resim 2. Kazlardan dışkı örneklerinin alınması.

4.2. Metot

4.2.1. Karbol-fuksin Boyama Metodu

4.2.1.2. Boyama Yöntemi

Kaz civciv, palaz ve erişkinlerinden toplanan dışkı örnekleri laboratuarda bir dışkı kabına alınmış ve baget yardımı ile iyice ezilmiştir. Ezilen dışkının üzerine 1-2 ml distile su damlatılarak dışkının tamamen homojenize olması sağlanmış ve başka bir dışkı kabına 150 µm gözenekli süzgeçlerden süzölmüş ve buradan 15 ml'lik santrifüj tüplerine alınmıştır. Bu örnekler 2000 rpm devirde 3 dakika süre ile santrifüj edilerek sedimentasyonu yapılmıştır. Santrifüj sonrası üst kısım dökölerek, dipteki

pellet vorteks ile iyice karıştırılmıştır. Bu karışımdan bir lamın üzerine 1 damla alınıp üzerine de 1 damla karbol fuksin boyası dökülmüş ve baget yardımıyla lam üzerine yayılarak elde edilen yayma preparatların yaklaşık 1-2 dakika içinde kuruması beklenmiştir. Hazırlanan yayma preparatlar mikroskopta üzerine immersiyon yağı damlatılıp 40'lık objektifte incelenmiştir.

4.2.2. ELISA Metodu (Enzim Linked Immunosorbent Assay)

Santrifüj sonrası santrifüj tüplerinde kalan peletler 2ml'lik mikrosantrifüj tüplerine alınarak -20 C° de mikroplate ELISA da kullanılmak üzere saklanmıştır. 188 örnek ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay (*ThermoFisher Scientific*, Remel products) ile üretici firmanın önerdiği şekilde *Cryptosporidium* koproantijenleri yönünden incelenmiştir. Hazırlanan mikropleytlar ELISA okuyucusunda (Spectramax 384 plus) 450 nm boyunda okutulmuştur.

4.2.2.1. ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay (*ThermoFisher Scientific*, Remel) Test Kiti

4.2.2.1.1. Testin Kullanım Amacı ve Prensibi

ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay Test Kiti (Resim 3 ve 4), dışkı örneklerinin sulu ekstraktlarında *Cryptosporidium* türlerine özgü spesifik (CSA) antijenlerin tespiti için monoklonal antikolar kullanmaktadır. Bu antijenler (CSA) oldukça spesifik olup diğer enterik patojenlere karşı çarpaz reaksiyon tespit edilmemiştir.

ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay, *Cryptosporidium* özgü antijenlerin tespiti için kullanılan katı fazlı bir immunoassay testidir. Sulandırılmış ve seyreltilmiş dışkı örnekleri, anti-*Cryptosporidium* spesifik antijenlerinin (CSA)

antikoruна bağlandığı mikropleyt kuyucuklarına eklenir. CSA mevcutsa, bağlı antikor tarafından "yakalanır". Kuyucuklar inkübe edilir ve daha sonra bağlanmamış materyali çıkarmak için yıkanır. Enzim konjugatı (yaban turpu peroksidaz enzimi ile etiketlenmiş monoklonal anti-CSA antikorunu) eklenir. Kuyucuklar inkübe edilir ve daha sonra bağlanmamış enzim konjugatını uzaklaştırmak için yıkanır. Pozitif bir reaksiyonda, CSA enzim konjugatını kuyucuğa bağlar. Enzim için substrat, 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidin (TMB) eklenir. Pozitif bir reaksiyonda, CSA tarafından kuyucuğa bağlanan enzim, substratı renkli bir reaksiyon ürününe dönüştürür. Renk gelişimi görsel veya spektrofotometrik olarak tespit edilebilir. Negatif bir reaksiyonda, enzim konjugatını bağlamak için hiçbir CSA yoktur veya yetersiz CSA seviyesi olduğundan renkli reaksiyon ürünü gelişmez.

4.2.2.1.2. Test Kitinin İçeriği

Mikropleyt: 1 adet 96 kuyucuklu mikropleyt. Tavşan anti-CSA antikorları ile kaplanmıştıdır. Kullanılmayan mikropleytlar nem içermeyen folyolarda saklanmalıdır.

Conjugate (Enzim konjugat): Sığır serum ve antimikrobiyal ajanlar ile yaban turpu ile işaretlenmiş fare monoklonal anti-CSA içeren 5 veya 25 ml'lik damlalıklı şişede bulunmaktadır.

Pozitif Kontrol: Antimikrobiyal ajanlar içeren tamponlanmış bir çözelti içerisinde *Cryptosporidium* ookist ekstraktı da bulunan 4ml'lik damlalıklı şişede bulunur.

Negatif Kontrol: 4 ml'lik damlalıklı şişe içerisinde antimikrobiyal ajanlar ile kırmızı boya ile tamponlanmış solüsyondur.

Numune Seyreltme Tamponu: Antimikrobiyal ajanlar, kırmızı boya ve tavşan serumu ile tamponlanmış 35 veya 120 ml'lik solüsyon içeren şişededir.

Yıkama Tamponu: 50 ml'lik veya 120 ml'lik şişelerde antimikrobiyal ajanlar içeren konsantre tamponlanmış çözeltilerdir. Seyreltik yıkama solüsyonu hazırlamak için 1 kısım yıkama tamponu alınır, 9 kısım distile veya deiyonize su

ilave edilerek hazırlanır. Seyreltilmiş yıkama solüsyonu 2-8 °C 'de saklırsa 1 ay içerisinde kullanılabilir.

TMB substrat (Renkli substrat): 12 ml veya 25 ml'lik şişede 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) içeren tamponlanmış solüsyon.

Stop solüsyonu (Durdurma Solüsyonu): 0,46 mol/Sülfürik asit içeren 12 ml'lik damlalıklı şişe.



Resim 3-4. ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay (ThermoFisher Scientific, Remel) Test Kiti ve İçeriği.

4.2.2.1.3. Örneklerin Hazırlanması

ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay test kitinde kullanılan dışkı örneklerinin temiz ve sızdırmayan kaplar içinde saklanması gerekmektedir. Taze dışkı örnekleri 2-8 °C de saklanarak 48 saat içerisinde test edilmelidir. Dondurulmuş örnekler (-20-70 °C), %10 formol gibi fiksatiflerde muhafaza edilen örnekler daha sonra (2-3 ay) test edilebilir. Bu çalışmada dondurulmuş (-20 C°) örnek kullanılmış olup, mikrolept kuyucuklarına konulmadan önce dışkı örnekleri 2-8 C° de 8 saat boyunca bekletilip seyreltilerek kullanılmıştır. Teste başlamadan önce 2ml'lik

ependorf tüplerinde bulunan dışkı örnekleri vorteks yardımıyla iyice homojenize edilmiştir.

4.2.2.1.4. Testin Yapılışı

1. Etiketlenerek üzerinde bilgileri bulunan ve içerisinde her bir kaz için ayrı dışkı örneği bulunan 188 ependorf tüpü 2 adet tüp sporunda sıralandı.

2. Her bir ependorf tüpüne 1 ml örnek dilüsyon solüsyonu eklenmiştir. Vorteks yardımıyla karıştırılmıştır.

3. Her ependorf tüpüne 0,3 ml örnek dilüsyon solüsyonu tekrar eklendi ve seyreltilmiş bu örnekler oda sıcaklığında 8 saat bekletildi.

4. Mikropleytlar muhafaza edildiği folyodan çıkartılarak A1 (sol üstteki ilk kuyucuk) kuyucuğuna 4 damla negatif kontrol, A2 kuyucuğuna (Sol üstten 2. kuyucuk) ise 4 damla pozitif kontrol eklendi.

5. Her bir ependorf tüpündeki örnekler karıştırıldıktan sonra 0,2 ml seyreltilmiş örnekler mikropletteki diğer kuyucuklara farklı transfer pipetleri kullanılarak aktarıldı.

