



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
VIH-YL-2014-0002

***Cryptosporidium parvum* İLE DENEYSSEL ENFEKTE  
BUZAĞILARDA SERUM DEMİR, BAKIR VE ÇİNKO  
KONSANTRASYONLARININ İNCELENMESİ**

**Veteriner Hekim  
Doruk BABAÇ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Bülent ULUTAŞ**

**AYDIN-2014**

T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
VİH-YL-2014-0002

***Cryptosporidium parvum* İLE DENEYSEL ENFEKTE  
BUZAĞILARDA SERUM DEMİR, BAKIR VE ÇİNKO  
KONSANTRASYONLARININ İNCELENMESİ**

Veteriner Hekim  
Doruk BABAÇ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Bülent ULUTAŞ

AYDIN-2014

**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Doruk BABAÇ tarafından hazırlanan “*Cryptosporidium parvum* ile Deneysel Enfekte Buzağılarda Serum Demir, Bakır ve Çinko Konsantrasyonlarının İncelenmesi” başlıklı tez, 04.02.2014 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

**Unvanı, Adı ve Soyadı :**

**Üniversitesi :**

**İmzası:**

Prof Dr. Bülent ULUTAŞ

Adnan Menderes Üniversitesi

Prof. Dr. Hüseyin VOYVODA

Adnan Menderes Üniversitesi

Prof. Dr. Funda KIRAL

Adnan Menderes Üniversitesi

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu (tezin türü) tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun  
..... Sayılı kararıyla..... tarihinde onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Sacide KARAKAŞ

## ÖNSÖZ

*Cryptosporidium spp*, son 30 yıldan beri insan ve birçok hayvan türünde önemli enterik protozoon patojen olarak kabul edilmektedir. *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*); ishal, dehidrasyon ve kilo kaybı sonucu hematolojik, biyokimyasal ve bağırsaklarda histopatolojik değişikliklerle karakterize bir hastalık olan cryptosporidiosis'in etkenidir.

*Cryptosporidium spp*, apikompleksa şubesinin coccidia sınıfında *Eimeria*, *Sarcocystis*, *Toxoplasma*, *Cyclospora* ve *Isospora* ile birlikte yer alır. *Cryptosporidium* ilk kez 1907 yılında Tyzzer tarafından farelerin gastrik mukoza hücrelerinde gösterilmiş ve eski Yunancada "saklı kist" anlamına gelen *Cryptosporidium* olarak tanımlanmıştır. Yaklaşık 30 yıldır intestinal protozoon enfeksiyon etkenlerinden olan *Cryptosporidium* türleri, evcil hayvanlar ve insanlar başta olmak üzere oldukça geniş bir konakçı spektrumuna sahiptir.

Cryptosporidial enfeksiyonların ana kaynağı olan *C. parvum*'un kompleks bir yaşam siklusu olmakla birlikte, siklusu ookistin oluşumuyla başlamakta ve tek konakçıda tamamlanmaktadır. Enfeksiyon bu parazite ait ookistler ile fekal-oral yolla bulaşmakta, hayvandan hayvana, hayvandan insana veya insandan insana geçebilmektedir.

*Cryptosporidium parvum*, son yıllarda buzağı ishallerinin etiyojilerinde ilk sıralarda yer almaktadır. *Rotavirus*, *Coronavirus*, *Escherichia coli* K99 (*E. coli*) ya da *Salmonella* türleri gibi diğer enteropatojenlerle birlikte enfeksiyon oluşturmakla birlikte, bir çok deneysel çalışma ve araştırma *Cryptosporidium spp.*'nin primer patojen olduğunu göstermiştir.

Cryptosporidiosis klinik olarak buzağı, kuzu ve oğlaklar ile immun yetmezliği olan hayvanlar açısından önemlidir. İshal; sıvı, elektrolit ve tampon madde kayıplarına neden olmaktadır. Bu kayıpların karşılanması ishal sağaltımının esasını oluşturur.

Demir (Fe), bakır (Cu) ve çinko (Zn) büyüme, gelişme ve yaşamın sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesi için esansiyel olan iz elementlerdir. Bu iz elementlerin noksanlığı immun sistem fonksiyonlarında baskılanmaya ve enfeksiyon sıklığında artışa neden olmaktadır. İshalle seyreden sindirim sistemi hastalıkları Fe, Cu ve Zn metabolizmasını; anoreksi, absorpsiyonun azalması, doğrudan kayıp ve yeniden dağılımla etkileyerek immun sistemi baskılamaktadır.

Bu nedenle *Cryptosporidium* ile enfekte buzaşılarda Fe, Cu ve Zn uygulama endikasyonunun belirlenmesinin önemli olduğu düşünölmektedir. Bu çalışmada da *C. parvum* ile deneysel enfekte buzaşılarda serum demir bakır ve çinko konsantrasyonlarının incelenmesi amaçlandı.

---

\*Bu alışma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir. (Proje No; VTF 13036)

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. GENEL BİLGİLER	1
1.1.1. <i>Cryptosporidium</i>	1
1.1.1.1. Morfoloji ve Yaşam Siklusu	2
1.1.1.2. Epidemiyoloji	6
1.1.1.3. Patogenez	7
1.1.1.4. Klinik Bulgular	10
1.1.1.5. Tanı	12
1.1.1.6. Sağaltım ve Korunma	13
1.1.2. İz Elementler	18
1.1.2.1. Çinko	20
1.1.2.2. Bakır	24
1.1.2.3. Demir	29
2. GEREÇ VE YÖNTEM	33
2.1. Hayvan Materyali	33
2.2. Hayvan Bakımı ve Muayene Protokolü	33
2.3. <i>C. parvum</i> 'un Kaynağı ve Hazırlanması	33
2.4. Deneysel Gruplar	34
2.5. Muayene ve Değerlendirme Protokolleri	34
2.6. Hematolojik ve Biyokimyasal Analizler	35
2.7. İstatistiksel Değerlendirme	35

3.	BULGULAR	36
3.1.	Klinik Bulgular	36
3.2.	Laboratuvar Bulguları	37
3.2.1.	Hematolojik Bulgular	37
3.2.2.	Biyokimyasal Bulgular	37
4.	TARTIŞMA	43
5.	SONUÇ	49
	ÖZET	50
	SUMMARY	51
	KAYNAKLAR	52
	ÖZGEÇMİŞ	67
	TEŞEKKÜR	68

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<i>C. parvum</i>	<i>Cryptosporidium parvum</i>
<b>Cu</b>	Bakır
<b>DNA</b>	Deoksiribo Nükleik Asit
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<b>EDTA</b>	Etilendiamintetraasetikasit
<b>ELISA</b>	Enzim Linked İmmunosorbent Antikor Testi
<b>Fe</b>	Demir
<b>Fe<sup>+2</sup></b>	Ferro
<b>Fe<sup>+3</sup></b>	Ferri
<b>HCT</b>	Hematokrit
<b>PG</b>	Prostaglandin
<b>PLT</b>	Trombosit Sayısı
<b>PZR</b>	Polimerize Zincir Reaksiyonu
<b>RBC</b>	Eritrosit Sayısı
<b>RNA</b>	Ribonükleik asit
<b>(SEM)</b>	Standart Hata
<b>WBC</b>	Total Lökosit Sayısı
<b>(<math>\bar{X}</math>)</b>	Aritmetik ortalama
<b>Zn</b>	Çinko



## ÇİZELGELER DİZİNİ

		<b>Sayfa</b>
<b>Çizelge 3.1.</b>	Sağlıklı ve <i>C. parvum</i> ile enfekte buzağılarda hematokrit değeri ile eritrosit ve trombosit sayıları	38
<b>Çizelge 3.2.</b>	Sağlıklı ve <i>C. parvum</i> ile enfekte buzağılarda lökosit sayıları	39
<b>Çizelge 3.3.</b>	Sağlıklı ve <i>C. parvum</i> ile enfekte buzağılarda serum bakır, çinko ve demir konsantrasyonları	40

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 1.1.</b> Ookistlerin parçalanmasıyla serbest kalan enfektif sporozoitler	4
<b>Şekil 1.2.</b> Cryptosporidium'un biyolojik siklusu ve evrelerinin şekilleri	4
<b>Şekil 1.3.</b> Cryptosporidium'un ookisti	5
<b>Şekil 3.1.</b> Sağlıklı ve <i>C. parvum</i> ile enfekte buzağılarda serum bakır konsantrasyonları.	41
<b>Şekil 3.2.</b> Sağlıklı ve <i>C. parvum</i> ile enfekte buzağılarda serum çinko konsantrasyonları.	41
<b>Şekil 3.3.</b> Sağlıklı ve <i>C. parvum</i> ile enfekte buzağılarda serum demir konsantrasyonları.	42

## RESİMLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Resim 3.1.</b> <i>C. parvum</i> ile enfekte buzağuların günlük yaşam ve muayene esnasında görünüşleri	36
<b>Resim 3.2.</b> <i>C. parvum</i> ile enfekte buzağulardan elde edilen dışkıların kıvam ve görünüşleri	37

# 1.GİRİŞ

## 1.1 GENEL BİLGİLER

### 1.1.1 *Cryptosporidium*

*Cryptosporidium*'lar, tüm evcil hayvanları ve insanları yaygın olarak etkileyen, obligat, hücre içi parazitlerdir (Fayer ve ark 2000, Kaske ve Kunz 2003, Hamnes ve ark 2006). Etkenin buzağılarda ilk defa 1971 yılında belirlenmesinden sonra, bu etken farklı yönleriyle birçok araştırmada değerlendirilmektedir. *Cryptosporidium*'un taksonomisi aşağıda olduğu gibi bildirmektedir (Rommel ve ark 2000, Tzipori ve Ward 2002).

Alem: Protista

Altalem: Protozoa

Şube: Apicomplexa

Sınıf: Sporozoasida

Altsınıf: Coccidiosina

Takım: Eucoccidiorida

Alttakım: Eimeriorina

Aile: Cryptosporidiidae

Cins: *Cryptosporidium*

*Cryptosporidium spp.* diğer *Coccidia* ailesindeki parazitlerle karşılaştırıldığında, yaşam siklusunda birçok benzerlik (seksüel ve aseksual formlarının olması) göstermekle birlikte, bazı özellikleri ile *Coccidia*'lardan ayrılmaktadır (Divers ve Peek 2008). Bu kapsamda *Cryptosporidium* ookistlerinin sporlanmış formu dışkı ile atılmakta ve hayvanda oto-enfeksiyona yol açabilmektedir (De Graaf ve ark 1999, Tzipori ve Ward 2002, Hamnes ve ark 2006, O'Handley ve Olson 2006). *Cryptosporidium* ve diğer *Coccidia* parazitlerin konakçı spesifiteleri ve boyutları da farklılık göstermektedir. *C. parvum* daha az konakçı spesifiktir. Boyut olarak *Cryptosporidium spp.* çok daha küçük olup, dışkıda flotasyon yöntemi ile kolayca belirlenmemektedir (Tzipori ve Ward 2002, Divers ve Peek 2008). Ayrıca *Cryptosporidium*'lar diğer *Coccidia*'lara göre özellikle dış etkilere karşı daha

dirençli ve hücrelerde karakteristik lokalizasyon bölgeleri bulunmaktadır (Tzipori ve Ward 2002, Hammes ve ark 2006).

