



ARAŞTIRMA MAKALESİ

İshalli buzağlarda cryptosporidiosisin yaygınlığı

Özlem Derinbay Ekici^{1*}, Ferda Sevinç¹, Alparslan Coşkun², Nermin Işık¹, Mutlu Sevinç²

Özet

Ekici ÖD, Sevinç F, Coşkun A, Işık N, Sevinç M. İshalli buzağlarda cryptosporidiosisin yaygınlığı. *Eurasian J Vet Sci*, 2011, 27, 2, 123-126

Amaç: Bu çalışmada 2005-2009 tarihleri arasında, S.Ü. Veteriner Fakültesi Parazitoloji A.B.D. laboratuvarına gelen akut ishalli buzağlarda *Cryptosporidium* sp. prevalansının araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada yaşları 1-35 gün arasında değişen 368 adet akut ishalli buzağı dışkı materyal olarak kullanıldı. Dışkı örnekleri, Modifiye Ziehl-Neelsen tekniği ile boyandıktan sonra mikroskopta *Cryptosporidium* sp. oocistleri yönünden incelendi.

Bulgular: Dışkı örneklerinin laboratuvar incelemesinde, 368 ishalli dışkı örneğinin 145 (%39.4)'inde *Cryptosporidium* sp. oocistleri saptandı. *Cryptosporidium* sp. oocistleri en yüksek 1-10 günlük buzağlarda %46 oranında belirlenirken en az 11-20 günlük buzağlarda %31 oranında görüldü.

Öneri: Neonatal buzağlarda görülen ishallerin tedavisinde *C. parvum*'unda dikkate alınması gerektiği sonucuna varıldı.

Abstract

Ekici ÖD, Sevinc F, Coskun A, Isik N, Sevinc M. Prevalence of cryptosporidiosis in calves with diarrhea. *Eurasian J Vet Sci*, 2011, 27, 2, 123-126

Aim: This study was carried out to determine the prevalence of *Cryptosporidium* sp. in calves with diarrhea in University of Selcuk, Department of Parasitology between 2005 and 2009.

Materials and Methods: Faecal samples were collected from 1-35 days old 368 calves. Faecal samples were stained with Modified Ziehl-Neelsen staining technique, they were examined under light microscope for the presence of *Cryptosporidium* sp. oocysts.

Results: Out of 368 faecal samples, 145 (39.4%) were found to be infected with *Cryptosporidium* sp. oocysts. *Cryptosporidium* sp. oocysts were seen in 1-10 days age calves at the highest level (46%) and 11-20 days age at the lowest level (31%).

Conclusion: *C. parvum* should be considered in the treatment of diarrhea in neonatal calves.

¹Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, ²İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 42075, Konya, Türkiye

Geliş: 10.01.2011, Kabul: 11.02.2011
*oderinbay@selcuk.edu.tr

Anahtar kelimeler: İshalli buzağı, *Cryptosporidium* sp.

Keywords: Calves with diarrhea, *Cryptosporidium* spp.

► Giriş

Cryptosporidium türleri oldukça geniş bir konakçı spektrumuna sahiptirler. Evcil hayvanlarda, özellikle buzağlarda ekonomik kayıplara neden olurlar. *Cryptosporidiidae* ailesinde sadece *Cryptosporidium* cinsi bulunur. Sığırlarda parazitlenen türler intestinal cryptosporidiosis etkeni olan *C. parvum* ve abomasum mukozasına yerleşim gösteren *C. andersoni*'dir. Neonatal diareye sebep olan tür konak spesifitesi olmayan *C. parvum*'dur. Bu protozoon insan ve memeli hayvanların genellikle sindirim sistemi epitel hücrelerine yerleşir. Cryptosporidiosis'in neonatal dönemdeki birçok hayvan türünde (buzağı, kuzu ve oğlak gibi) ciddi sorunlara neden olduğu belirtilmiştir (Castro-Hernida ve ark 2002, Fayer 2004, Ramirez ve ark 2004, Sevinç 2004, Thompson ve ark 2005). *C. parvum* ile birlikte *Escherichia coli*, *rotavirüs*, *coronavirüs*, *Salmonella enterica* subsp. ve beslenme faktörleri de 21 günden küçük buzağlarda ishale neden olurlar (Constable 2009). Cryptosporidiosis zoonoz bir hastalıktır ve hayvancılıkla uğraşanlar, gençler ve bağışıklık sistemi zayıf olan insanlarda daha çok görülür. *C. parvum* enfeksiyonu bağışıklık sistemi ile doğrudan ilişkilidir (Graaf ve ark 1999).