6. Son dışkı örneğininde kuyucuğa konulmasından sonra mikropleytlar üzerleri örtülerek oda sıcaklığında (20-25 °C) 60 dakika inkübasyon için bekletildi.

7. İnkübasyondan sonra mikropleytların kuyucukları sallanarak aspire edildi. Her kuyucuğa yaklaşık 350-400 µL seyreltilmiş yıkama solüsyonu pipetle doldurularak 3 kez yıkama yapıldı. Son yıkama solüsyonu kullanıldıktan sonra kağıt havlu üzerine mikropleyt birkaç kez vurularak işlem tamamlandı.

8. Mikropleytların her bir kuyucuğuna 4 damla (200 µL) enzim konjugat ilave edildi.

9. Mikropleytların üzeri örtülerek oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakıldı.

10. İnkübasyondan sonra mikropleyitin kuyucukları sallanarak aspire edildi. Her kuyucuğa yaklaşık 350-400 μL seyreltilmiş yıkama solüsyonu pipetle doldurularak 5 kez yıkama yapıldı.

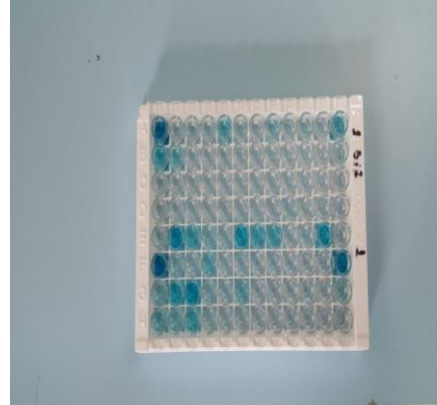
11. Mikropleyitin her bir kuyucuğuna 4 damla (200 μL) renkli substrat ilave edildi.

12. Mikropleyitin üzeri örtülerek oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakıldı.

13. İnkübasyondan sonra mikropleyitin her bir kuyucuğuna 1 damla (50 μL) durdurma solüsyonu ilave edildi. Pozitif kuyucuklarda sarı renk uniform oluncaya kadar vortekslenir.

14. Durdurma solüsyonu ilave edildikten 10 dakika sonra reaksiyon tamamen gerçekleşti ve okuma yapıldı.

15. Görsel veya spektrofotometrik olarak 450 nm'de (tekli dalga boyu) veya 450/620 nm (çift dalga boyu) ile 650 nm de okutularak sonuçlar elde edildi.



Resim 5-6-7. ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay (ThermoFisher Scientific, Remel) Test Kitinin Uygulanması.

4.2.2.1.5. Sonuçların Değerlendirilmesi

Sonuçlar görsel ve spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Görsel olarak; mikropleyitin kuyucuklarında en az 1+ yoğunluğa sahip sarı renk gelişmişse dışkı örneğinin *Cryptosporidium* spesifik antijeni (CSA) içerdiği kabul edilerek pozitif sonuç olarak değerlendirildi. Mikropleyit kuyucuklarında renksiz bir reaksiyonun görülmesi dışkı örneğinde CSA olmadığını veya saptanamayan bir CSA düzeyinde olduğunu gösterdiğinden negatif sonuç olarak değerlendirildi.

Hazırlanan mikropleyitler ELISA okuyucusunda (Spectramax 384 plus) 450 nm boyunda okutulmuştur. Spektrofotometrik olarak; optik yoğunluk değeri

(O.D.) 0.050'ye eşit ve fazla olan örnekler CSA içermesi nedeniyle pozitif, optik yoğunluk değeri 0.050'den az olan kuyucuklardaki dışkı örnekleri CSA içermemesi veya tespit edilecek düzeyde olmaması nedeniyle negatif olarak kabul edildi.

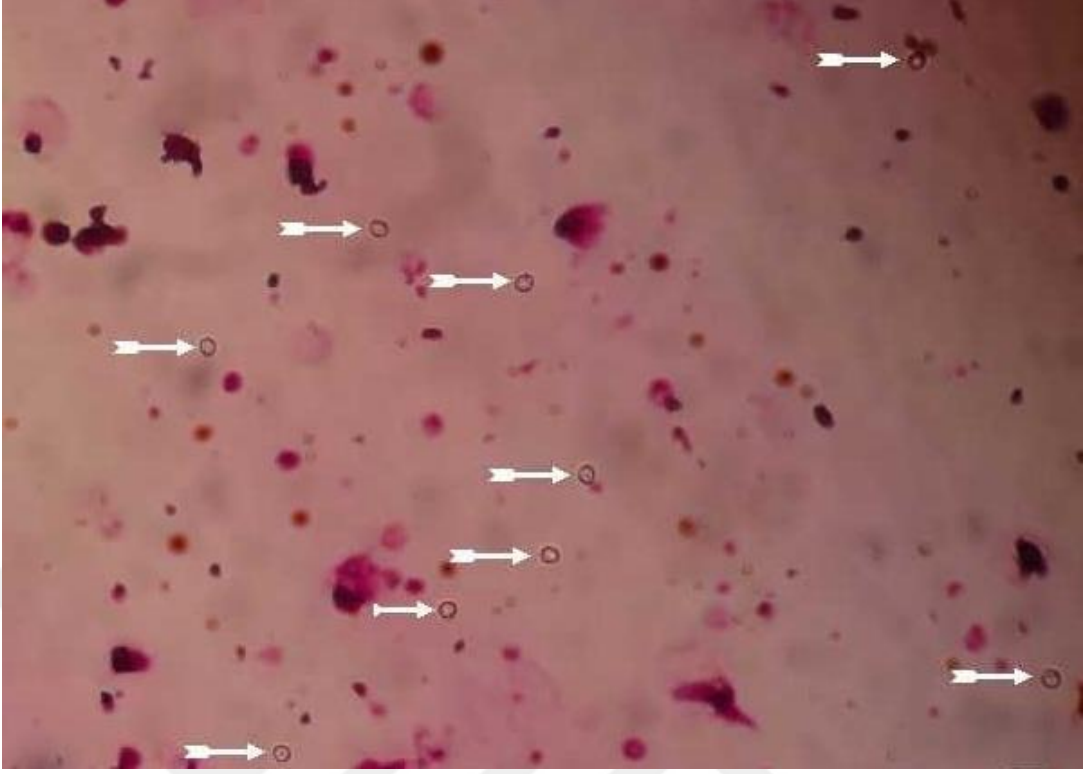
5. BULGULAR

5.1. Karbol Fuksin Boyama Yöntemi Sonuçları

Kazlardan alınan dışkı örneklerinin karbol fuksin boyama yöntemine göre *Cryptosporidium* pozitifliği sonuçları Tablo 8'de ve tespit edilen *Cryptosporidium* oookistleri ise Resim 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Karbol Fuksin Boyama Yöntemi ne göre kazlarda *Cryptosporidium* pozitifliği.