İnsan dahil birçok memeli, kanatlı ve sürüngende sindirim sistemi epitel hücrelerine lokalize olan bu parazitler özellikle genç ve immun sistemi baskılanmış hayvanlarda enfeksiyona neden olmakta ve zoonotik özelliği ile insan ve hayvan sağlığını tehdit etmektedir. *Cryptosporidium*'un 13 farklı türü tanımlanırken (Olson ve ark 2004, Thomson ve ark 2008) son yıllarda daha yeni *Cryptosporidium* türleri identifiye edilmiştir. Bu nedenle günden güne bulunan tür sayısı artmış ve 23'e ulaşmıştır (Muhid ve ark 2011). Ancak *C. parvum*, *C. andersoni* (mammalian), *C. meleagridis* ve *C. baileyi* (avian), *C. serpentis* (reptiller) ve *C. nasorum* (balık) olmak üzere yaygın olan 6 temel tür belirtilmektedir.

Klinik enfeksiyon, ruminantlarda genellikle neonatal dönemde görülmektedir. Sığırlar genellikle *C. parvum*, *C. andersoni*, *C. bovis* ve önceden *Cryptosporidium* deer-like genotipi olarak bilinen *C. ryanae* olmak üzere 4 tür tarafından enfekte edilmektedir (Santín ve Trout 2008).

Bu temel türlerden *C. andersoni* her yaştaki sığırlarda görülebilirken, *C. parvum* genellikle 2 aylıktan küçük buzağılarda, *C. bovis* ve *C. ryanae* ise 2-11 aylık buzağılarda enfeksiyona neden olmaktadır. Çok çeşitli *Cryptosporidium* türü bulunmakla birlikte memeli hayvanlar için *C. parvum* en önemlisidir (Tzipori Ve Ward 2002) ve özellikle süttten kesim öncesinde en sık karşılaşılan, klinik önemi olan türdür (Mendonça ve ark 2007, Divers ve Peek 2008, Imre ve ark 2011, Kvač ve ark 2011, Muhid ve ark 2011).

*Cryptosporidium parvum*'un yol açtığı enfeksiyonlarda genellikle sulu ishal görülürken diğer 3 türde klinik semptomlar çok nadir görülmekte ya da enfeksiyon subklinik seyretmektedir (Fayer ve ark 2006, Hammes ve ark 2006, O'Handley ve Olson 2006).

#### **1.1.1.1. Morfoloji ve Yaşam Siklusu**

*Cryptosporidium parvum* ookistleri yaklaşık 5.0 x 4.5 µm büyüklüğünde ve ovaldir. Ookistin dış çeperini oluşturan çift katlı lipoprotein membranı, 4 adet sporozoit ve kristal residual cisimcikleri çevrelemektedir (De Graaf ve ark 1999, Rommel ve ark 2000).

İnce bağırsakta gelişen *C. parvum* özellikle jejunumun son kısmı, ileum ve bazen de kalın bağırsakta bulunmaktadır (De Graaf ve ark 1999, Rommel ve ark 2000). Tüm gelişim safhalarını epitel hücrelerin apikal uçlarında geçirmekte, hücrede çoğalmasına rağmen hücre sitoplazmasında bulunmamaktadır (O'Handley ve Olson 2006). Yani hücre içi ekstrastoplazmik bir parazittir (Heine ve ark 1984, Kaske ve Kunz 2003). Yerleşim yeri nedeniyle diğer hücre içi parazitlerden ayrılır. Çünkü onlar hücrenin sitoplazması içinde yerleşirken, *Cryptosporidium* hücrenin ekzositoplazmik alanına yerleşir ve birbirini izleyen eşeyli ve eşeysiz üremeye çoğalır. Parazitin tüm gelişim aşamaları tek bir konakçıda tamamlandığından hayat siklusu monoksen olarak sınıflandırılmaktadır (De Graaf ve ark 1999, O'Hara ve Chen 2011). Parazitin yerleştiği ve konak hücre orjinli bölgeye parazitoforoz vakuölü adı verilmektedir (O'Hara ve Chen 2011).

Enfeksiyon genel olarak fekal-oral yolla bulaşmakta, özellikle de dışkıdaki ookistlerin ağız yoluyla alınmasıyla oluşmaktadır (Rommel ve ark 2000, Tzipori ve Ward 2002, Hamnes ve ark 2006, Coklin ve ark 2009). Bunun yanı sıra kontamine yersuları ve rasyonlar da enfeksiyona önemli kaynak olabilmektedir (Hamnes ve ark 2006, Divers ve Peek 2008, Coklin ve ark 2009). Plastik ya da kauçuk iyi dezenfekte edilemeyen materyal ile ookistler başka hayvanlara bulaşabilmektedir (Bopp 2003). Genellikle çiftlik atıkları, çevrenin ookistlerle kontamine olmasında en önemli neden olarak gösterilmektedir (Tzipori ve Ward 2002).

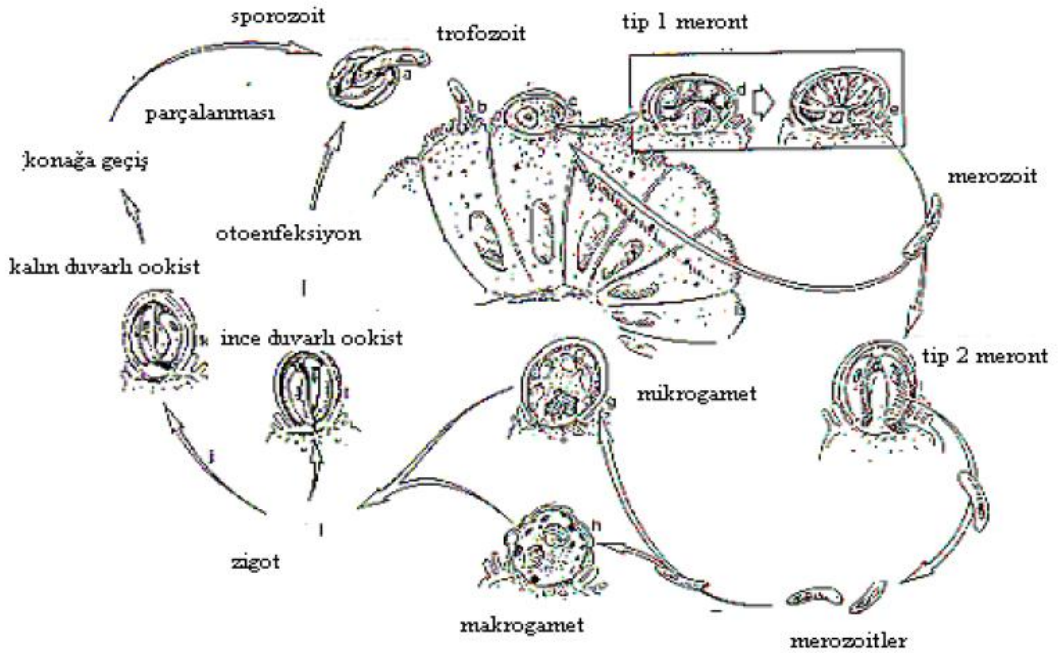
*Cryptosporidium* türlerinin yapısı biyolojik siklusa göre değişmektedir. Buna göre; merogoni, gametogoni, döllenme, ookistli duvar oluşumu, sporogoni ve sporozoitlerin bağırsakta serbest kalması (ekskistasyon) gibi altı farklı olay şekillenmektedir (Rommel ve ark 2000, Gookin ve ark 2002, Tzipori ve Ward 2002, O'Handley ve Olson 2006, Foster ve Smith 2009, O'Hara ve Chen 2011).

Ekskistasyondan sonra hareketli ve enfektif sporozoitler serbest kalmakta ve barsak boşluğuna dökülmektedir (Şekil 1.1.). Serbest kalan sporozoitler konağın epitel hücreleri (enterosit) içine girmektedirler. Bu hücrelerin mikrovillus bölgesinde parazitofor vakuoller içinde trofozoitlere (tek nukleuslu merontlara) dönüşmekte ve daha sonra eşeysiz olarak (merogoni) çoğalarak Tip 1 merontları oluşturmaktadırlar. Tip 1 merontlar 6-8 çekirdekli ve her birinden 6-8 merozoit oluşur. Bu merozoitler yeni hücrelere girerek tekrar eşeysiz çoğalma ile Tip 1 merontları veya Tip 2 merontları oluşturmaktadırlar. Tip 2 merontlardan oluşan merozoitler ise yeni bir döngü oluşturmazlar. Bunlardan oluşan

merozoitler mikrogametosite, sonra mikrogamete, bazı merozoitler ise makrogametosite sonra makrogamete dönüşürler. Kamçısız, fakat hareketli mikrogamet, makrogameti döller ve sonucunda zigot oluşur (Şekil 1.2.).

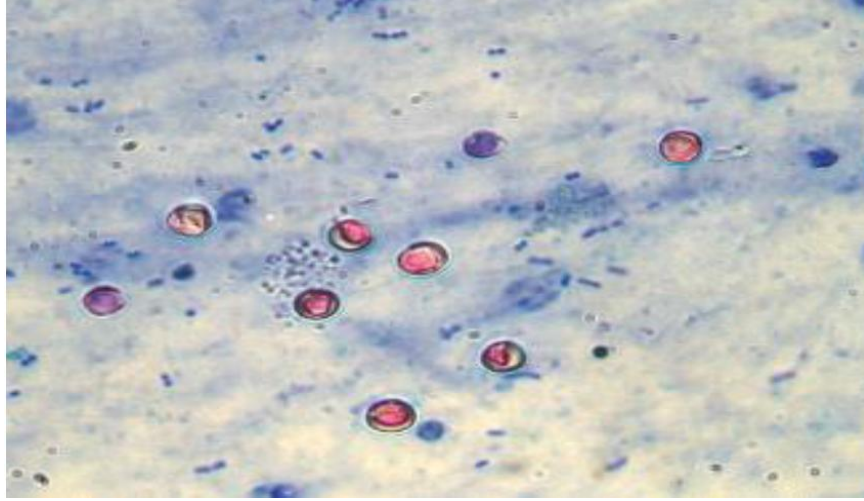


Şekil 1.1. Ookistlerin parçalanmasıyla serbest kalan enfektif sporozoitler (Özcel 2007)



Şekil 1.2. Cryptosporidium'un biyolojik siklusu ve evrelerinin şekilleri (Goldoft ve Todd 2008)

Zigot duvarının kalınlaşmasıyla parazitin bir konaktan diğerine bulaşmasını sağlayacak olan, dış çevre koşullarına dayanıklı ookist oluşmaktadır. Ookistler, 4-6 µm büyüklüğünde oval yapılardır. Ookistlerin %80'i kalın çeperli, %20'si ince çeperlidir (Şekil 1.3.).



**Şekil 1.3.** *Cryptosporidium*'un ookisti (x1000 büyütme, Modifiye Asit-Fast Boyama) (Elgün 2009)

İki-altı günlük prepatent süre sonunda bu sporlanmış ookistlerin büyük çoğunluğu dışkı ile dışarı atılırken, bir kısmı da hayvanda otoenfeksiyon oluşturmak üzere bağırsaklarda kalır. Kalın çeperli ookistler dışkı ile dışarı atılır ve yeni konaklarda enfeksiyonun bulaşmasını sağlarlar. İnce çeperli olan ve bağırsaklarda kalan ookistler açıldığında sporozoidler serbest kalır ve siklus yeniden başlar. Dışkıdaki ookistler uzun süre dış ortamda değişmeden enfektif şekilde kalabilirler (Rommel ve ark 2000, Gookin ve ark 2002, Tzipori ve Ward 2002, Foster ve Smith 2009, O'Hara ve Chen 2011).