Buzağlarda *Cryptosporidium* sp. enfeksiyonları ile ilgili çalışmalar 1970'li yıllarda başlamıştır (Fayer 2004). Türkiye'de buzağlarda *Cryptosporidium* sp. ookistleri ilk olarak 1984 yılında bildirilmiş ve ishalleri buzağların %27.4'ünde, sağlıklı buzağların ise %20'sinde *Cryptosporidium* ookistlerine rastlanmıştır (Burgu 1984). Sonraki yıllarda da, Türkiye'nin farklı bölgelerinde neonatal dönemdeki buzağlarda görülen ishalleri dışkılarında cryptosporidiosis'e yaygın olarak rastlanmıştır (Emre ve ark 1998, Arslan ve ark 2001, Sevinç ve ark 2003).

Bulaşma genellikle konakların dışkılarıyla atılan sporlanmış ookistlerle kontamine yiyeceklerin ve içme sularının ağızdan alınması ile şekillenir. Buzağlarda oral olarak alınan ookistler yaklaşık 4 günde gelişir. Sulu, mukuslu, homojen genellikle sarı olan ishal hastalığında en tipik bulgudur. Buna ilave olarak, vücut ısısında hafif artış (maksimum 40.1 °C), iştahsızlık, kas titremesi, dengesiz yürüme, sıvı-elektrolit kaybı, halsizlik, kilo kaybı, gelişme geriliği ve kılırlarda karışıklık gibi semptomlar da görülebilir. Bu duruma eşlik eden başka bir patojen söz konusu olduğunda bulgular daha da ağırlaşır. Hastalığa üç günlükten itibaren her yaştaki hayvanda rastlanabilir. Özellikle 1-3 haftalık buzağlar hastalığa karşı oldukça duyarlıdır (Leek ve Fayer 1984).

Günümüzde kullanılan natif muayene ve flotasyon gibi rutin dışkı muayene metotlarıyla *C. parvum* ookistlerinin dışkıda bulunan diğer küçük partiküllerden ayrımı oldukça güçtür. Bu nedenle tanı amacıyla en sık kullanılan boyama teknikleri asit-fast boyama yöntemleridir. Bu sebeple Ziehl-Neelsen ve DMSO-karbol fuksin gibi asit-fast boyama metotları geliştiri-

lmıştır. Bu metotlarla boyamada ookistler, mavimsi zemin üzerinde canlı pembe veya kırmızı renkte boyanırken; mayalar mavi renge boyanır (Ok ve ark 1997, Fayer ve ark 2000).

Hastalığın tedavisinde çeşitli ilaçlar denenmiş, ancak tam etkili bir ilaç bulunamamıştır. Paromomisin, spiramisin, dekoquinat, lasalosid sodyum ve halofuginon laktat kısmen etkilidir (Castro Hernida ve ark 2000, Lefay ve ark 2001).

Cryptosporidiosis'den korunmada en önemli faktör bağışıklıktır. Cryptosporidiosis'in kontrolünde yeni doğan hayvanların doğumdan hemen sonra yeterince kolostrum almaları çok önemlidir. Bu sayede enfeksiyondan korunabilirler (Graaf ve ark 1999).

Bu çalışmada 2005-2009 tarihleri arasında, S.Ü. Veteriner Fakültesi Parazitoloji A.B.D. laboratuvarına gelen akut ishalleri buzağlarda cryptosporidiosis'in yaygınlığını belirlemek amaçlandı.

► Gereç ve Yöntem

• İshalleri dışkı örnekleri

Bu çalışmanın materyalini 2005-2009 tarihleri arasında S.Ü. Veteriner Fakültesi Parazitoloji ABD laboratuvarına gelen ishalleri dışkı örnekleri ve İç Hastalıkları Anabilim Dalı kliniğine ishal şikâyeti ile getirilen buzağlardan alınan dışkı örnekleri oluşturdu. Yaşları 1-35 gün arasında değişen 368 adet ishalleri buzağının dışkısı incelendi.