Örnek Alınan Kazların Yaşları (Ay)	İncelenen Dışkı Örneği	Pozitif Örnek Sayısı	Negatif Örnek Sayısı	Yüzdellik Oranı
(0-1)	81	3	78	3,7
(1-3)	25	1	24	4
(3-4)	49	2	47	4,08
(5-6)	33	1	32	3,03
TOPLAM	188	7	172	3,72



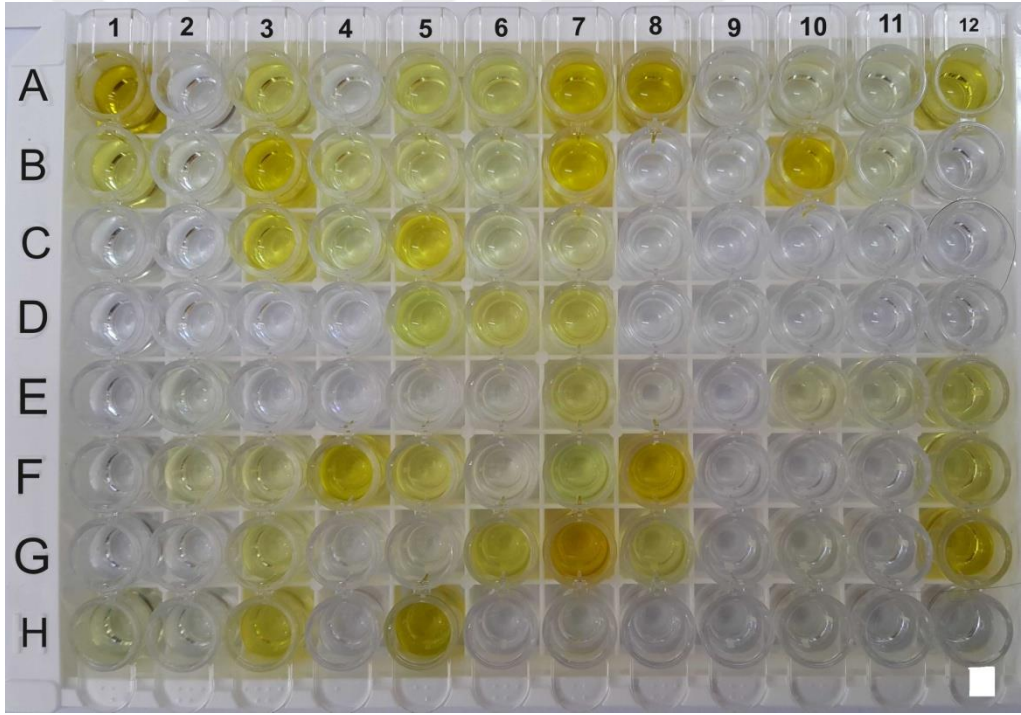
Resim 8. Karbol Fuksin boyama yönteminde görülen *Cryptosporidium* spp. ookistleri (x 40, oklar).

5.2. ELISA Kiti (ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay (ThermoFisher Scientific, Remel products) ile Yapılan Test Sonuçları

Kazlardan alınan dışkı örneklerine uygulanan ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay (ThermoFisher Scientific, Remel products) Test kiti yöntemine göre *Cryptosporidium* pozitifliği sonuçları Tablo 9’da ve pozitif ve negatif örneklerin görünümü ise Resim 9’da gösterilmiştir.

Tablo 9. ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay (ThermoFisher Scientific, Remel products)
Test kiti yöntemine göre *Cryptosporidium* pozitifliği sonuçları.

Örnek Alınan Kazların Yaşları (Ay)	İncelenen Dışkı Örneği	Pozitif Örnek Sayısı	Negatif Örnek Sayısı	Yüzdelik Oranı
(0-1)	81	16	65	19,75
(1-3)	25	7	18	28
(3-4)	49	25	24	51,02
(5-6)	33	24	9	72,7
TOPLAM	188	72	116	38,29



Resim 9. ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay (ThermoFisher Scientific, Remel products)
Test kiti yönteminde pozitif ve negatif sonuçların görünümü. A1: Pozitif kontrol A2: Negatif Kontrol
A7, A8, B10,: Pozitif Sonuçlar. A4, C1, D1,: Negatif Sonuçlar

5.3. Karbol Fuksin Boyama Yöntemi İle Elisa Kiti Test Sonuçlarının Karşılaştırılması

Kazlar arasında *Cryptosporidium* türlerinin görülme sıklığı, karbol fuksin boyamasıyla %3,72 (7/188) ve ELİSA kiti ile %38,2 (72/188) olarak belirlendi. Karbol Fuksin boyama yöntemi ile mikroskobide *Cryptosporidium* oookistlerinin görülme oranı sırasıyla 0-1 aylık kazlarda %3,7, 1-3 aylık kazlarda %4, 3-4 aylık kazlarda 4,08, 5-6 aylık kazlarda ise %3,03 olarak tespit edilirken, *Cryptosporidium* antijenlerinin dışkıda görülme oranı ise, sırasıyla 0-1 ay, 1-3 ay, 3-4 ay ve 5-6 ay yaşları arasındaki kazlarda % 19,75, % 28, % 51,02 ve % 72,72 olarak tespit edildi. Yaş grupları açısından karbol fuksin boyama yöntemi (mikroskobi) sonuçları ile ELISA sonuçları ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan önemli bulunmuştur (P<0.001).

Kars yöresinde 0-6 aylık kazlarda karbol fuksin boyama yöntemi ve ELISA kiti (ProSpecT *Cryptosporidium* Microplate Assay (*ThermoFisher Scientific*, Remel products) ile elde edilen *Cryptosporidium* pozitifliği sonuçlarının karşılaştırması Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Karbol fuksin boyama yöntemi ile mikroskobi ve ELİSA kiti yöntemi ile *Cryptosporidium* pozitiflik sonuçları.

YAŞ/Ay	Örnek Sayısı	Karbol Fuksin Boyama (%)	ELISA (%)	P değeri
0-1	81	3/81 (%3.7)	16/81 (%19,75)	0,002
1-2	25	1/25 (%4)	7/25 (%28)	0,022
3-4	49	2/49 (%4.08)	25/49 (%51.02)	0,000
5-6	33	1/33 (%3.03)	24/33 (%72.72)	0,000
Toplam	188	7/188 (%3.72)	72/188 (%38.29)	0,000

Karbol fuksin boyama yöntemine göre yapılan mikroskopik inceleme sonuçlarının yerleşim yerine göre değerlendirilmesi yapıldığında; 0-1 aylık kazlarda Subatan mahallesinde 2/18 (%11,11), Karacaören köyünde 1/19 (%5,26), 1-3 aylık kazlarda Dikme köyünde 1/5 (%20), 3-4 aylık kazlarda Paşaçayırı mahallesinde 2/10 (%20) ve 5-6 aylık kazlarda Sukapı mahallesinde 1/5 (%20) oranında *Cryptosporidium* ookistleri tespit edildi. Mikroskopide pozitif bulunan dışkı örneklerinin tamamı ELISA yöntemi ile de pozitif bulundu. Kaz civciv, palaz ve erişkinlerden alınan dışkı örneklerinde yerleşim yerlerine göre ELISA kiti ile belirlenen pozitiflik oranları Tablo 11’de verilmiştir.



Tablo 11. Kaz civciv, palaz ve erişkinlerden alınan dışkı örneklerinde yerleşim yerlerine göre ELİSA kiti ile belirlenen pozitiflik oranları (%).

Yaş (Ay)	Kullanılan Dışkı Örneklerinin Toplandığı Yerler ve Detayları									
	Merkez Mahalleler				Merkez Köyler				Arpaçay İlçesi	Toplam Pozitiflik Oranı
	Merkez	Paşacayı	Subatan	Sukapı	Dikme	Karacaören	Mezra	Subatan		
0-1	5	2/5 (%40)	3/18 (%16.7)	-	11	10/19 (%52.6)	8	-	1/15 (%6.7)	16/81 (%19.75)
1-3	4	5/13 (%38.5)	1	-	1/5 (%20)	1/1 (%100)	1	-	-	7/25 (%28)
3-4	8/23 (%34.8)	7/10 (%70)	-	-	-	-	-	10/16 (%62.5)	-	25/49 (%51.02)
5-6	1	5/5 (%100)	-	4/5 (%80)	-	-	8/12 (66.7)	7/10 (%70)	-	33
Yerleşim Yerlerine Göre Toplam Pozitiflik Oranı	8/33 (%24.2)	19/33 (%57.6)	3/19 (%15.8)	4/5 (%80)	1/16 (%6.3)	11/20 (%55)	8/21 (38.1)	17/26 (%65.4)	1/15 (%6.7)	72/188 (%38.3)

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Cryptosporidium enfeksiyonları; su ile bulaşan yaygın protozoonlardan biri olmasından ötürü salgınlara neden olabilmesi, zoonotik özelliği, fekal oral yolla bulaşması, immun sistemi baskılanmış canlılarda (özellikle AIDS hastalarında) oldukça patojen olması nedeniyle son 30-40 yılda giderek önemi artan hastalıklar içerisinde yer almaktadır. Bu sebepten ötürüde bu protozoon konusunda son yıllarda giderek artan düzeyde araştırmalar yapılmaktadır.