İnce çeperli ookistler tarafından oluşturulan otoenfeksiyon, yeni doğanlarda kaşeksi ve ölüme kadar varabilen klinik bulgulara yol açar. Bu şiddetli klinik tablo 3-14 gün arası yavrularda sık görülür (Olson ve ark 2004, Hamnes ve ark 2006, Radostitis ve ark 2007).

Bu etkenlerin diğer organlarda ekstraintestinal fazi olmakla birlikte, genellikle gastrointestinal kanalda enfeksiyonlara yol açarlar (Tzipori ve Ward 2002).



### 1.1.1.2. Epidemiyoloji

Cryptosporidiosis, dünya genelinde neonatal buzağılarda yaygın görülen, ishallere neden olan bir hastalıktır. Sığırlarda etkenin görülme sıklığı, başlıca ırk, yaş grubu ve tanısal yöntemlere göre değişmektedir. Santín ve Trout (2008), farklı ülkelerde, etçi ve sütçü ırklarda değişik yaş gruplarında moleküler olmayan yöntemlerle prevalansın % 3,5-86 arasında değiştiğini rapor etmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda da prevalansın dünya genelindeki yapılan çalışmalara paralellik gösterdiği görülmektedir (Aştı ve ark 2012).

Benzer çalışmalarda, etçi sürülerde görülme oranının %3-25, sütçü sürülerde ise % 100'e yakın olduğu bildirilmektedir (Jäger ve ark 2005, Gow ve Waldner 2006, O'Handley ve Olson 2006). Etçi ırkların doğum periyotlarının genellikle ilkbahar aylarına rastlamasına karşın, sütçü ırkların yılın her mevsiminde doğum yapmaları, bu etkenin sütçü ırklarda daha fazla oranda görülmesinin bir nedeni olduğu ileri sürülmektedir. Bu nedenle etçi ırkların kısa yavrulama periyodu nedeniyle sütçü ırklara oranla daha kısıtlı süre bulaşma riskinin bulunması normal kabul edilebilir. Etçi ırklar genellikle daha geniş alanda serbest, sütçü ırklar ise kontrollü olarak daha kısıtlı alanda barındırılmaktadır (Olson ve ark 2004). Ayrıca etçi sığır ırklarının sütçü ırklara kıyasla düşük prevalans göstermesi, etçi ırklarda daha düşük etken sirkülasyonunun ile ilişkilendirilmiş, ancak bir çalışmada aynı koşullarda barındırılan etçi ve sütçü ırkların prevalanslarında anlamlı farklılık görülmemiştir (Kaufmann ve ark 1996, Jäger ve ark 2005).

Hastalığın oluşması veya oluşturulması için alınması gereken ookist sayısı, bireysel duyarlılık ve konakçı direncine bağlı olarak oldukça farklılık göstermektedir. Duyarlı ya da immunsupresif hayvanlar düşük ookist dozlarında (10 ookist) bile enfeksiyona yakalanabilirler (Divers ve Peek 2008, O'Hara ve Chen 2011). Enfektif bir hayvan 1 gram dışkı ile milyonlarca ookist saçması enfeksiyonun hızla yayılıp bir sürü problemi haline gelmesini kolaylaştıran bir faktördür (De Graaf ve ark 1999, Hammes ve ark 2006, Divers ve Peek 2008). Enfektif doza ek olarak, ookistlerin yüksek koruyucu özellikli karbonhidrat duvarına sahip olması ile çevresel etkilere karşı çok dirençli olması enfeksiyonun yayılımında önemlidir (Rommel ve ark 2000, Bopp 2003). Ookistler 4 °C çevre sıcaklığı ve yüksek nemde 6 ay canlı kalabilmekte, yalnızca -18 °C nin altında ve 65 °C nin üzerindeki çevre sıcaklığında tahrip olmaktadır (Rommel ve ark 2000). Suların standart klorlanması ookistlerin yok olmasını sağlamamakta, bu nedenle içme suları ile bulaşma

insan ve hayvanlar için önem taşımaktadır (Betancourt ve Rose 2004, Olson ve ark 2004, Ramirez ve ark 2004).

Enfeksiyonun mevsimsel bir insidans artışının olup olmadığı araştırılmış, ancak mevsimler arasında önemli bir farklılık belirlenememiştir. Bununla birlikte bazı ülkelerde kış aylarında kapalı alanda barındırılan hayvanlarda *Cryptosporidiosis* daha yaygın görüldüğü bildirilmektedir (Hamnes ve ark 2006, Radostits ve ark 2007).

### **1.1.1.3. Patogenez**

*C. parvum* özellikle distal ince bağırsakları (ileum ve jejunum) etkilemekte, proksimal ince bağırsaklarda ve kalın bağırsakların bir bölümünde de bulunabilmektedir. Özellikle hücrelerin apikal kısımlarına kolonize olmaktadır. Etkenler genellikle derin mukozal katmanlarda bulunmaz. Bu nedenle sıklıkla minimal invaze mukozal patojen olarak sınıflandırılır (Laurent ve ark 1999).

Etkilenen hayvanların bağırsaklarındaki patolojik değişiklikler; parazitivorus vakuolün yırtılması sonucunda merozoitlerin serbestlenmesi ve diğer enterositlere yayılması sonucu gelişir (Divers ve Peek 2008). Bu değişiklikler; villus atrofi, villus erimesi, kript hiperplazisi, yangısal infiltrasyon ve mikrovillusların dejenerasyonunu kapsamaktadır (Koudela ve Jiří 1997, McCole ve ark 2000, Gookin ve ark 2002, O’Handley ve Olson 2006).

Şiddetli villus atrofinin, enterositlerdeki villusların kaybı sonucu şekillendiği düşünülmektedir. Bağırsaklarda koruma bariyeri oluşturan villusların yok olması ile bariyer bozulmakta ve kaybedilen epitel hücre ve villusların yerine konması için kriptlerde hiperplazi gelişmektedir (Gookin ve ark 2002, Tzipori ve Ward 2002, Foster ve Smith 2009). Fakat şiddetli enfeksiyonlarda epitel bariyerin yırtılması gözlemlenebilmektedir. Parazitin bağırsak villuslarının fırçamsı kenarlarına invaze olması nedeniyle ince bağırsak mukozasının fonksiyonları bozulmaktadır. Bu durum sadece ince bağırsak mukozasında fonksiyon kaybından değil, aynı zamanda enzim aktivitelerindeki bozulma, peptid ve disakkaritlerin yıkılması ile besin ve elektrolit transportundaki azalmadan ileri gelmektedir (Rommel ve ark 2000, Gookin ve ark 2002, Tzipori ve Ward 2002, O’Handley ve Olson 2006).

*Parazitivorus Vakuolün Oluşumu ve Tutunması:* Ekskistasyondan sonra parazit konakçı hücreye tutunur ve *Cryptosporidium* sporozoidlerinin apikal kompleks

(mikronemler, roptrieller ve dense granülleri) veya yüzeylerindeki bir çok proteinin etkisi ile parazitivorus vakuol formasyonu uyarılır (Gookin ve ark 2002, O'Hara ve Chen 2011).

Parazitivorus vakuolunun oluşumu, tutunması ve invazyonu çok karmaşık bir mekanizmayla oluşmaktadır. Yeni gelişmelerde bu mekanizmadan sorumlu birçok yüzey ve apikal kompleks proteinleri belirlenmiştir. Bu proteinlerin bu mekanizmalardan kısmen sorumlu olduğu düşünülmektedir. (Tzipori ve Ward 2002). Başarılı bir tutunmadan sonra internalizasyon şekillenmekte ve daha sonra parazit konak hücre membranına invaze olmaya başlamaktadır. Konak hücrenin tutunma bölgelerine parazit roptri ile temas eder ve mikronemler ve dense granülleri birleşme bölgesine göç eder. Parazit kanal benzeri bir görünüme ulaşır ve parazitin sitoplazması vakuollü bir görünüm kazanır. Bu vakuollü form konak hücre tarafından kapsülленir (O'Hara ve Chen 2011).

Sporozoidler konak hücre tarafından benimsenmekte ve parasitovorus vakuollü oluşmaktadır (çift membranlı- intrasellüler ekstrasitoplazmik yerleşimli). Parazit-konak ara yüzünde, polimerize aktinli elektron-dense yapısı meydana gelmektedir (O'Hara ve Chen 2011). Hücrenin aktin dalları oluşturdukları sinyaller ile epitel membrandan parazite su, sodyum, glikoz geçişini sağlarlar. (O'Hara ve Chen 2011).

Cryptosporidiosisin neden olduğu ishalin hem malabsorbsiyon hem de sekretorik mekanizması bulunmaktadır (Laurent ve ark 1999).

*Malabzorptif İshal:* Patojenin doğrudan etkisi ya da konak hücrelerin enfeksiyonu sınırlaması sırasında hücre kaybı gelişebilir (Foster ve Smith 2009). *C. parvum* enfeksiyonunda hücre kaybına yol açan çok sayıda olası mekanizma vardır. İlk önerilen mekanizma, bağırsak epitelinde *C. parvum*'un doğrudan sitotoksik etkisi (laktat dehidrojenaz enziminin uyarılması) sonucu oluşmaktadır. Günümüzde ise bu teori güncel literatürler tarafından desteklenmemekte ve tartışmalı kabul edilmektedir (Laurent ve ark 1999, McCole ve ark 2000, Gookin ve ark 2002, Foster ve Smith 2009).

İkinci ve daha kabul gören mekanizma; apoptosize (programlı hücre ölümü) bağlı hücre kaybının olması ile açıklanmaktadır. Bu teori *in vivo* ve *in vitro* ortamdaki deneylerde apoptotik hücreler bulunması ile desteklenmiştir. Son yıllardaki çalışmalara göre, apoptosiz, parazitin değişik gelişim aşamalarında aktive edilir ya da engellenir. Enfeksiyonun erken döneminde apoptosiz engellenirken, enfeksiyonun geç döneminde apoptosiz artar ve aktive olmaktadır (McCole ve ark 2000, Foster ve Smith 2009, O'Hara

ve Chen 2011). Mele ve ark (2004), enfeksiyonun ilk saatlerinde sporozoidlerin invazyonu sonucu apoptozisin tetiklendiği, takibeden ilk 24 saatte içinde ise apoptozisin inhibe edildiğini göstermişlerdir. Enfeksiyondan 48 saat sonra ise apoptozisin tekrar aktive olduğunu bildirmektedir. Chen ve ark (2001) *Cryptosporidium*'ların aktif olarak enfekte hücreleri yıkılmadan korumak için enfekte hücrelerden salgılanan nüklear faktör-kappa B sekresyonu ile apoptozisi inhibe ettiğini ileri sürmektedir. Ayrıca interlökin-8 salınımının yangısal reaksiyonu genişlettiği belirtilmektedir.

Ojcius ve ark'nın (1999) çalışmalarına göre, enfektif hücrenin kaspaz bağımlı apoptosizinde *Cryptosporidium* rol almaktadır. Bu mekanizma konak hücrenin *C. parvum* enfeksiyonunu sınırlandırmak istemesi olarak yorumlanabilir ya da parazitin konak hücreden çıkışına yardım eden bir olay olarak değerlendirilebilir. Bu gelişmelere göre apoptozisin regülasyonunun konak (parazitin yayılımının sınırlandırılması, hücre kaybının boyutunun azaltılması ve/veya konaktaki parazitin yoğunluğunun azaltılması) veya parazit (intraselüler lokalizasyonunun korunması) için yararlı olabileceği düşünülebilmektedir (Gookin ve ark 2000, McCole ve ark 2000, Chen ve ark 2001, Mele ve ark 2004, Foster ve Smith 2009, O'Hara ve Chen 2011).