• Modifiye asit-fast boyama yöntemi

Dışkı örnekleri %0.9'luk izotonik NaCl solüsyonuyla lam üzerine ince bir şekilde yayılarak oda sıcaklığında kurutuldu. Modifiye asit-fast boyası ile boyandı. Yayma yapılan ve havada kurutulan preparatlar metil alkol ile 1 dakika tespit edildikten sonra bazik fuksin solüsyonunda (4 g bazik fuksin + 20 mL %95'lik etanol + 8 mL eritilmiş kristal fenol + 100 mL distile su) 5 dakika boyandı. %50'lik etil alkolde çalkalanarak, 3-5 saniye çeşme suyunda yıkandı. %1'lik sülfürik asit ile 2 dakika dekolore edildi. Çeşme suyuyla yıkandı. Metilen mavisini ile 1 dakika boyandıktan sonra tekrar çeşme suyu ile yıkanarak kurutuldu. Mikroskopta x100 büyütme objektifinde, immersiyon yağı damlatılarak incelendi. *Cryptosporidium* ookistleri mavi zemin üzerinde pembe-kırmızı renkte görüldü.

Değerlendirmede preparatlardaki rastgele seçilmiş 20 mikroskop sahasındaki ookist sayısı dikkate alındı. *Cryptosporidium* ookist yoğunluğuna göre enfeksiyonun şiddeti; negatif (ookist yok), hafif (1-5 ookist), orta (6-10 ookist) ve şiddetli (>10 ookist) olarak tanımlandı.

• İstatistiksel analiz

Sonuçlar ki-kare testi yapılarak değerlendirildi. $p < 0.05$ değeri istatistiki açıdan önemli kabul edildi.

► Bulgular

Hastalığın yaş gruplarına göre dağılımı Tablo1'de ve enfeksiyon skoru Tablo 2'de gösterildi. En yüksek prevalans 1-10 günlük buzağılarda belirlenirken ($p<0.05$, %46.38), en düşük prevalans ise 11-20 günlük hayvanlarda ($p<0.05$, %31.97) saptandı (Tablo 1). Hasta hayvanların %47'sinin şiddetli derecede (>10 ookist) enfekte oldukları belirlendi (Tablo 2).

Tablo 1. Farklı yaş gruplarına göre *Cryptosporidium* sp.'nin yaygınlığı.

Yaş (gün)	Muayene edilen hayvan sayısı (n)	Pozitif hayvan sayısı (n)	Enfeksiyon oranı (%)
1-10	138	64	46.38 ^a
11-20	122	39	31.97 ^b
21-30	67	26	38.81 ^{ab}
30-35	41	16	39.02 ^{ab}
Toplam	368	145	39.40

^{a, b}: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir (ki-kare test, $p<0.05$).

Tablo 2. *Cryptosporidium* sp. ile enfekte buzağılarda yaş gruplarına göre enfeksiyon skoru.

Enfeksiyonun şiddeti ve ookist yoğunluğu	Enfekte buzağı sayısı (n)				Toplam 1-35
	Yaş (gün)				
	1-10	11-20	21-30	31-35	
Negatif (ookist yok)	74	83	41	25	223
Hafif (1-5 ookist)	11	11	6	4	32 (%22.07)
Orta (6-10 ookist)	16	9	12	8	45 (%31.03)
Şiddetli (>10 ookist)	37	19	8	4	68 (%46.89)

► Tartışma

Dünyanın birçok bölgesinde yaygın olarak bulunan cryptosporidiosis aynı zamanda en önemli zoonoz hastalıklardan biridir. Birçok hayvan özellikle de memeliler açısından büyük öneme sahip olan *C. parvum*, buzağı, kuzu ve oğlaklarda ciddi hastalık tablolarına ve ölümlere neden olabilmektedir (Mosier ve Oberst 2000, Sevinç ve ark 2005a, 2005b). Hastalık hayvancılıkla uğraşanlar, gençler ve bağışıklık sistemi zayıf olan insanlarda daha sık görülür. Bağışıklık sistemi kuvvetli olan konaklar hastalığa karşı dirençlidirler. Neonatal dönemde buzağı isheline neden olan etkenlerden *E. coli*, rotavirüs ve corona virüs etkenleri de immun sistemin baskılanmasına sebep olurlar.