Enfekte insan veya hayvanlarda protozoonu teşhis edebilmek amacıyla rutin dışkı muayenleri (boyama yöntemleri), ELISA, IFAT gibi serolojik testler ile moleküler yöntemler (PZR), enfekte dokuların biyopsisi ile histopatolojik incelemeler gibi tekniklerden faydalanabileceği bildirilmiştir.

Cryptosporidiosis'in teşhisinde değişik teknikler kullanılsa da rutinde uygun maliyeti, hızlı sonuç vermesi, sonuçlarının duyarlılık ve özgüllük açısından kabul edilebilir düzeyde olmasından dolayı dışkı örneklerinin incelenmesinin en ideal yöntemin olduğu düşünülmektedir (Sungur ve ark. 2008, AL-Megrin 2015). Cryptosporidiosis teşhisinde birçok boyama yöntemi olmasına rağmen tanı konusunda yeterince kullanışlı olmadığı bildirilmiş olup, karbol fuksin boyama tekniğini kullanan kişinin deneyimli olması ile avantaj sağlayabileceği ve genellikle bütün mikroskobik tanı yöntemlerinde olduğu gibi dışkı içerisinde belirli miktardan az olan etken var ise teşhis konusunda düşük duyarlılığa sahip olabileceği bildirilmiştir.

Bu araştırma ile, rutin muayenede sıklıkla kullanılan karbol fuksin boyama ve dışkıda koproantijenlerin saptandığı ELISA testi kullanılarak, kazlarda zoonotik ve ekonomik açıdan önemli olabilecek *Cryptosporidium* enfeksiyonlarının karşılaştırmalı olarak tespit edilmesi amaçlanmıştır. Sonuç olarak bu araştırmada kazlardaki *Cryptosporidium* varlığı karbol fuksin boyama ile %3,72 (7/188), ELISA kiti ile % 38,2 oranında bulunmuştur ve iki yöntem arasındaki farklılık istatistik

açından önemli bulunmuştur ($P<0.001$). ELISA'nın aksine; karbol fuksin boyama yöntemi ile mikroskopik incelemenin *Cryptosporidium* ookistlerinin tespitinde daha az etkili olduğu görülmüştür. Bu çalışmada bulunan sonuçlar ile daha önce yapılan çalışmalarda da (Qilez ve ark. 1996) bulunan sonuçların benzer olduğu dikkati çekmektedir. Diğer taraftan dışkı örneğinde düşük düzeyde antijen bulunduğu durumlarda ELISA yöntemine göre boyama yöntemlerinin daha duyarlı olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur (Johnson ve ark. 2003, Mirhashemi ve ark. 2015).

Sungur ve ark. (2008) tarafından yürütülen bir araştırmada, ishalleri 18 çocuk ve 27 ishalleri buzağı dışkısını (toplam 45 örnekte), Karbol Fuksin Boyama ve nested PZR yöntemleri ile incelenmiştir. Karbol fuksin boyamada buzağılarda %11,2, çocuklarda ise %5,6 *Cryptosporidium* spp. ookistlerine rastlanmıştır. Nested PZR ile buzağılarda %29,7, çocuklarda ise %5,6 oranında *Cryptosporidium* spp. spesifik amplifikasyonu gösteren bantlar elde etmişlerdir. Bu çalışma sonucunda; karbol fuksin boyama yönteminin nested PZR yöntemine göre; tanı açısından özgül (%100) olduğunu ancak duyarlılık açısından (%44) yetersiz kaldığını tespit etmişler ayrıca nested PZR yönteminin kuşku ishal olgularında cryptosporidiosis tanısı için uygun bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

Kazlarda *Cryptosporidium* spp. ookistlerinin prevalansı Avrupa'dan %50-72 (Sreter and Varga 2000), Amerika'dan ise %6,8-77,8 oranında bildirilmiştir (Jellison et al. 2004, Zhou et al. 2004, Chvala et al. 2006, Ryan 2010). Zhou ve ark. (2004) yılında Ohio ve Illinois eyaletlerinde 13 bölgede bulunan 209 yabancı Kanada kazından toplanan dışkı örneklerinin 49'unda *Cryptosporidium* spp. tespit etmişlerdir. Jellison ve ark. (2004) yılında Kanada kazlarında yürüttükleri araştırmada 161 örneğin 11'inde nested PZR yöntemiyle cryptosporidium pozitifliği tespit etmişlerdir.

Bu çalışma ile Kars ve Türkiye'de yerli kazlarda *Cryptosporidium* türlerinin varlığı ilk kez bildirilmektedir. Bu araştırmanın sonuçları Kars bölgesinde yapılan önceki çalışmaların sonuçları ile karşılaştırıldığında (Arslan ve ark. 2001, Sarı ve

ark. 2009), pozitiflik oranının hem boyama yöntemlerinde hem de ELISA'da daha düşük olduğu görülmektedir. Bu sonuç, önceki çalışmaların semptomatik hayvanlarda veya daha yüksek risk grubu taşıyan hayvanlarda *Cryptosporidium* prevalansının araştırılmasından kaynaklandığını düşündürmektedir. Bununla birlikte, kazlarda *Cryptosporidium* türlerini tanımlamak ve kontaminasyon kaynağındaki genotipleri belirlemek için daha kapsamlı ve detaylı moleküler çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Çalışmamızda 0-1 aylık kazlardan alınan dışkı örneklerinin ELISA ile %19,75'inin, 1-3 aylık kazların %28'inin, 3-4 aylık kazların % 51,02'sinin ve 5-6 aylık kazların da % 72,7'sinin cryptosporidiosis yönünden pozitif belirlenmiş olması kazlarda yaşın arttıkça *Cryptosporidium* spesifik antijenlerinin dışkıda daha çok görüldüğü üzerine epidemiyolojik veriler sağlamış olsa da bu durumun daha ayrıntılı çalışmalar yapılarak desteklenmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak, Türkiye'de kazlarda *Cryptosporidium* türlerinin ilk kez belirlendiği bu çalışmanın bulgularına dayanarak; birkaç farklı mikroskopik boyama yönteminin bir arada kullanılması (karbol fuksin boyama, modifiye asit fast boyamalar gibi) veya ELISA testlerinin de *Cryptosporidium* tanısı için uygulanması önerilmektedir. Ayrıca daha duyarlı ve özgüllüğü yüksek olan moleküler tekniklerden de (PZR, Nested PZR) faydalanılabilir.

7. KAYNAKLAR

Acha PN, Szyfres B: Giardiosis. Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals, Second Edition, Pan American Health Org. Washington, USA, p. 612-615, 1989.

Ak M: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). İçinde: Özcel MA, Altıntaş N (Eds): Parazit Hastalıklarında Tanı, p. 241–259, Türkiye Parazitol Dern Yay No: 15, İzmir, 1997.

AL-Megrin WAI: Comparison of ELISA and Microscopy for detection of *Cryptosporidium* Oocysts in Animals. Pakistan Journal of Biological Sciences: 18(7): 341-345, 2015

Alvarez-Pellitero P, Quiroga MI, Sitja-Bobadilla A, Redondo MJ, Palenzuela O, Padros F, Vazquez S, Nieto JM: *Cryptosporidium scophthalmi* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from cultured turbot *Scophthalmus maximus*. Light and electron microscope description and histopathological study. Diseases of Aquatic Organisms, 62: 133–145, 2004.