*Sekretorik İshal:* Malabsorbsiyon mekanizmasına ek olarak, prostaglandin (PG) kökenli sekretorik mekanizma anyonların sekresyonu ve nötral sodyum klorür absorpsiyonunun inhibisyonu ile ishali gelişmesinde rol oynamaktadır. PGE<sub>2</sub> ve PGI<sub>2</sub> olmak üzere iki tip prostaglandin tanımlanmıştır. Bu prostaglandinler büyük ihtimalle *Lamina propria*'ya infiltre, mezensimal hücreler tarafından prostaglandin sekresyonunu uyaran makrofaj orijinlidirler. Ayrıca nitrik oksitin prostaglandin kökenli sekresyonun stimülasyonunda rol oynadığı ve *Cryptosporidium*'a karşı savunmada önemli olduğu düşünülmektedir. Fakat bu mekanizma tam olarak bilinmemektedir (Laurent ve ark 1999, Gookin ve ark 2002, Foster ve Smith 2009).

PGE<sub>2</sub> ve PGI<sub>2</sub> farklı bölgelerde etkilidirler. PGE<sub>2</sub> doğrudan enterositler üzerine etkili iken, PGI<sub>2</sub> enterik sinir sistemini etkileyerek dolaylı etki gösterir. *C. parvum* enfeksiyonlarında salgılanmanın %75'ni PGI<sub>2</sub>'nin etkisi ile ilişkilendirilmektedir. PGI<sub>2</sub> intestinal mukozanın innervasyonundan sorumlu olan nikotinik gangliyonları stimüle etmektedir (Laurent ve ark 1999, Foster ve Smith 2009). Sonunda prostaglandin sekresyonu, sodyum emilimini azaltan ve anyon sekresyonunu arttıran kalsiyum ve siklik adenozin monofosfor salınımını stimüle eder (Gookin ve ark 2002). İnterferon-gama ve

tümör nekrozis faktör-1 tüm epitel hücrelerin permeabilitesini arttırarak bu mekanizmalara katkıda bulunmaktadır. Bu sekretorik mekanizma enfeksiyon tarafından konak immunitesiyle ilgili süreçlerin tetiklenmesine dayanır (Laurent ve ark 1999).

Buzağılarda *C. parvum* diğer enfeksiyöz ajanlarla birlikte miks seyredebilir (De LaFuente ve ark 1999, Kaske ve Kunz 2003, Radostits ve ark 2007). *E. coli*, *Salmonella sp.*, *Rotavirus* ve *Coronavirus* gibi etkenler bağırsaklarda lezyonlara sebep olmakta ve bu sayede *C. parvum* lezyonlu bağırsak epitelinden kolaylıkla girerek çoğalmaktadır (Divers ve Peek 2008). *C. parvum*, diğer etkenlerin sebep olduğu ishali şiddetlenmesine ve klinik tablonun kötüleşmesine yol açmaktadır (Rommel ve ark 2000). Özet olarak, bu hastalıktaki klinik bulgular maldigesyon, malabsorbsiyon ve osmotik etkiyi kapsayan miks mekanizmaya bağlı olarak şekillendiği düşünülmektedir (malabsortif ve sekretorik diyare) (Divers ve Peek 2008). Bu mekanizmalar henüz tam olarak açıklanamamıştır ve hem konak hem de parazitten kaynaklanan faktörlerden köken aldığı bildirilmektedir (O’Handley ve Olson 2006).

#### **1.1.1.4. Klinik Bulgular**

Buzağılarda *C. parvum* enfeksiyonunun klinik bulguları spesifik olmadığı için viral ya da bakteriyal etkenlerin yol açtığı ishallerden ayrımı kolay olmamaktadır. Cryptosporidiosis diğer enfeksiyöz ajanlarla kıyaslandığında (*E. coli*, *Rotavirus* ve *Coronavirus*), daha erken oluşmakta ve daha kısa sürmektedir (Blume 2007). Klinik enfeksiyondaki bulgular; ishal, dehidrasyon, abdominal ağrı, iştahsızlık ve depresyondur (De Graaf ve ark 1999, Olson ve ark 2004, O’Handley ve Olson 2006, Divers ve Peek 2008, Kvač ve ark 2011). Klinik bulgular 3-30 günlük buzağılarda görülmekte (Santin ve ark 2004, Fayer ve ark 2006), en sık 5-14 günlük yaştaki buzağılarda rastlanmaktadır (Rommel ve ark 2000, Kaske ve Kunz 2003, Olson ve ark 2004, O’Handley ve Olson 2006, Thompson ve ark 2008). Dört haftalıktan büyük buzağılarda enfeksiyon nadiren görülmekte ve çok şiddetli klinik tabloya neden olmamaktadır (Rommel ve ark 2000, Hamnes ve ark 2006). Farklı ülkelerde yapılan çalışmalar enfeksiyonun süten kesim öncesi, süten kesim sonrasına oranla daha fazla görüldüğünü ortaya koymaktadır (De La Fuente ve ark 1999, Santin ve ark 2004, Mendonça ve ark 2007, Imre ve ark 2011, Muhid ve ark 2011).

Parazit öncelikli olarak ince bağırsağın distal bölümüne yerleşmekte ve sonrasında diğer bağırsak bölümlerine yayılabilmektedir. Etkenin ince bağırsakların proksimal

kısmına kolonize olduğunda ishal oldukça şiddetli ve sulu iken, bağırsakların distal kısmına yerleşiminde enfeksiyon asemptomatik seyredabilmektedir (Tzipori ve Ward 2002). Daha önceden etkenle karşılaşan hayvanların enfeksiyonu hafif atlattığını bildirilmektedir (Harp ve ark 1990, Coklin ve ark 2009).

Gelişen ishal; sarımsı-yeşil, kötü kokulu ve mukuslu dışkı ile karakterizedir (Kaufmann ve ark 1996, De Graaf ve ark 1999, Rommel ve ark 2000, Olson ve ark 2004, O’Handley ve Olson 2006, Radostits ve ark 2007, Thompson ve ark 2008). İshalle birlikte anoreksi gelişmekte ve çoğunlukla böyle hayvanlarda gelişme geriliği ortaya çıkmaktadır (De Graaf ve ark 1999).

İshalle birlikte çevreye ookist atılmaktadır. Ookist atılım periyodu; konakçının yaş ve bağışıklık durumu gibi faktörlere bağlıdır. Genellikle etkenin alınmasından 5-6 gün sonra dışkı ile maksimum ookist saçılımı olurken, etkenin alınmasından 10-15 gün sonra ookist atılımı hızla düşmeye başlar (De Graaf ve ark 1999, Hamnes ve ark 2006, Radostits ve ark 2007). Ancak klinik bulgular geçtikten aylar sonra bile ookist atılımı olabilmektedir (De Graaf ve ark 1999, Tzipori ve Ward 2002). Harp ve ark (1990), hastalığı atlatan hayvanlarda 3 ay sonra klinik bulguların tamamen düzeldiğini ve ookist atılımının durduğunu rapor etmektedirler.

Cryptosporidiosisde 3 haftalıktan küçük hayvanlarda morbidite %50’den yüksek olmasına karşın, yeterli sıvı sağaltımı ve sekonder enfeksiyonların engellenmesi ile mortalite çok yüksek değildir (Divers ve Peek 2008). Bu durum da ölüm nedeni doğrudan etkene değil, etkenin neden olduğu şiddetli ishale bağlı dehidrasyonla açıklanmaktadır (Kaske ve Kunz 2003). Bazı vakalarda, cryptosporidiosis şiddetli dehidrasyona neden olmakta ve buna eşlik eden metabolik asidoz ve kardiyovasküler kollaps sonucu ölüme yol açabilmektedir (O’Handley ve Olson 2006, Radostits ve ark 2007, Thompson ve ark 2008).

*Cryptosporidium*’un tek başına olduğu enfeksiyonlarda, hayvan çok güçsüz ve çevredeki enfektif ookist miktarı çok yoğun değil ise, konakçı genellikle bu etkenin çoğalmasını sınırlandırır ve enfeksiyon daha hafif atlatılır (Kaufmann ve ark 1996, Divers ve Peek 2008). Bu tablo bakım koşulları iyi olan hayvanlarda görülür (Divers ve Peek 2008). Buzağılarda *C. parvum* bazen *E. coli*, *Salmonella spp.* *Rotavirus* ve *Coronavirus* gibi etkenler ile birlikte miks enfeksiyon oluşturabilir (De La Fuente ve ark 1999, Kaske ve

Kunz 2003, Radostits ve ark 2007). Miks enfeksiyonlarda oluşan klinik tablo; asidoz, elektrolit dengesizliği, dehidrasyon ve oluşan dizanteriye bağlı olarak şiddetlenir.

#### **1.1.1.5. Tanı**

Neonatal buzağı ishallerinin ayırıcı tanısında cryptosporidiosis mutlaka dikkate alınmalıdır (O'Handley ve Olson 2006). Cryptosporidiosisin varlığını belirlemek için, dışkı analizi ve postmortem bağırsak mukozasının incelenmesi olmak üzere iki temel tanısal metot kullanılmaktadır (Rommel ve ark 2000). Her iki yöntemde mikroskopta ookistlerin görülmesi ile tanı gerçekleştirilmektedir (Divers ve Peek 2008). Klinik olarak etkilenmiş hayvanlarda; atılan ookistlerin sayısının yüksek olması nedeniyle dışkıda kolaylıkla ookistler belirlenebilmektedir (Tzipori ve Ward 2002).

Mikroskopik inceleme öncesi ookist konsantrasyonunun artırılması için doymuş şeker çözeltisinin kullanılması yaygın bir metoddur. Diğer kullanılan metot ise çinko klorür-sodyum klorür solüsyonu ya da diğer tuzlarla flotasyon yöntemidir (Rommel ve ark 2000, O'Handley ve Olson 2006, Radostits ve ark 2007, Thompson ve ark 2008). Normal ışık mikroskopunda, arka plandaki ookist olmayan maddelerden ookistlerin ayrılması ve belirlenmesi kolay değildir. Faz kontrast mikroskobu ookistlerin belirlenmesi için alternatif olabilmektedir (Radostits ve ark 2007). Örnek konsantre edildikten sonra, boyama yöntemi ookistlerin tanınmasına yardımcı olmak için uygulanabilir. Bunun için Ziehl-Neelsen Tekniği, Safranin-Methylene Blue Boyaması, Kinyoun Boyaması, Dimetil sülfoksit Karbol Fuchsin Boyaması kullanılabilir. Bu yöntemlerin hepsi ookistleri çevreleri parlak kırmızı renge boyar. Bu boyama yöntemleri oldukça yararlıdır, fakat uzun zaman gerektiren bir uygulamadır (Fayer ve ark 2000, Rommel ve ark 2000, Tzipori ve Ward 2002). Ookistler oval, 4-5 µm boyutunda, interiorunda bulunan 2-4 sporozoid nükleusu içeren yapılar olarak görülür. Bu şekilleriyle dışkı partiküllerinden ve diğer mikroorganizmalardan kolaylıkla ayrılırlar (Rommel ve ark 2000, Tzipori ve Ward 2002, O'Handley ve Olson 2006). Nigrosin ile negatif boyamada, ookistler haricindeki tüm arka plan açık yeşil merbromide ve malaşit yeşile boyanarak ookistlerin tanınması sağlanabilir, ancak çok güvenilir değildir (Fayer ve ark 2000).