Bu çalışmada cryptosporidiosisin prevalansı %39.4 olarak belirlendi. Türkiye'de ishelli buzağılarda *Cryptosporidium* sp. enfeksiyonu %25-63 arasında tespit edilmiştir (Emre ve ark 1998, Arslan ve ark

2001, Sevinç ve ark 2003). Dünyada ise neonatal buzağılarda yapılan çalışmalarda *C. parvum* enfeksiyonları % 3.1 ile % 86.4 arasında bulunmuştur (Gow ve Waldner 2006, Singh ve ark 2006, Brook ve ark 2008, Del Coco ve ark 2008). İshelli buzağılarda ise bu oran %37.5 ile %86.4 arasında saptanmıştır (Singh ve ark 2006, Del Coco ve ark 2008). Bu çalışmalara bakıldığında, dünyada da cryptosporidiosis enfeksiyonlarına Türkiye'de olduğu gibi önem verildiği görülmektedir.

Cryptosporidiosisin yaygınlığını etkileyen en önemli risk faktörlerinin başında yaş ve immun sistem gelmektedir. Bu enfeksiyona karşı özellikle 1-3 haftalık buzağılar oldukça duyarlıdır. Dolayısıyla enfeksiyon özellikle 1 aylıktan küçük buzağılarda daha yaygın görülmektedir. Bu çalışmada da en yüksek prevalans 1-10 günlük buzağılarda (Tablo 1) ve şiddetli oranda (Tablo 2) belirlenirken, en düşük prevalans ise 11-20 günlüklerde saptandı. Yaş grupları arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulundu ($p<0.05$). *Cryptosporidium parvum* enfeksiyonunun 4-10 günlük buzağılarda yüksek oranda görüldüğü benzer çalışmalarda da bildirilmiştir (Naciri ve ark 1999, Uga ve ark 2000, Sevinç ve ark 2003). Enfeksiyonun bu yaş grubunda yüksek oranda görülmesi immun sistemin tam olarak şekillenmemiş olması ve doğumdan sonraki ilk birkaç gündeki kontaminasyondan kaynaklanmış olması şeklinde açıklanabilir. Buna karşın diğer yaş gruplarıyla kıyaslandığında 11-20 günlük buzağılarda enfeksiyonun yaygınlığı daha düşük bulundu. Bu durum, laboratuara gelen bu yaş grubundaki enfekte materyal sayısının yetersiz olması ile açıklanabilir.

Cryptosporidiosis, immun sistemi baskılanmış buzağılarda hayati tehlike oluşturur (Mosier ve Oberst 2000). Bu çalışmada da şiddetli ishal ve dehidrasyon görülen ve yeterince kolostrum almamış iki buzağı ölmüştür. Bu buzağılardan birinin 4 günlük olduğu ve prematüre doğduğu, diğerinin ise 7 günlük olduğu ve kolostrum alamadığı belirlendi. Bu durum immun sistemin bu hastalıkta çok etkili olduğunu desteklemektedir.

► Öneriler

Bu çalışmada en yüksek düzeydeki *Cryptosporidium* sp. enfeksiyonu 1-10 günlük ishelli neonatal buzağılarda gözlemlendi. *Cryptosporidium* sp.'un neonatal buzağılarda görülen ishal olgularının en önemli sebeplerinden biri olduğu ve tedavi protokollerinde cryptosporidiosisin de göz ardı edilmemesi gerektiği görüldü. Zoonoz patojenlerden biri olan cryptosporidiosis konusunda daha kapsamlı çalışmaların yapılması, yeni doğan buzağuların kolostrum almalarının sağlanması konusunda hayvan sahiplerinin bilinçlendirilmesi gerektiği, doğum anından itibaren buzağuların bakımına, beslenmesine ve bulunduğu ortamın dezenfeksiyonuna dikkat edilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