Anonim: <http://online.fliphtml5.com/pfug/ebtp/>, Cryptosporidiosis. In: OIE Terrestrial Manual, p. 1192-1215. Erişim: 15.04.2019a.

Anonim: Cryptosporidiosis. [www.cfsph.iastate.edu.](http://www.cfsph.iastate.edu/), p. 1-9. Erişim: 15.04.2019b.

Antunes RG, Simones DC, Nakamura AA, Meireles MV: Natural infection with *Cryptosporidium galli* in canaries (*Serinus canaria*), in a cockatiel (*Nymphicus hollandicus*) and in lesser seed-finches (*Oryzoborus angolensis*) from Brazil. Avian Dis, 52: 702–705, 2008.

Arslan MÖ, Gıcık Y, Erdoğan HM, Sarı B: Prevalence of *Cryptosporidium* spp. oocysts in diarrhoeic calves in Kars Province, Turkey. Turk J Vet Anim Sci: 25.;161-164, 2001.

Barta JR, Thompson RCA: What is *Cryptosporidium*? – Time to reappraise its biology, taxonomy and phylogenetic affinities. Trends in Parasitology, 22, 463–468, 2006.

Berger SA: Human Parasitic Diseases Sourcebook. Jones and Bartlett Publishers, p. 116-121, 2006.

Bermudez AJ, Ley DH, Levy MG: Intestinal and bursal Cryptosporidiosis in Turkey's following inoculation with *Cryptosporidium* spp. isolated from commercial poultry. Avian Dis: 32(3): 445-450, 1984.

Betancourt WQ, Peele ER, Rose JB: *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetonensis*, a review of laboratory methods for detection of these waterborne parasites. J Microbiol Methods: 49, 209-224, 2002.

Binkley LE: Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Salmonella* and cephalosporin-resistant *E.coli* strains in Canada geese urban ve peri-urban sites in Central Ohio. Thesis. Graduate program in environment and Natural Resources. Ohio State University, 2015.

Blagburn BL, Lindsay DS, Hoerr FJ, Davis JF, Giambrone JJ. Pathobiology of cryptosporidiosis (*C. baileyi*) in broiler chickens. J Protozool: 38(6): 25S-28S, 1991.

Boch JV, Göbel JH, Brandler U, Schloemer L: Cryptosporidien Infektion bei Haustieren. Berl. Münch. Tierarztl. Wschr. 95:361-367, 1982.

Bogan JE: Disinfection techniques for *Cryptosporidium*. Dairy and Vet Sci J: 7(4): 555718, 2018.

Bougiouklis PA, Weissenböck H, Wells A, Miller WA, Palmieri C, Shivaprasad HL. Otitis media associated with *Cryptosporidium baileyi* in a Saker falcon (*Falco cherrug*). J Comp Pathol: 148(4): 419-423, 2013.

Burgu A: Türkiye’de buzağılarda *Cryptosporidium*’ların bulunuşu ile ilgili ilk çalışmalar. Ankara Üniv Vet Fak Derg: 31(3): 573-585, 1984.

Cama VA, Bern C, Sulaiman IM, Gilman RH, Ticona E, Vivar A, Kawai V, Vargas D, Zhou L, Xiao LH: *Cryptosporidium* species and genotypes in HIV-positive patients in Lima, Peru. J Eukaryot Microbiol: 50:531–533, 2003.

Carey CM, Lee H, Trevors JT: Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. Water Res: 38, 818–862, 2004.

Chappell CL, Okhuysen PC, Langer-Curry R, Widmer G, Akiyoshi DE, Tanriverdi S, Tzipori S, 2006. *Cryptosporidium hominis*: experimental challenge of healthy adults. Am J Trop Med Hyg: 75: 851-857, 2006.

Casemore DP: Laboratory methods for *Cryptosporidiosis*. J. Clin. Pathol: 44: 1321-1326, 1991.

Casemore DP, Sands RL, Curry A: *Cryptosporidium* species a new human pathojen. J Clin Pathol: 38: 1321-1326, 1985.

Castro-Hermida JA, Gonzalez-Losada YA, Ares-Mazas E: Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NW Spain). Vet Parasitol: 106: 1-10, 2002.

Chacin-Banilla L, DeYoung MM, Cano G, Guanipa N, Estevez J, Banilla E: *Cryptosporidium* infection in suburban community in Maracaibo, Venezuela. *Am J Trop Med Hyg*: 49(1): 63-67, 1993.

Checkley W, White AC, Jaganath D, Arrowood MJ, Chalmers RM, Chen XM, Fayer R, Griffiths JK, Guerrant RL, Hedstrom L, Huston CD: A review of the global burden, novel diagnostics, therapeutics, and vaccine targets for *Cryptosporidium*. *Lancet Infect Dis*: 15(1): 85-94, 2015.

Chvala S, Fragner K, Hackl R, Hess M, Weissenböck H: *Cryptosporidium* infection in domestic geese (*Anser anser f. domestica*) detected by in-situ hybridization. *J Comp Pathol*: 134(2-3): 211-218, 2006.

Chen Y, Yao F, Li H, Shi W, Dai M, Lu M: *Cryptosporidium* infection and diarrhea in rural and urban areas of Jiangsu, people's republic of China. *J Clin Microbiol*: 30(2): 492-494, 1992.

Crawford FG, Vermund SH: Human Cryptosporidiosis. *CRC Crit. Rev. Microbiol*. 16: 113-159, 1988.

Current WL, Upton SJ, Haynes TB: The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* n. sp. (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting chickens. *J Protozool*: 33(2): 289-296, 1986.

Çetinkaya F: *Cryptosporidium parvum*'un Bulaşmasında Su ve Gıdaların Rolü. Uludağ Üniversitesi Vet Fak Der: 23(1-2-3): 103-109, 2004.

da Cunha MJR, Cury MC, Santín M: Molecular identification of *Enterocytozoon bieneusi*, *Cryptosporidium*, and *Giardia* in Brazilian captive birds. *Parasitology Research*: 116(2): 487-493, 2017.

Darabus G, Olariu R: The homologous and interspecies transmission of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium meleagridis*. *Pol J Vet Sci*: 6(3): 225-228, 2003.

De Graaf DC, Vanopdenbosch E, Ortega-Mora LM, Abbasi H, Peeters JE. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *Int J Parasitol* 1999;29(8):1269-87.

Dikmen BY, Filazi A, Kuzukıran Ö: Kanatlılarda Antiparaziter İlaç Kullanımı. Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics: 3(3):196-201, 2017.

Doğruman-Al F: Türkiye'deki Klinik Önemi Olan Paraziter Enfeksiyonlarda Tanısal Yaklaşım. İçinde: Korkmaz, M., Ok ÜZ (Eds.): Parazitolojide Labaratuvar, Türkiye Parazitoloji Derneği, Yayın No: 23, 2011.

Dubey JP, Speer CA, Fayer R: *Cryptosporidiosis of man and animals*. CRC Pres, USA, 1990.

Erman N: İzmir yöresinde broilerlerde cryptosporidiosis. Uzmanlık tezi, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, 1998.

Fahey TMD: *Cryptosporidiosis*. *Infectionus Disease Update*: 10(2): 75-80, 2003.

Fayer R, Ungar BL: *Cryptosporidium* spp. and *Cryptosporidiosis*. *Microbiol Rev*: 50(38): 458-486, 1986.

Fayer R, Morgan U, Upton SJ: *Epidemiology of Cryptosporidium: transmission, detection and identification*. *Int J Parasitol*: 30: 1305-1322, 2000.

Fayer R: *General Biology*. In: *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*. Eds: Ronald Fayer and Lihua Xiao, CRC Press, Second Edition, Boca Raton, p. 1-42, 2008.

Fayer R, Xiao L: *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*. CRC Pres, Second edition, Boca Raton, 2008.

Fayer R, Santin M, Trout JM: *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Vet Parasitol*: 156: 191-198, 2008.