Postmortem metotta, taze doku örnekleri alınıp metanol ile tespit edilerek, Giemsa (%10'luk solüsyona 30 dk) ve HE boyama olmak üzere iki alternatif yöntemle boyanır (Rommel ve ark 2000). Parazitin identifikasyonunda immunolojik metotlar da kullanılmaktadır. Bu metotlar; Poliklonal Floresan Antikor Testi, Latex Aglutinasyon

Reaksiyonu, Monoklonal Antikorlu Immun Florasan, Enzim Linked İmmunosorbent Antikor Testi (ELISA), Reverse Pasif Haemaglutinasyon, İmmunokromatografidir (Fayer ve ark 2000). Bu immunolojik metodlar oldukça kullanışlıdır, fakat yüksek maliyetleri rutin kullanımını sınırlandırmaktadır (Tzipori ve Ward 2002, O'Handley ve Olson 2006). Koproantijen temelli ELISA kitleri Cryptosporidiosisin tanısında daha spesifik ve duyarlıdır. Ancak insan hekimliğinde daha fazla kullanım olanağı bulmuştur (Garcia ve Shimizu 1997, Thompson ve ark 2008).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve diğer genetik teknikler, *Cryptosporidium* türlerinin ayırımında kullanılabilen ve epidemiyolojik çalışmalarda değer taşımaktadırlar (Tzipori ve Ward 2002, Divers ve Peek 2008). PZR yüksek sensiviteye sahip, güvenli ve hızlı uygulanan bir metoddur, ancak çevresel faktörlerden (kontaminasyon) etkilenerek yanlış pozitif sonuçlar verebilir (Fayer ve ark 2000).

Bazı örneklerin boyanmasında canlı boyalar (propidium iodide ve 4,6, diamino- 2'-phenylindole ) kullanılır. Yaşama gücü FISH yöntemi ile test edilebilir ve hücre kültürü real time-PZR tarafından takip edilir (Fayer ve ark 2000). *Cryptosporidium* çoğunlukla bakteriyel ve viral enfeksiyonlarla miks seyreder. Bu nedenle *C. parvum* tanısı doğrulanırsa, bakteriyel ve viral enfeksiyonların varlığı da araştırılmalıdır (Divers ve Peek 2008).

Parazitin yaşam siklusu *in vitro* ortamda kısıtlı şekilde görülür. Bu nedenle genellikle konaktan pasajlama yapılır ( Tzipori ve Ward 2002, O'Hara ve Chen 2011). Hayvan modellerinin enfeksiyonları tarafından intestinal ksenograft yöntemi kullanılabilir (Laurent ve ark 1999). Kısacası, İmmunfloresans, ELISA ve PZR yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip tanı teknikleridir. Ancak nadir kullanılır. Rutin tanıda temel olarak mikroskopik incelemeden yararlanır (Divers ve Peek 2008). Fonseca'ya (2000) göre, en etkili tanı metodu ELISA tekniğidir. Ayrıca sonuçlar dışkı örneklerinin Ziehl-Neelsen boyaması ile mikroskopik incelenmesi ile doğrulanabilir.

#### **1.1.1.6. Sağaltım ve Korunma**

*Cryptosporidium parvum* ekstrasitoplazmik parasitovorus vakuolu içinde bulunduğu için ilaçların etkilemesi oldukça zordur. Uygulanan ilaçlar genellikle ya hücrelere penetre olmadan bağırsak lümeninden geçmekte ya da hücrenin sitoplâzmasında birikmektedir (Tzipori ve Ward 2002, Foster ve Smith 2009). Sağaltımın, sadece ilacın hücrenin



sitoplâzmasına ve parasitovorus vakuolune penetre olduğunda veya etkilenen hücrenin yıkımlanmasının tamamlanmasında başarılı olabileceği belirtilmektedir (Tzipori ve Ward 2002).

*C. parvum* enfeksiyonunun sağaltımı için birçok ilaç denenmiş olmasına rağmen tam bir parazitolojik iyileşme sağlanamamıştır (Shadiduzzaman ve Dausgies 2012). Terapötik ve profilaktik amaçla insanlarda ve hayvanlarda cryptosporidiosis'e karşı yüzlerce madde denenmiş, ancak etkili birkaç madde bulunmuştur. Bu maddelerin de toksik veya yan etkileri nedeniyle kullanımında belirli sınırlamalar bulunmaktadır. Lasalocid, ionofor koksidiostatiktir ve *C. parvum*'a karşı etkilidir. Ancak terapötik ve toksik dozu konusunda farklı bildirimler bulunmaktadır. Göbel (1987), Lasalocid Na'un akut cryptosporidiosisli buzağılara günde bir kez 3 gün süreyle 15 mg/kg dozda verildiğinde etkin olduğunu ve herhangi bir yan etkisinin olmadığını bildirirken, Pongs (1989) belirtilen etken maddenin aynı doz ve uygulama şeklinde toksik olduğunu belirtmektedir. Kaufmann (1996) buzağılar için 100 mg/kg/gün 11 gün Lasalocid sodyumun buzağılar için toksik etkili olduğunu bildirmektedir. Ayrıca büyüme destekleyici olduğu için Avrupa'da kullanımına da izin verilmemektedir (Rommel ve ark 2000).

Deneysel enfekte buzağılarda paromomisin'in profilaktik uygulamasının ookist atılımını inhibe ettiği, ishallin süresini azalttığı (Fayer ve Ellis 1993, Viu ve ark 2000), ancak ilacın bırakılması ile ishal ve ookist atılımının devam ettiği ve hastalıkta azalmanın sağlanamadığı (Grinberg ve ark 2002) bildirilmektedir.

Makrolit grubu bir antibiyotiklerden olan azitromisin'in 1500 mg/buzağı/gün (1-2 g/buzağı 7 gün boyunca oral, 30-40 mg/kg/gün) dozunda ookist atılımına, klinik bulgulara, kilo kazanımına ve mortaliteyi düşürmeye pozitif etkili olduğu bildirilmektedir. Bu ilacın etkileri hem antimikrobiyal, hem prokinetik olarak görülmektedir (Elitok ve ark 2005).

Nitazoksanid köpek, kedi, koyun ve keçilerde antiparaziter sağaltım için uygulanmış antimikrobiyel bir maddedir. Nitazoksanid, çocuklar ve yetişkinlerde cryptosporidiosis ve giardiasis sağaltımı için FDA onaylıdır (Schnyder ve ark 2009). *İn vitro* çalışmalarda ve fare modellerinde cryptosporidiosisde etkili bulunmuştur. Hayvan modellerinde parazit sayısını azaltmış; ancak parazitolojik kür sağlanamamıştır. İshalli buzağılarda profilaktik ve terapötik olarak kullanılan nitazoksanid'in ne ookist atılımını ne

de hastalığın klinik şiddetini azaltması üzerine pozitif bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (Schnyder ve ark 2009).

Avrupada yasal olarak kullanılan tek ilaç halofuginon laktat'tır (Kaske ve Kunz 2003). Bu madde, quinazoline grubu içinde yer alır ve etkisi henüz tam olarak bilinmemektedir. Halofuginon sağaltımının sonuçları üzerine raporlar tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda buzağılarda ookist atılımını ve ishali önemli ölçüde azalttığı (Joachim ve ark 2003) ve mortalitenin düştüğü (Naciri ve ark 1993) bildirilirken, diğer çalışmalarda halofuginon'un ishal veya dehidrasyon düzeyleri üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı bildirilmektedir (Lallemand ve ark 2006). Bu ilaç ilk 7 günlük buzağılarda kullanım için ruhsatlıdır (Koch 2004, Foster ve Smith, 2009). Süt alımından sonra 60-120 µg/kg/gün dozunda verilmekte (Kaufmann ve ark 1996, Kaske ve Kunz 2003, Radostits ve ark 2007) veya en az 500 ml süt ile ya da süt ikame yemi ile karıştırılmaktadır (Rommel ve ark 2000). Halofuginon sorun olan işletmelerde profilaktik olarak yaşamın ilk 24-48 saati kullanılabilir. Hasta olan hayvanlar ishalin başlamasından en geç 24 saat sonra sağaltılabilir (Kaske ve Kunz 2003). Genellikle ookist atılımı halofuginon uygulaması boyunca azalır, fakat kullanımı kesildikten sonra tekrar başlamaktadır. Bu da ilacın cryptosporidostatik olduğunu göstermektedir. (Naciri ve ark 1993, Divers ve Peek 2008). Bir halofuginon laktat preparatı olan Halocur, zayıf ve dehidre hayvanlarda potansiyel nefrotoksik olarak görülmektedir. Halofuginon'un resmi bilgilendirme formunda boş mideye ve 24 saatten uzun süren ishal durumlarında kullanılmaması gerektiği bildirilmektedir. Halofuginon'un nispeten toksik olduğu bilinmekte ve bu durum ayrı bir sakınca doğurmaktadır (Villacorta ve ark 1991, Rommel ve ark 2000, Kaske ve Kunz 2003). Çiftlik çalışanlarında deri alerjisi yaygındır. Sonuç olarak uygulama süresince eldivenle çalışılmalıdır. Çevre için de aynı ölçüde tehlike oluşturur. Çünkü akuatik flora ve fauna için tehlikeli olabilir. Ayrıca kesinlikle akarsu, su kanalı gibi sulara karışımı engellenmelidir (MSD Animal Health 2009).

Yalnızca profilaktik amaçlı ya da patent periyodun ilk saatlerinde kullanıldığı için halofuginon uygulamasının cryptosporidiosisli buzağuların sağaltımında tamamen etkili ve spesifik olduğu ile ilişkili bir bilgi yoktur.

Decoquinate oğlak ve kuzularda pozitif etkili iken, buzağılarda ookist atılımı veya ishalin azaltılması üzerine olumlu bir etkisinin olmadığı bildirilmektedir (De Graaf ve ark

1999, Lallemand ve ark 2006, O’Handley ve Olson 2006,). Bu nedenle buzağılarda önerilmemektedir (Moore ve ark 2003).

*Cryptosporidium parvum* antibiyotik ve standart koksidiostazlara karşı dirençli olduğundan kullanılmaları önerilmez. Ancak bakteriyel enfeksiyonlarla miks seyrettiğinde antibiyotik kullanılmalıdır (Divers ve Peek 2008).

Avrupa’da kullanımda olan ilaçların sekonder etkileri ve enfeksiyonun kendini sınırlandırması özelliği nedeniyle, cryptosporidiosis olgularında temel olarak nonspesifik ve destekleyici sağaltım tercih edilmektedir. Dehidrasyonun derecesine göre oral ve/veya paranteral sıvı uygulamaları temel alınmaktadır (Rommel ve ark 2000, Tzipori ve Ward 2002, Divers ve Peek 2008).

Bu parazit tarafından oluşturulan enfeksiyon genellikle sürü problemi olarak görülmekte (Rommel ve ark 2000) ve genellikle buzağılarda kontamine aletlerin tekrar kullanılması aracılığı ile bulaşma olmaktadır. Bu nedenle temel amaç, çiftlik hijyeninin sağlanmasıdır (Harp ve Goff 1998, Kaske ve Kunz 2003, Foster ve Smith 2009). Cryptosporidiosisde profilaksi, buzağuları dayanıklı hale getirilmesi ve ookistlerle temasın azaltılması ya da engellenmesi ile sağlanabilir (Harp ve Goff 1998, O’Handley ve Olson 2006).