► Kaynaklar

- Arslan MÖ, Gıcık Y, Erdoğan HM, Sarı B, 2001. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. oocysts in diarrhoeal calves in Kars province, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 25, 161-164.
- Brook E, Hart CA, French N, Christley R, 2008. Prevalence and risk factors for *Cryptosporidium* spp. infection in young calves. *Vet Parasitol*, 152, 46-52.
- Burgu A, 1984. Türkiye'de buzağularda *Cryptosporidium*'ların bulunuşuyla ilgili ilk çalışmalar. *AÜ Vet Fak Derg*, 38, 573-585.
- Castro Hernida JA, Freire Santos F, Oteiza Lopez AM, Vergara Castiblanco CA, Ares-Mazas ME, 2000. In vitro and in vivo efficacy of lasalocid for treatment of experimental cryptosporidiosis. *Vet Parasitol*, 90, 265-270.
- Castro-Hermida JA, Gonzales-Losada YA, Ares-Mazas E, 2002. Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NWSpain). *Vet Parasitol*, 106, 1-10.
- Constable PD, 2009. Treatment of calf diarrhea: Antimicrobial and ancillary treatments. *Vet Clin Food Anim*, 25, 101-120.
- Del Coco VF, Cordoba MA, Basualdo JA, 2008. *Cryptosporidium* infection in calves from a rural area of Buenos Aires, Argentina. *Vet Parasitol*, 158, 31-35.
- Emre Z, Alabay BM, Fidancı H, Düzgün A, Çerçi H, 1998. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. infections and its relation to other enteric pathogens (*Escherichia coli* K 99 and rotavirus) in cattle in Ankara, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 22, 453-457.
- Fayer R, 2004. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. *Vet Parasitol*, 126, 37-56.
- Fayer R, Morgan U, Upton SJ, 2000. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *Int J Parasitol*, 30, 1305-1322.
- Gow S, Waldner C, 2006. An examination of the prevalence of and risk factors for shedding of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in cows and calves from western Canadian cow-calf herds. *Vet Parasitol*, 137, 50-61.
- Graaf DC, Vanopdenboscha E, Ortega-Mora LM, Abbassi H, Peeters JE, 1999. A review of the importance of *Cryptosporidium* in farm animals. *Int J Parasitol*, 29, 1269-1287.
- Leek RG, Fayer R, 1984. Prevalence of *Cryptosporidium* infections and their relation to diarrhea in calves on 12 dairy farms in Maryland. *Proc Helminthol Soc Wash*, 51, 360-361.
- Lefay D, Naciri M, Poirier P, Chermette R, 2001. Efficacy of halofuginone lactate in the prevention of cryptosporidiosis in suckling calves. *Vet Rec*, 148, 108-112.
- Mosier DA, Oberst RD, 2000. Cryptosporidiosis: A Global Challenge. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 916, 102-111.
- Naciri M, Lefay MP, Mancassola R, Poirier P, Chermette R, 1999. Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Vet Parasitol*, 85, 245-257.
- Ok ÜZ, Gırgınkardesler N, Kılımcıoğlu A, Lımoncu E, 1997. Dışkı inceleme yöntemleri, In: Parazit Hastalıklarında Tanı, Ed; Özcel MA, Altıntaş N, Türkiye Parazitoloji Dern Yay, Bornova- İzmir, Ege Univ. Basım evi, pp; 1-61.
- Ramirez NE, Ward LA, Sreevatsan S, 2004. A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes Infect*, 6, 773-785.
- Sevinc F, Irmak K, Sevinc M, 2003. The prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in the diarrhoeic and non-diarrhoeic calves. *Revue Med Vet*, 154: 357-361.
- Sevinç F, 2004. Ruminantlarda *Cryptosporidium*. *Vet Bil Derg*, 20, 4, 79-84.
- Sevinç F, Uslu U, Derinbay Ö, 2005a. The prevalence of *Cryptosporidium parvum* in goat kids. *Indian Vet J*, 82, 123-1232.
- Sevinç F, Uslu U, Derinbay Ö, 2005b. The prevalence of *Cryptosporidium parvum* in lambs around Konya. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 1191-1194.
- Singh BB, Sharma R, Kumar H, Banga HS, Aulakh RS, Gill JPS, Sharma JK, 2006. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in Punjab (India) and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. *Vet Parasitol*, 140, 162-165.
- Thompson RCA, Olson ME, Zhu G, Enomoto S, Abrahamsen MS, Hıjjawi NS, 2005. *Cryptosporidium* and *Cryptosporidiosis*. *Adv Parasitol*, 59, 77-158.
- Uga S, Matsuo J, Konoa E, Kimura K, Inoue M, Rai SK, Ono K, 2000. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocyst shedding in calves in Japan. *Vet Parasitol*, 94, 27-32.