Fayer R: *Taxonomy and species delimitation in Cryptosporidium*. *Exp Parasitol*: 124: 90-97, 2010.

Fayer R, Santin M, Macarasin D: *Cryptosporidium ubiquitum* n. sp. in animals and humans. *Vet Parasitol*: 172: 23-32, 2010.

Fletcher OJ, Munnell JF, Page RK: *Cryptosporidiosis of the bursa of Fabricius of chickens*. *Avian Dis*: 19(3): 630-639, 1975.

Geurden T, Thomas P, Casaert S, Vercruysse J, Claerebout E: *Prevalence and molecular characterisation of Cryptosporidium and Giardia in lambs and goat kids in Belgium*. *Vet Parasitol*: 155: 142-145, 2008.

Glisson JR, Brown TP, Brugh M, Page RK, Kleven SH, Davis RB: *Sinusitis in turkeys associated with respiratory cryptosporidiosis*. *Avian Dis*: 28(3): 783-790, 1984.

Gomes RS, Huber F, Silva S, Bomfim TCB: *Cryptosporidium* spp. parasitize exotic birds that are commercialized in markets commercial aviaries, and pet shops. *Parasitol Res*: 110: 1363-1370, 2012.

Goodwin MA: *Cryptosporidiosis in birds-a review*. *Avian Pathol*: 18(3): 365-384, 1989.

Goodwin MA, Steffens WL, Russell ID, Brown J: Diarrhea associated with intestinal cryptosporidiosis in turkeys. *Avian Dis*: 32(1): 63-67, 1988.

Goodwin MA, Brown J: Intestinal cryptosporidiosis in chickens. *Avian Dis*: 33(4): 770-777, 1989.

Goodwin MA, Krabill VA: Diarrhea associated with small-intestinal cryptosporidiosis in a budgerigar and in a cockatiel. *Avian Dis*: 33(4): 829-833, 1989.

Graczyk TK, Fayer R, Trout JM, Lewis EJ, Farley CA, Sulaiman I, Lal AA: *Giardia sp.* cysts and infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in the feces of migratory Canada geese (*Branta canadensis*). *Appl Environ Microbiol*: 64(7): 2736-2738, 1998.

Graczyk TK, Cranfield MR, Fayer R, Trout J, Goodale HJ: Infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts is retained upon intestinal passage through a migratory waterfowl species (Canada goose, *Branta canadensis*). *Trop Med Int Health*: 2: 341-347, 2007.

Graczyk TK, Majewska AC, Schwab KJ: The role of birds in dissemination of human waterborne enteropathogens. *Trends Parasitol*: 24 (2): 55-59, 2008.

Guerrant RL: Cryptosporidiosis an emerging highly infectious threat. *Emerg Infect Dis*: 3(1): 51-57, 1997.

Hamidinejat H, Jalali MH, Jafari RA, Nourmohammadi K: Molecular determination and genotyping of *Cryptosporidium* spp. in fecal and respiratory samples of industrial poultry in Iran. *Asian Pac J Trop Med*: 7: 517-520, 2014.

Harp JA, Fayer R, Pesch BA, Jackson GJ: Effects of pasteurization on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water and milk. *Appl Environ Microbiol*: 62(2): 2866-2868, 1996.

Hoerr FJ, Current WL, Haynes TB: Fatal cryptosporidiosis in quail. *Avian Dis*: 30(2): 421-425, 1986.

Holubova N, Sak B, Horcickova M, Hlaskova L, Kvetonova D, Menchaca S, Mcevoy J, Kvac M: *Cryptosporidium avium* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in birds. *Parasitol Res*: 115: 2243-2251, 2016.

Howe AD, Forster S, Morton S, Marshall R, Osborn KS, Wright P, Hunter PR: *Cryptosporidium* oocysts in a water supply associated with a cryptosporidiosis outbreak. *Emerg Infect Dis*: 8: 619-624, 2002.

Insulander M, Silverlas C, Lebbad M, Karlsson L, Mattsson JG, Svenungsson B: Molecular epidemiology and clinical manifestations of human cryptosporidiosis in Sweden. *Epidemiol Infect*: 141: 1009-1020, 2013.

Jellison KL, Distel DL, Hemond HF, Schauer DB: Phylogenetic analysis of the hypervariable region of the 18S r RNA gene of *Cryptosporidium* oocysts in feces of Canada geese (*Branta canadensis*): evidence for five novel genotypes. *Appl Environ Microbiol*: 70: 452-458, 2004.

Johnson SP, Ballard MM, Beach MJ, Causser L, Wilkins PP: Evaluation of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens. *J Clin Microbiol*: 41: 23-626, 2003.

Karaer Z, Dumanlı N: Genel Protozooloji. İçinde: Dumanlı N, Karaer Z (Eds): Veteriner Protozooloji. p. 1-21. Medisan Yay, Ankara, 2010.

Kassa H, Harrington B, Bisesi MS: Risk of occupational exposure to *Cryptosporidium*, *Giardia*, and *Campylobacter* associated with the feces of giant Canada geese. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*: 16: 905-909, 2001.

Kassa H, Harrington BJ, Bisesi MS: Cryptosporidiosis: a brief literature review and update regarding *Cryptosporidium* in feces of Canada geese (*Branta canadensis*). *Journal of Environmental Health*: 66: 34-40, 2004.

Kehl KS, Cicirello H, Havens PL. Comparison of four different methods for detection of *Cryptosporidium* species. *J Clin Microbiol*: 33(2):416-8, 1995.

Keusch GT, Hamer D, Joe A, Kelley M, Griffiths J, Ward H: "Cryptosporidia--who is at risk?" *Schweiz Med Wochenschr*: 125(18): 899-908, 1995.

Kılınç ÖO, Özdal N, Oğuz B, Değer S, Göz Y: Van'da yabancı kuşlarda cryptosporidiosis. *Eurasian J Vet Sci*: 32(2): 109-113, 2016.

Kozakiewicz B, Palkovič L: First outbreaks of *Cryptosporidium* infection on goose farms (*Anser anser L.*). *Medycyna Weterynaryjna*: 45(6): 333-336, 1989.

Küçüklerden N, Öztürk G, Angın M: Elazığ yöresi tavuklarında *Cryptosporidiosis* prevalansı. *Tr J of Vet and Anim Sci*: 21:153-156, 1997.

Laxer MA, Timblin BK, Patel RJ: DNA sequences for the specific detection of *Cryptosporidium parvum* by the polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg*. 45: 688-694, 1991.

Laatamna, A. E., Holubová, N., Sak, B., & Kváč, M: *Cryptosporidium meleagridis* and *C. baileyi* (Apicomplexa) in domestic and wild birds in Algeria. *Folia parasitologica*, 64: 018, 2017

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. *Parasitol Res*: 114(6): 2237-2241, 2015.

Lindsay DS: Laboratory models of cryptosporidiosis. In: Fayer R. (Ed.), *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton, FL, p. 210–224, 1997.

Lindsay DS, Sundermann CA, Blagburn BL: Cultivation of *Cryptosporidium baileyi*: studies with cell cultures, chicken embryos, and pathogenicity of chicken embryo passaged oocysts. *J Parasitol*: 74: 288–293, 1988.

Lindsay DS, Blagburn BL, Sundermann CA: Morphometric comparison of the oocysts of *Cryptosporidium meleagridis* and *Cryptosporidium baileyi* from birds. *Proc Helminthol Soc Wash*: 56(1): 91-92, 1989.

Lowery CJ, Nugent P, Moore JE, Millar BC, Xiru X, Dooley JS: PZR–IMS detection and molecular typing of *Cryptosporidium parvum* recovered from a recreational river source and an associated mussel (*Mytilus edulis*) bed in Northern Ireland. *Epidemiol Infect*: 127: 545–553, 2001.

Mac Kenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME 1994: A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *New Engl J Med*: 331: 161-167, 1994.