Yaşamın ilk saatlerinde iyi kalitede kolostrum verilmesi, maternal antikorların alınıp pasif immunitenin oluşması açısından önemlidir. *Cryptosporidium*’a karşı kolostrumun yetersiz antikor taşıması ve doğum sırasında ya da yaşamın ilk döneminde hijyenin sağlanamaması riski arttırmaktadır (De Graaf ve ark 1999, O’Handley ve Olson 2006, Radostits ve ark 2007, Foster ve Smith 2009).

Etkilenen hayvanlar yoğun sayıda ookist atmaları nedeniyle, hasta olanlar acilen ayrılarak diğer hayvan ya da insanlara bulaştırmaları engellenmelidir (Kaufmann 1996, De Graaf ve ark 1999, Saini ve ark 2000, Bopp 2003).

Ookistlerin birçok dezenfektanlara karşı dirençli oldukları için, tehlike oluşturmayan en yüksek konsantrasyonda uygulanmalıdır. Ookist saçım döneminde ookistlerin her yerde bulunduğu düşünüldüğünde, buzağuların tamamen korunması mümkün görülmemektedir (Harp ve Goff 1998, De Graaf ve ark 1999, O’Handley ve

Olson 2006). Dezenfeksiyonda ookistlerin çok dirençli olduklarını göz önüne alınarak geniş spektrumlu dezenfektanlar tercih edilmelidir (Rommel ve ark 2000).

Dışkı imha edilmeli ve kontamine alanlar derhal temizlenmelidir. Buzağı kulübe ve barınaklarının, yüksek basınçlı sıcak suyla düzenli olarak yıkanması ve takibinde dezenfeksiyon yapılması gerekmektedir. Formalin gibi aldehit ve asitleri kapsayan bir çok ticari dezenfektan bulunmaktadır. En etkili dezenfektanların; %5-10 amonyak, %6 hidrojen peroksit, %70 sodyum hipoklorit veya %10'luk formalin olarak bildirilmektedir (Saini ve ark 2000, Bopp 2003) .

Ookistlerin yaşam süresini ve enfeksiyon yeteneğini sıcaklıktaki değişiklikler etkileyebilmektedir. Örneğin ookistler toprak, su ve dışkıda -4 ile 4 °C arasında 12 haftadan fazla süre yaşayabilirler. -70 °C derecedeki sıcaklık ookistleri 1, -20 °C derecedeki sıcak ise 24 saat içinde ookistleri inaktive eder. Ookistlerin 55 °C dereceye kadar ısıtılması ile enfeksiyon yeteneği 30 saniyede kaybolur. Bu durum 60 °C derecede 15 saniye, 70 °C ise 5 saniye olarak bildirilmektedir (Olson ve ark 2004).

Temizleme ve dezenfeksiyona ilaveten enfekte ookistlerin taşınması ve bulaşması için en iyi kontrol yöntemi dikkate alınmalıdır (Kaske ve Kunz 2003, Radostits ve ark 2007). Zoonotik karakterde olması çiftlik çalışanlarının da dikkatli davranmasını gerektirir. Özellikle buzağılarla ilgilendikten sonra kişisel hijyen sağlanmalı, eller ve çevre düzenli olarak temizlenmelidir. Bu sadece hayvanlar için değil, insan ve kamu sağlığı için de gereklidir (Harp ve Goff 1998). Ayrıca hayvanların immun sistemlerini güçlendirmek için vitamin A, D3, E, selenyum ve demir uygulamaları yarar sağlayabilir (Kaske ve Kunz 2003). *C. parvum*' a karşı aşı çalışmalarından henüz istenilen sonuçlar elde edilememiştir. Çalışmalar faz 2 aşamasına gelmiştir. Stres durumunda salgılanan kortizol ve kateşolaminler, bu hastalığa karşı direnci düşürür (Kaske ve Kunz 2003, Cortese, 2009). Bu nedenle hayvanların yaşamın ilk günlerinde stres faktörlerine maruz kalmaları engellenmelidir.

### 1.1.2. İz Elementler

Mineral maddeler katı kristal şeklinde ve basit kimyasal reaksiyonlarla sentezlenemeyen ya da parçalanmayan elementlerdir. Organizma tarafından ihtiyaç duyulan miktarlarına göre makro ve mikro elementler olarak sınıflandırılmaktadır. Makro elementler rasyonda 100 ppm den fazla düzeyde bulunurlarken, mikro elementler 100 ppm den daha az miktarlara ihtiyaç göstermektedirler. Makro elementler organizmada %3,45, mikro elementler ise %0,55 oranında bulunmaktadır. Vücutta bulunan minerallerin %0,3'ü iz elementlerden (çinko, demir, bakır, iyot, selenyum) oluşmaktadır (McDowell 1992, NRC 2001, Akın 2004).

Organizma için iz elementler; büyüme, gelişme, yaşamın sağlıklı bir şekilde sürdürülmesi ve optimum vücut gelişiminin tamamlanması için gerekli maddelerdir. Bununla birlikte dokularda serbest radikallerin hasarının engellenmesinde de önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Evans ve Halliwell 2001). İz elementlerin organizmada birçok fonksiyonu vardır. Organik maddelerin yapılarına girmeleri, enzim aktivasyonunda görev almaları, vücut asit-baz dengesinin düzenlemesi, vücut osmotik basıncın, dolaşım, iskelet ve sinir sistemi fonksiyonlarının düzenlenmesi, vitamin sentezi, hormon üretimi, doku sentezi, oksijen transportu, enerji üretimi ve büyüme, sağlık ve reproduksiyon gibi fonksiyonel görevlere sahip oldukları bildirilmektedir (Underwood 1977, McDowell 1992, Bragulla 1999, Paterson 2007).

Çinko, bakır, demir, selenyum ve diğer esansiyel bileşenler, sağlıklı bakım ve üretim için vücudun antioksidan savunmasında çeşitli görevler üstlenmektedirler. İz elementler; bazı enzimlerin aktiviteleri, DNA ve protein sentezi, sinir myelinizasyonu gibi metabolik olaylarda yer alarak, hücre ve doku gelişimi yönünden önemli rol oynamaktadırlar (Yakıncı ve ark 1996).

İz elementlerin emilim ve biyoyararlanılabilirlik oranları yüksektir. En çok kan, karaciğer, kemik ve böbrek gibi doku ve organlarda bulunmaktadır. Hayvanların iz element gereksiniminin karşılanmasında genellikle inorganik tuzlar (oksitler, sülfatlar ve karbonatlar) kullanılmaktadır.

Sütçü ineklerin sütteki iz element konsantrasyonlarının sağlıklı büyüme ve gelişme için önemli olduğu belirtilmektedir. Bu kapsamda sütteki bazı iz element bileşenlerinin konsantrasyonları belirlenmiştir. Çinko konsantrasyonunun 2-6 mg/L, bakır konsantrasyonunun

0,1-0,6 mg/L, manganez konsantrasyonunun 20-50 µg/L, selenyum konsantrasyonunun ise 2-60 µg/L olduğu rapor edilmektedir (Knowles ve ark 2006). Pechová ve ark (2008) mikro elementlerin süt için iyi birer destekleyici madde olduğunu belirtmektedirler.

İz elementlerin diyetdeki yetersizliği veya sindirim kanalından yetersiz emilimi, metabolizmada iz element yetersizliğine veya eksikliğine sebep olmaktadır (Wiske ve ark 1992). Bazı iz elementlerin yetersizliğinde immunité ve immün yanıt etkilenmektedir. Yeni doğan buzağılarda bakır, çinko, demir, selenyum, vitamin E ve kobalt gibi iz elementlerin yetersizliklerinde nötrofillerin bakterileri fagosite etme yetenekleri azalmaktadır (Paolicchi ve ark 2013). Rasyonla alımının yetersiz olması, sindirim kanalında emilimin azalması ve konjenital metabolik hastalıklar sonucu, iz elementlerin eksikliklerine bağlı klinik bulgular görülebilmektedir (Tanyüksel ve ark 1995, Taşkapan ve ark 2007). Sindirim sistemi hastalıklarından ishal ve malabsorbsiyonun iz element emilimini etkilediği bildirilmektedir (Yakıncı ve ark 1996). Bir iz elementin metabolizmadaki yüksek düzeydeki konsantrasyonu, diğer bir iz elementin eksikliğine neden olabilmektedir. Farklı iz elementlerin eksiklik bulguları birbirine benzerdir. İz element eksikliklerinde, klinik belirtilerin akut eksiklik durumuna gelinceye kadar genellikle gözlenemediği bildirilmektedir (Underwood 1977, Dokey 1983, McDowell 1992, Arthington 2006).

İshalli buzağılarda genel sistemik değişiklikler; elektrolit dengesizliği ve asidozis olarak rapor edilmektedir. Bu sistemik değişiklikler buzağuların genel durumlarında ciddi bozukluklara yol açabilmektedir. Sonuç olarak; genel durumu düzeltici önlemlerin alınamadığı buzağılarda ölümler görülebilmektedir. Fakat tedavi edici önlemleri alınmış olsa bile, buzağı ishallerinde yüksek mortalite oranı azaltılabilmiş değildir (Ranjan ve ark 2006).

Ericson ve ark (1981); etçi sığırların kolostrumundaki vitamin ve iz element konsantrasyonlarının, sütçü sığır kolostrumuna göre düşük olduğunu bildirmektedirler. Aynı şekilde ishalli buzağuların vitamin ve kan iz element konsantrasyonlarının, normal buzağılara göre daha düşük olduğunu rapor etmektedirler. Ancak vitamin ve iz element konsantrasyonlarındaki bu farklılıkların, istatistiksel olarak önemli olmadığını bildirmektedirler.

### 1.1.2.1. Çinko

Çok sayıda biyolojik ve fonksiyonel işlevi olan çinko, demirden sonra organizmada en çok bulunan iz elementtir. Çinko; mavimsi, açık gri renkte bir metaldir. Atom numarası 30, atom ağırlığı 65 olup, sfalerit formunda elde edilmektedir (Underwood 1977, McDowell 1992).

Çinko, hayvansal dokulara oldukça dengeli bir şekilde dağılmıştır. En çok deri, kıl, tüy ve yapağı gibi epidermal dokularda bulunduğu belirtilmektedir. Çinko gereksinimi; hayvanın yaşı, fizyolojik durumu, sağlığı ve çevresel faktörlere göre değişmektedir (King 1990, McDowell 1992, NRC 2001). Dokulardaki çinkonun yaklaşık %15-17'si proteinlere bağlı olarak bulunur (Underwood 1977, Berg 1996). Çinko, kanda çoğunlukla albümin (%60-70),  $\alpha_2$  makroglobülin (%30-40), düşük oranda da transferrin ve serbest aminoasitler ile taşınmaktadır (David 1999). Plazmadaki çinkonun ana taşıyıcı maddesi ise albumindir. Çinko vücuttan büyük oranda dışkı ile atılır. İdrarla da bir miktar çinko atılımı olmaktadır ancak atılan çinko miktarı çok küçüktür. Terle çinko atılımı, idrarla atılımda olduğu gibidir (Dijkstra ve ark 1993).

Çinko, vücutta 300'e yakın enzimin işlevselliği açısından gereklidir. Bununla birlikte nükleik asit ve protein sentezinde de büyük bir öneme sahip olduğu rapor edilmektedir (Kruse-Jarres ve ark 1999).