Mason RW: Conjunctival cryptosporidiosis in a duck. *Avian Diseases*: 30: 598-600, 1986.

Meireles MV, Paulillo AC, Silva GS, Luvizotto MCR, Costa AJ, Andreatti RL Fo. Experimental infection with *Cryptosporidium baileyi* in broilers raised on floor-pens. *Braz J Poult Sci*: 1(1): 37-42, 1999.

Mıstık R, Helvacı S, Akdiş C, Töre O: Bursa yöresinde sağlıklı ve diareli kişilerde *Cryptosporidium* araştırması. *Türkiye Parazitol Derg*, 16(2): 1-5, 1992.

Mirhashemi ME, Zintl A, Grant T, Lucy FE, Mulcahy G, De Waal T: Comparison of diagnostic techniques for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in animal samples. *Exp Parasitol*: 151-152: 14-20, 2015.

Molina-Lopez RA, Ramis A, Martin-Vasquez S, Gomez-Couso H, Ares-Mazas 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*: 39 (3): 171-176, 2010.

Mostafa NE, Abdel Hamed E, Fawzy EM, Zalat RS, Rashed HE, Mohamed SY: The new trend in the treatment of experimental cryptosporidiosis and the resulting intestinal dysplasia. *Colorectal Cancer*: 7(4): CRC06, 2018.

Morgan UM, Monis PT, Xiao L, Limor J, Sulaiman I, Raidal S, O'Donoghue P, Gasser R, Murray A, Fayer R, Blagburn BL, Lal AA, Thompson RCA: Molecular and phylogenetic characterisation of *Cryptosporidium* from birds. *Int J Parasitol*: 31(3): 289-296, 2001.

Murray PR, Pfaller MA: *Medical Microbiology*. 2. Ed., International student edition, p. 459, 1994.

Nakamura AA, Simoes DC, Antunes RG, Silva Da DC, Meireles MV: Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. from fecal samples of birds kept in captivity in Brazil. *Vet Parasitol*: 166: 47-51, 2009.

Nakamura AA, Meireles MV: *Cryptosporidium* infections in birds-a review. *Braz J Vet Parasitol*: 24(3): 253-267, 2015.

Ng J, Pavlasek I, Ryan U: Identification of novel *Cryptosporidium* genotypes from avian hosts. *Appl Environ Microbiol*: 72: 548-553, 2006.

Nichols: Epidemiology. In: Fayer R, Xiao L (Eds.): *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton, FL, p. 79-118, 2008.

Novaes RS, Pires MS, Sudre AP, Bergamo do Bomfim TC: Captive-bred neotropical birds diagnosed with *Cryptosporidium* Avian genotype III. *Acta Trop*: 78: 297-302, 2018.

O'Handley RM, Cockwill C, McAllister TA, Jelinski M, Morck DW, Olson ME: Duration of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. *JAVMA*: 214(3): 391-396, 1999.

O'Handley RM, Olson ME: Giardiasis and cryptosporidiosis in ruminants. *Vet Clin Food Anim*, 22 (3): 623-643, 2006.

O'Hara SP, Chen XM: The cell biology of *Cryptosporidium* infection. *Microbes and Infection*: 13 (8-9): 721-730, 2011.

Ok ÜZ, Girginkardeşler N, Kilimcioğlu A, Limoncu E: Dışkı inceleme yöntemleri. İçinde: *Parazit Hastalıklarında Tanı* (Editörler: Özcel M.A., Altıntaş N), 1. Baskı, Ege Üniv. Basımevi, İzmir, 1997.

Oliveira FCR, Ederli NB, Ederli BB, Albuquerque MC, Santos MD: Occurrence of *Cryptosporidium* spp. oocysts (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) in ostriches, *Struthio camelus* L., 1758 (Aves, Struthionidae) reared in North and Lowered Coastline regions of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*: 17(1 Suppl 1): 322-325, 2008.

Özcel MA, Özbek Y, Ak M: Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. *Tıbbi Parazitoloji Derneği Yayın No:22*, İzmir, 363-376, 2007.

Özcel MA, Turgay N, İnci A, Köroğlu E: Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları No:21,93-97,2007.

Özlem MB, Eren H, Kaya O: Aydın yöresi buzağlarında *Cryptosporidium*'ların varlığının araştırılması. Bornova Vet Kontr Araş Enst Derg: 22: 15-22,1997.

Över U: İshalle seyreden hastalıklarda *Cryptosporidium*'un rolü ve sağlıklı populasyonda seroprevalansı. Marmara Üniv. Sağlık Bil. Ens, Doktora Tezi, 1996.

Özer E: Evcil hayvanlarda Cryptosporidiosis, Ankara Üniv Veteriner Fak Derg: 38(1): 20-31, 1990.

Özkul LA, Alçığır G, Karaer Z, Kutsal O: Bursal cryptosporidiosis in chickens in Marek's disease. Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi (Doğa): 16: 1-9, 1991.

Özkul IA, Aydın Y: Small-intestinal cryptosporidiosis in a young pigeon. Avian Pathology: 23: 369-372, 1994.

Pages-Mante A, Pages-Bosch M, Majo-Masferrer N, Gomez-Couso H, Ares-Mazas E: An outbreak of disease associated with cryptosporidia on a red-legged partridge (*Alectoris rufa*) game farm. Avian Pathol: 36(4): 275-278, 2007.

Palkovic L, Pecka Z: Natural cryptosporidiosis in domestic geese, *Anser anser L.*, in Czechoslovakia. Folia Parasitologica: 36: 126, 1989.

Pavlašek I: Cryptosporidia: biology, diagnosis, host spectrum, specificity, and the environment. Remedica Klinicka Mikrobiologie: 3: 290-301, 1999.

Pavlašek I: Findings of Cryptosporidia in the stomach of chickens and of exotic and wild birds. Veterinárství: 51: 103-108, 2001.

Plutzer J, Karanis P: Genetic polymorphism in *Cryptosporidium* species: an update. Vet Parasitol: 165: 187-199, 2009.

Plutzer J, Tomor B: The role of aquatic birds in the environmental dissemination of human pathogenic *Giardia duodenalis* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in Hungary. Parasitology International: 58: 227-231, 2009.

Pollok RCG, Farthing MJG: Intestinal parasites. Current Opinion in Infect Dis: 10: 414-418, 1997.

Proctor SJ, Kemp RL: *Cryptosporidium anserinum* sp. n. (Sporozoa) in a domestic goose *Anser anser L.*, from Iowa. J Protozool: 21(5): 664-666, 1974.

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. *Exp Parasitol*: 128(4): 336-340, 2011.

Qilez Sanchez AC, Clavel A, Cacho E, Lopez BF: Comparison of an asit-fast stain and monoclonal antibody-based immunofluorescence reagef *Cryptosporidium* oocysts in faecal specimens from cattle and pigs. *Vet Parasitol*: 67: 75-81, 1996.

Ravich ML, Reavill DR, Hess L, Childress AL, Wellehan JFX: Gastrointestinal cryptosporidiosis in captive psittacine birds in the United States: a case review. *J Avian Med Surg*: 28(4): 297-303, 2014.

Richter D, Wiegand-Tripp G, Bruckhardt E, Kaleta EF: Natural Infections of *Cryptosporidium* sp. in farm-raised ducks and geese. *Avian Pathol*: 23: 277–286, 1994.

Ryan UM, Xiao L, Read C, Sulaiman IM, Monis P, Lal A, Fayer R, Pavlasek I: A redescription of *Cryptosporidium galli*, Pavlasek, 1999 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from birds. *J Parasitol*: 9: 809–813, 2003.

Ryan U: *Cryptosporidium* in birds, fish and amphibians. *Exp Parasitol*: 124: 113–120, 2010.

Ryan U, Fayer R, Xiao L: *Cryptosporidium* species in humans and animals: current understanding and research needs. *Parasitology*: 141: 1667–1685, 2014.