Çinko; ruminant beslenmesinde temel olarak gerekli bir element olup, özellikle büyüme ve gelişmede, tat ve koku duyusu gelişiminde, üreme ve yaraların iyileşmesinde, enfeksiyonlara karşı direnç oluşumunda önemli yer tutan bir elementtir. Aynı zamanda seksüel olgunlaşmada, endokrin ve metabolik olaylarda, immün fonksiyonlarda da görev yapar. Çinkonun bu etkilerinin özellikle hücre rejenerasyonu ve immün sistem üzerindeki önemli işlevlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. (Chandra ve Sarchielli 1993).

Diyetle alınan çinkonun emilim düzeyininin yaklaşık olarak %20-30 olduğu bildirilmektedir (Krebs ve ark 1998). Çinko homeostazında gastrointestinal sistem asıl görevi üstlenir. Çinkonun %60'ı duodenumda, %30'u ileumda, %10'luk dilimi ise jejunum aracılığı ile emilmektedir. Çinkonun emilim hızı, diyet bileşenlerine bağlıdır. Çinko emilimini; proteinden fakir diyet, fitat, lifli besinler, kalsiyum, oksalat, fosfor, demir, bakır, kalay, toprak ve kil azaltırken, proteinden zengin diyet, EDTA, lizin, glisin, histidin ve

sistein vitamin D, kazein, laktoz, D penisilamin emilimi arttırmaktadır (David 1999, Krebs 2000).

Gastrointestinal sistem, çinko dengesini korumakta da görev almaktadır. Organizma, çinko alımının azaldığı durumlarda fekal çinko atılımı azaltmaktadır (Tapiero ve Tew 2003). Çinko bağlayan bir protein olan metallothionein'in üretimi çinko tarafından düzenlenmektedir. Bu proteinin bağırsak mukozasında çinkoyu bağlayarak, aşırı çinko emilimini engellediği rapor edilmektedir (Barceloux 1999).

Sağlıklı buzağılarda kan serum çinko konsantrasyonunun 16,27-66,06 µmol/L değerleri arasında olduğu rapor edilmektedir (Ranjan ve ark 2006, Elmasoğlu 2008, Pechová ve ark 2008). Bu geniş dağılımın muhtemelen bireysel duyarlılığa veya çinkonun organizma içerisinde dağılımıyla alakalı olduğu düşünülmektedir. (Pechová ve ark 2008).

Erişkin ruminant organizmasında kan çinko konsantrasyonu 11-20 mmol/L düzeyindedir. Bu düzey 6,2 mmol/L'nin altına düştüğü durumlarda eksikliği düşünülmektedir (NRC 2001). Sütteki çinko konsantrasyonu, kan serumu çinko konsantrasyonundan daha yüksektir. Çinko inek sütünde öncelikle kazein ve küçük bir ölçüde ise sitratı bağlı tutar. Çinko normal sütteki kazeinin neredeyse %90'ını, kolostrumda ise sadece %60'ını bağlı tutmaktadır (Kincaid ve Cronrath 1992).

Genel olarak çinko eksikliği; toprak, mera ve bitki örtüsü ile ilişkili ortaya çıkan metabolik bir sorundur. Normal fizyolojik süreçte kan çinko düzeyleri; buzağılama dönemleri, yüksek stres faktörleri, travma veya yangısal durumlardan dolayı %50 oranında düşebilmektedir (Pechová ve ark 2008, Avcı 2012,). Çinko eksikliği belirtileri, hızla çoğalan ve farklılaşan dokularda daha belirgin olmaktadır. Testislerdeki atrofi ve spermatogenezdeki gerileme buna örnek olarak gösterilebilmektedir.

Nütrisyonel çinko eksikliği dünyada oldukça yaygındır (David 1999). Çinko yetersizliğinin en önemli klinik bulguları olarak; büyüme ve gelişme geriliği, iskelet yapısında bozukluklar, testiküler atrofi ve hepatosplenomegali olduğu belirtilmektedir (Maureen 1998, David 1999). Diğer klinik bulgular ise; ishal, iştahsızlık, kilo kaybı, gelişme geriliği, ağız ve burun mukozasında enflamasyon, süt veriminde düşme, aşırı salivasyon, parakeratozis, alopesi, generalize tüy dökülmeleri, yapağı kalitesinin bozulması, yaraların geç iyileşmesi, immun sistemin zayıflaması, enfeksiyonlara duyarlılıkta artış, tırnakta deformasyon, interdijital bölgede çatlak ve yarıklar, ayaklarda



şişkinlikler, kemik ve eklem bozuklukları, topallama, doğmasal anomaliler, libido kaybı, fertilite bozuklukları, yeni doğan yavrularda hayatta kalma oranında düşme olduğu bildirilmektedir (Okatan ve ark 2008, Avcı 2012).

Diyetteki yetersizliklerin yanısıra, çinkonun bağırsaklardan emilimini azaltacak ve gastrointestinal kanaldan, idrar ya da deriden hızlı atılımını arttıracak durumlar, vücuttaki çinko havuzlarından karşılama olanak kalmadan çinko düzeyi düşüklüğüne yol açabilmektedir. Çinko eksikliğinde ishal ve solunum yolu enfeksiyonları başta olmak üzere, enfeksiyonlara yatkınlık artmakta, büyüme ve gelişmede duraklama söz konusu olmaktadır. Bu nedenle ishalin, çinko eksikliğinin hem nedeni, hem de bulgusu olarak düşünülmesi gerektiği rapor edilmektedir (Bhandari ve ark 1996). Aynı şekilde ishal, çinkonun diyetten alımı ve intestinal absorpsiyon üzerine azaltıcı etkileri yanısıra, intestinal kayıpları arttırması nedeniyle vücutta çinko düzeyini etkileyebilmektedir (Naveh ve ark 1982, Çetin ve ark 2003).

Ağır çinko eksikliği olan çocuklarda ishal en sık görülen belirtilerden birisidir. Çinkonun ishal üzerine etki mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılmamıştır (Bhutta 2000, Semrad 2000). Çetin ve ark (2003) ishalin fazla miktarda çinko kaybı oluşturarak çinko eksikliğine neden olduğunu, serum çinko düzeyindeki azalmanın da ishale neden olduğunu bildirmektedirler. Çinko eksikliği görülen çocuklarda pek çok immunolojik bozuklukların olması yanısıra bu hastaların çinko tedavisinden yarar görmesi ve bu çocuklarda ishal insidansını ve prevalansını azaltması, çinko ile ishal arasındaki ilişkinin önemini vurgulamaktadır (Rink ve ark 2000).

Çinkonun ishal üzerine olası etki mekanizmaları çinkonun biyomembranların yapısal bütünlüğünü sağlama özelliğine bağlı olarak intestinal geçirgenlik ve intestinal su ve elektrolit geçişinin düzenlenmesi yanısıra, fırçamsı kenar enzimatik fonksiyonları ve enfeksiyon sonrası intestinal epitelyal doku onarımı ile ilgili olabileceği rapor edilmektedir (Chandra ve ark 1994, Sturniolo ve ark 2002).

Bettger ve O'Dell, (2003) akut ishallerde çocuklarda çinko konsantrasyonunun sağlıklı çocuklara göre %13,1 düzeyinde düşük olduğunu ve standart oral rehidrasyon solüsyonu ile sağaltımdan sonra bu oranın %22,6'ya çıktığını bildirmektedirler. Bu durumun sulu ishallerin gün sayısının süresi, ishale eşlik eden beden ısısında yükselme ve bu çocuklarda gözlemlenen alt solunum yolları enfeksiyonları ile ilişkili olduğu bildirilmektedir.

İshalli çocuklarda tedaviye çinko ilavesinin ishalin şiddeti ve süresi üzerine klinik olarak önemli derecede olumlu bir etkide bulunduğu rapor edilmektedir (Bettger ve O'Dell 2003). Bhandari ve ark (2002) çinko ilavesi yapılan çocuklarda tekrarlayan, ağır ve uzamış ishal ataklarının, ishale bağlı mortalite ve malnütrisyon oranının azaldığını bildirmektedirler. Çinko seviyesinde düşüklüğün ishal süresini ve dolayısı ile şiddetini artırma olasılığının yüksek olacağına dikkate alınması gerektiği vurgulanmaktadır. Bu nedenle akut ishallerde çocuklarda çinko tedavisinin ishalin kontrolünde önemli olduğunu düşünülmektedir. (Strand ve ark 2002).

Demirci ve ark (2003), serum çinko ve demir konsantrasyonlarının sağlıklı çocuklara göre kronik giardiasisli çocuklarda önemli derecede düşük olduğunu belirtmektedirler. Serum bakır konsantrasyonunda ise istatistiksel bir fark rapor edilmemektedir. Ayrıca kronik ishallerde eritrosit süperoksit dismutaz aktivitesinin önemli derecede düşük olduğunu belirtmektedirler.

Gherariu ve Kadar (1979)'da ishallerde buzağılarda çinko ve bakır konsantrasyonlarının istatistiksel anlamda düşük olduğunu ve bu durumun muhtemelen adrenal yetersizlik ile ilişkili olduğunu bildirmektedirler. Benzer şekilde Elmasoğlu (2008) akut ishallerde buzağılarda serum bakır ve çinko konsantrasyonunun sağlıklı buzağılara göre önemli düzeyde düşük olduğunu bildirmekte ve bu iz elementlerin buzağı ishallerinin etiopatogenezinde önemli rol oynayabileceği ve sağaltımda kullanımlarının yararlı olabileceğini rapor etmektedir.

### 1.1.2.2. Bakır

Esansiyel bir besin maddesi olan bakır, toksik bir madde olmasının yanında organizmada önemli fonksiyonları olan bir iz elementtir. Çeşitli metabolik süreçlerde ve sitokrom oksidaz gibi bazı önemli enzim sistemleri için gereklidir. Bugün 50'den fazla bakır içeren protein veya enzim tanınmaktadır. Bakırın katıldığı en önemli enzim sistemleri oksidazlar olduğu rapor edilmektedir (Fidancı 1986).

Bakır; kan yapımında, konnektif ve kemik dokusu gelişiminde, üremede, büyümede, deri, kıl ve sinir sisteminin gelişiminde, kılların pigmentasyonunda, miyokardın normal gelişiminde, immün sistemin normal fonksiyonu ve dokulardaki bütün oksidasyon olaylarında önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Underwood ve Suttle 1999, Spears 2000, Gül 2006).

Bakır, akut-faz proteinlerinden seruloplazminin önemli parçalarından biridir. Seruloplazmin dolaşımdaki bakırın yaklaşık olarak %95'ini kapsamaktadır. Serum çinko konsantrasyonunda azalma ve bakır konsantrasyonunda ise yükselmesinin birçok enfeksiyonda ve yangısal durumlarda ortaya çıkan akut faz yanıtta görüldüğü bildirilmektedir (Naresh ve ark 2001, Ranjan ve ark 2006).

Çinko ve bakır önemli antioksidan enzim olan Cu-Zn süperoksit dismutazın sentezi için kullanılır. Böylece kan çinko ve bakır konsantrasyonunun ishali buzağılarda eritrosit lipid peroksidasyonunu etkilediği düşünülmektedir (Ranjan ve ark 2006).