Ryan U, Zahedi A, Papparini A: *Cryptosporidium* in humans and animals—A one health approach to prophylaxis. *Parasite Immunology*: 38(9): 535-547, 2016.

Santin M: Clinical and subclinical infections with *Cryptosporidium* in animals. *N Z Vet J*: 61: 1–10, 2013.

Sarı B, Arslan MÖ, Gıcık Y, Kara M, Taşçı GT: The prevalence of *Cryptosporidium* species in diarrhoeic lambs in Kars province and potential risk factors. *Trop Anim Health Prod*: 41: 819-821, 2009.

Sarı B, Arslan MÖ: Sığır ve koyunlarda cryptosporidiosis. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci*: 3(2): 9-15, 2012.

Sarıkaya R: *Cryptosporidium* Türlerinin Tanımlanmasında Yeni Bir Yaklaşım: Ribotiplendirme, Gazi Üniv. Kırşehir Eğitim Fak. Yayını: 5(2): 13-26, 2004.

Scott TR: Our current understanding of humoral immunity of poultry. *Poult Sci*: 83(4): 574-579, 2004.

Sears CL, Kirckpatrick BD: In: “Cryptosporidiosis and Isosporiosis”, Principles and Practise of Clinical Parasitology, John Wiley & Sons Ltd. Pres., p.139-164, 2001.

Sevinç F, Dik B: Cryptosporidiidae. İçinde: Veteriner Protozooloji. Eds: Nazir Dumanlı ve Zafer Karaer, Medisan Yayınevi, 2. baskı, p.125-131, 2015.

Shams S, Khan S, Khan A, Khan I, Ijaz M, Ullah A: Differential techniques used for detection of *Cryptosporidium* oocysts in stool specimens. J Parasit Dis Diagn Ther: 1(1):1–11, 2016.

Silva DC, Homem CG, Nakamura AA, Teixeira WF, Perri SH, Meireles MV: Physical, epidemiological, and molecular evaluation of infection by *Cryptosporidium galli* in Passeriformes. Parasitol Res: 107(2): 271- 277, 2010.

Slavin D: *Cryptosporidium meleagridis* (sp. nov.). J Comp Pathol: 65: 262–266, 1955.

Smith HV, Caccio SM, Cook N, Nichols RAB, Tait,A: *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. Veterinary Parasitology: 149(1-2): 29-40, 2007.

Smith H: Diagnostics. In: Fayer R , Xiao L (Eds.): *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 173-207, 2008.

Soltane R, Guyot K, Dei-Cas E, Ayadi A: Prevalence of *Cryptosporidium* spp. (Eucoccidiorida: Cryptosporiidae) in seven species of farm animals in Tunisia. Parasite: 14: 335–338, 2007.

Sreter T, Varga I: Cryptosporidiosis in birds—a review. Vet Parasitol: 87: 261–279, 2000.

Steiner TS, Thielman NM, Guerrant RL: Protozoal agents: what are the dangers for the public water supply. Annu Rev Med: 48: 329-340, 1997.

Sterling CR, Arrowood MJ: Cryptosporidia. In: Kreier, J.P. (Ed.), Parasitic Protozoa. Academic Press, Inc., San Diego, CA, p. 159–164, 1993.

Strausbaugh LJ: Focusing on the outbreaks of cyclosporiasis in the 1990' s. Clin Infect Dis: 31: 1040-1057, 2000.

Sungur T, Kar S, Güven E, Aktaş M, Karaer Z, Vatansever Z: Detection of *Cryptosporidium* spp. in feces with nested PZR and carbol fuchsin staining method. T Parazitol Derg: 32(4): 305-308, 2008.

Şimşek AT, İnci A, Yıldırım A, Çiloğlu A, Bişkin Z, Düzlü Ö: Nevşehir yöresindeki yeni doğan ishallerde cryptosporidiosis'in real time PZR ve Nested PZR yöntemleri ile saptanması. Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi: 9(2): 79-87, 2012.

Terzi G: Gıda Kaynaklı Protozoon Enfeksiyonların İnsan Sağlığı Açısından Önemi. YYÜ Vet Fak Derg: 16(2): 47-55, 2005.

Thompson RCA, Olson ME, Zhu G, Enotomo S, Abrahamsen SN, Hijjawl NS: *Cryptosporidium* on Cryptosporidiosis. *Advances in Parasitology*: 59: 78-158, 2005

Thomson S: Cryptosporidiosis in farm live stock. Doktora tezi. University of Glasgow, 2016.

Tilki M, Saatci M: Her Yönüyle Kaz Yetiştiriciliği" Salmat Basım Yayıncılık, I.Baskı, Ankara, 2013.

Türkçapar N: Cryptosporidiosis. Ankara Üniv. Tıp Fakültesi Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları A.BD., Uzmanlık Tezi, Ankara, 2001.

Tyzzler EE: Coccidiosis in gallinaceous birds. *Am J Hyg*: 10: 269, 1929.

Truong Q, Ferrari BC: Quantitative and qualitative comparisons of *Cryptosporidium* faecal purification procedures for the isolation of oocysts suitable for proteomic analysis. *International Journal for Parasitology*: 36: 811–819, 2006.

Tzipori S, Griffiths JK: Natural history and biology of *Cryptosporidium parvum*. In: *Advances in parasitology*. (Vol. 40, pp. 5-36). Academic Press, 1998.

Tzipori S, Ward H: "Cryptosporidiosis: Biology, pathogenesis and disease". *Microbes and Infection*: 4: 1047-1058, 2002.

Uyar Y, Taylan Özkan A: Amebiyazis, Giardiyazis ve Kriptosporidiyazis Tanısında Antijen Tarama Yöntemlerinin Yeri. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 33(2): 140-150, 2009.

van Zeeland YR, Schoemaker NJ, Kik MJ, van der Giessend JW: Upper respiratory tract infection caused by *Cryptosporidium baileyi* in three mixedbred falcons (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*). *Avian Diseases*: 52: 357–363, 2008.

Vohra P, Singla P, Sharma M, Yadav A, Chaudhary U: Comparison of direct Immunofluorescence, iodine-saline wet mount and modified acid fast staining methods for detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. in human fecal specimens. *JEMDS*: 1: 285–289, 2012.

Wyatt CR, Riggs MW, Fayer R: Cryptosporidiosis in neonatal calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*: 26: 89–103, 2010.

Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ: *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rew*: 17(1): 72-97, 2004.

Xiao L, Feng Y: Zoonotic cryptosporidiosis. FEMS Immunol Med Microbiol: 52(3): 309-23, 2008.

Xiao L: Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: An update. Exp Parasitol: 124: 80–89, 2010.

Yoder JS, Wallace RM, Collier SA, Beach MJ, Hlavsa MC: Cryptosporidiosis Surveillance – United States, 2009–2010. MMWR Surveill Summ: 61 (5): 1–12, 2012.

Zeyrek Yıldız F, Dirim Erdoğan D: Serolojik Tanı Yöntemleri. İçinde: Korkmaz M, Ok ÜZ (Eds.): Parazitolojide Laboratuvar, .p 219, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 23, 2011.

Zhou L, Kassa H, Tischler ML, Xiao L: Host-Adapted *Cryptosporidium spp.* in Canada Geese. Applied And Environmental Microbiology: 70(7): 4211-4215, 2004.

8. ÖZGEÇMİŞ

Kars ili 1981 doğumlu olup, ilk, orta ve lise öğrenimini Kars merkezde tamamladı. Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden 2002 yılında mezun oldu. Kars merkezde özel eğitim kurumlarında biyoloji öğretmeni olarak çalıştı. 2013 yılında Aile Çalışma ve Sosyal Hizmetler il müdürlüğüne bağlı Sosyal Hizmetler Müdürlüğünde Öğretmen olarak görev yapmaktadır. 2014 yılında Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Evli ve bir kız çocuk annesidir.