Bakır, organizmadaki tüm oksidasyon olaylarına katılan bir maddedir. Bakırın sindirim sisteminden emilimi diğer iz elementlere nazaran oldukça yavaş olup, emilim bakırın kimyasal formuna, hayvanın yaşına ve ihtiyaç durumuna göre değişmektedir. Emilimi ince bağırsakların proksimal bölümünde gerçekleştirilmektedir. Rasyondaki bakırın ancak %10-30'u emilebilmektedir. Bakır emilimi birçok faktöre göre değişiklik göstermektedir. Örnek olarak mide ve bağırsak pH düzeyi, rasyondaki bakır konsantrasyonu, rasyonda bulunan diğer besin madde bileşimleri, yaş, ırk, cinsiyet ve fizyolojik durum olarak bildirilmektedir. Emilen bakır serum albuminlerine bağlanarak tüm vücuda dağılmaktadır. Organizmada bakır homeostazisini sağlayan ana organ karaciğerdir. İhtiyaç halinde karaciğerden mobilize olan bakır başlıca seruloplazmin ile taşınmaktadır. Bakır öncelikle dışkı olmak üzere safra ve daha az oranda idrar ve ter ile vücuttan atılmaktadır.

Tabrizi ve ark (2011) doğum esnasında buzağuların bakır konsantrasyonlarının doğumdan sonraki 24 saatlik zaman diliminden sonra kademeli olarak arttığını bildirmektedirler. Doğum esnasında serum bakır konsantrasyonu  $14,28 \pm 0,47$   $\mu\text{mol/L}$ , doğumdan 24 saat sonra  $15,6 \pm 0,62$   $\mu\text{mol/L}$ , 48 saat sonra  $15,85 \pm 0,78$   $\mu\text{mol/L}$  ve 72 saat sonra ise  $18,21 \pm 0,62$   $\mu\text{mol/L}$  olduğunu rapor edilmektedirler. Yeni doğan buzağuların kolostrum almaları sağlanarak bakır seviyelerinin arttırılabileceği bildirilmektedir. Yeni doğan buzağuların bakır konsantrasyonunun yaşamın ilk üç haftasında ilk günlere göre önemli bir şekilde arttığı bildirilmektedir. Buzağuların doğum esnasındaki bakır konsantrasyonu annenin bakır konsantrasyonuna göre önemli derecede düşüktür ve bu miktar kolostrumla beslendikten sonra önemli bir şekilde artmaktadır (Tabrizi ve ark 2011).

Sağlıklı buzağılardaki serum bakır konsantrasyonu  $9,44 \pm 0,16$   $\mu\text{mol/L}$  (Ranjan ve ark 2006),  $9,8 \pm 2,88$   $\mu\text{mol/L}$  (Elmasoğlu 2008),  $13,0 \pm 2,17$   $\mu\text{mol/L}$  (Pechová ve ark 2008) olduğu bildirilmektedir. Pechová ve ark (2008) süt ve kan konsantrasyonları arasında hiçbir önemli korelasyon bulunmadığını rapor etmektedirler.

Bakır yetersizliğinin, antikor üretimini azatlığı, ancak genel olarak hücrel bağışıklıkta bir değişimine neden olmadığı bildirilmektedir. Bakır noksanlıklarında interferon üretiminin azaldığı ve mononükleer hücreler tarafından tümör nekroz hücrelerinin azaldığı görülmektedir (Arthington 2006). Bakır yetersizliği buzağı beslenmesinde önemli bir mineraldir ve polimorfnükleer hücrelerin mikroorganizmaları fagosite etme yeteneğini azalttığı için hastalıklara karşı direncin azalmasına neden olmaktadır (Ward ve ark 1997). Bakır noksanlığında, rat, domuz, koyun, sığır ve civcivlerde anemi oluşmaktadır. Bakır noksanlığına bağlı olarak, demir metabolizmasında oluşan bu bozukluk, hücrelerin demiri seruma bırakma kabiliyetlerindeki bozulma ile açıklanmaktadır. Özellikle demirin hemoglobin sentezine katılmasında önemli rol alır ve anti anemik bir faktör olarak bilinir. Demirin dokulardan plazma transferinde, Ferro ( $\text{Fe}^{+2}$ ) iyonunun enzimatik oksidasyonunun gerektiği ve bunun da plazmadaki bakırlı bir enzim olan seruloplazmin tarafından gerçekleştirildiği bildirilmektedir (Fidancı 1986).

Bakır eksikliği birincil olarak yemdeki yetersiz bakır düzeyine, ikincil olarak da özellikle bakır antagonistleri sülfür ve molibdenin fazlalığına bağlı olarak gelişebilir. Fransa ve Belçika'da yemlerin bakır ve molibden konsantrasyonları düşük olması

nedeniyle, bakır yetersizliğinin özellikle birincil kaynağının yemler olduğu bildirilmektedir (Enjalbert 2009).

Neonatal buzağılarda bakır, gebelik boyunca karaciğerde birikmiş stoklardan orijin alır. Fötüs, annenin karaciğer depolarından yararlanmaktadır. Annedeki yetersizlik neonatal buzağılarda düşük karaciğer depolarıyla sonuçlanabilir. Kuru dönemdeki beslenmeye bakır ilavesi, buzağılarda bakır konsantrasyonunun normal olmasını sağlayabilir. Bu önceliğe karşın (bakır buzağı önceliği) sürülerdeki bakır yetmezliğinin buzağılarda daha negatif etkileri olduğu bildirilmektedir. (Enjalbert ve ark 2006).

'Falling disease' olarak bilinen kalp genişlemesi ve hassasiyeti, bakır yetersizliğine ve ani ölüme bağlı olabilir. Diğer sağlık problemleri bakır yetersizliğiyle ilişkilidir. Perinatal mortalite, ishal, ve aşılama yetmezliği (aşı başarısızlığı) ve (ishal; temel ajanlara karşı aşılama rağmen yeni doğanlarda enterit oluşturabilir) yeni doğanlarda düşük immunité transferine de bağlıdır (Enjalbert 2009). Clement ve ark (1995) bakır konsantrasyonu ve ishal riski arasında doğru bir ilişki olduğu bildirilmektedir. Buzağılarda bakır konsantrasyonu ve immün transfer arasındaki ilişkiye ait literatür bilgi sınırlıdır. Bu transfer sadece kolostrum aracılığıyla gerçekleşir çünkü maternal immunglobulinler sığır plasentasından geçemezler (Muelhenbein ve ark 2001). Bakırın önerilen miktarının yarısı temel diyetle karşılanır. Araştırmacılar karaciğer bakır konsantrasyonunda bir değişiklik olmadığını bildirmektedirler ki bu da hafif bir yetersizliğin buzağılar üzerinde hiçbir etkisinin olmaması ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Enjalbert 2008).

Ward ve ark (2001) düveler için önerilen bakır miktarının yarısını verdiklerinde önemli miktarda kolostrum immunglobulin G artışı gözlenmiştir, ancak molibden ilavesinde de benzer etkilerin gözlendiği bildirilmiştir. Molibden bakır antagonisti olduğundan dolayı bakır eksikliği durumunda kimi zaman immün fonksiyon cevabında bir bozukluğa neden olabilirken, kimi zaman buzağılarda immün fonksiyon üzerine herhangi bir etki etmediği bildirilmektedir (Enjalbert 2009).

Annenin yetersiz karaciğer bakır deposu olduğu durumlarda sütün düşük miktarda (0.15 mg/l) bakır içerdiğinden dolayı (Underwood ve Suttle 1999) neonatal buzağılarda birkaç haftadan sonra bakır yetersizliği görülebilir. Bir akut faz proteini olan seruplasmin bakır yetersizliğinde yangısal cevap olarak artar. Seruloplasmin  $Fe^{+2}$ 'in  $Fe^{+3}$ 'e

dönüşümünü, demirin ferritinle birleşimini kolaylaştırır ve mikrobik demir alınımını da engeller (Saenko ve ark 1994). Üstelik değer bakır bağımlı enzimler süperoksit dismutasin antioksidan özelliği vardır ve fagositosis süresince önemli etkinlik gösterebilmektedir. Bovin herpesvirüsli düvelerin rasyonlarına molibden ilavesi yapılarak deneysel olarak bakır yetersizliği oluşturulmuş, bakır yetersizliği oluşan düvelerde seruloplazmin düzeyi düşük bulunmuş, ancak kontrol grubunda bu oranın yüksek olduğu rapor edilmektedir. Bakır yetersizliği olan hayvanlarda düşüklüğe neden olabileceği bildirilmektedir (Arthington 2006). Bu durumun bakır yetersizliği olan hayvanlarda savunma mekanizmasının zayıflamasına neden olabileceği düşünülmektedir (Enjalbert 2009).

Buzağı yemlerine bakır ilavesinin molibden ilavesine göre nötrofillerin bakterisidal aktivitelerini daha fazla arttırdığı, nötrofillerin süperoksit dismutaz aktivitesinde ise bir değişim gözlenmediği rapor edilmektedir (Enjalbert 2009).

Bakır eksikliği özellikle sütle beslenen ve bakır bakımından fakir topraklardaki meralarda otlayan hayvanlarda görülmektedir. Bakır birçok enzim sisteminde kofaktör olarak görev aldığından, yetersizliği halinde bazı enzimlerin aktivitesinde azalmaya neden olarak birçok doku ve organda bozukluğa neden olmaktadır (Fidancı 1986).

Bakır eksikliği halinde sitokrom oksidaz gibi bazı enzim aktivitelerinde meydana gelen bozukluklar sonucu birçok organ ve doku etkilenerek hayvanlarda büyüme geriliği, anemi, hemoglobin düzeyinde azalma (Shen ve ark 2006), kalp-dolaşım bozuklukları, enfeksiyonlara duyarlılığın artışı, kemik ve eklem bozuklukları (Underwood ve Suttle 1999), ishal, verim düşüklüğü kılarda depigmentasyon, yapağı ve kıl kalitesinde bozulmalar (İmren ve Şahal 1991, Graham 1991), fertilité, üreme bozuklukları, sinir sistemi ve bununla birlikte *Medulla spinalis*'te demiyelinizasyonlar ve ataksiye yol açtığı bildirilmektedir (Okatan ve ark 2008).

Rasyondaki anorganik sülfat ve yüksek seviyedeki molibden, hayvanlarda bakırın emilimi ve depolanmasını azaltmaktadır. Bakırın çinko ile etkileşimi vardır ve bakırın depolanması, yüksek çinko içeren yemlerle azaltılabilmektedir. Kalsiyum karbonat, kurşun asetat gibi tuzlar da bakırın sudaki çözünürlüğünü azaltarak etki ederler.

Kronik giardiosisli olan çocuklarla sağlıklı çocukların serum bakır konsantrasyonları karşılaştırıldığında, istatistiksel anlamlı bir farkın olmadığı bildirilmektedir (Demirci ve ark 2003).

Ranjan ve ark (2006) sağlıklı buzağılarda kan bakır konsantrasyonunu  $9,44 \pm 0,16$   $\mu\text{mol/L}$ , ishalli buzağıların bakır konsantrasyonlarını ise  $12,9 \pm 0,31\mu\text{mol/L}$  olarak belirtmekte ve ishalli buzağılarda kan bakır konsantrasyonunda önemli düzeyde bir artış olduğunu bildirmektedirler. İshalli buzağılarda kan bakır konsantrasyonundaki artış akut-faz yanıt ve seruloplazmin ve diğer eritrositik antioksidan enzimler antioksidantlarla ilişkili olabileceği düşünölmektedir (Elmasoğlu 2008).

### 1.1.2.3. Demir

Demir, atom numarası 26 ve atom ağırlığı 55 olan doğada ikincil olarak en çok bulunan metalik gri görünümlü, birçok canlı için yaşamsal öneme sahip olan demir esansiyel bir iz elementtir (Underwood 1977, McDowell ve ark 1992). Demirin asıl görevi, oksijen taşınmasında rol oynamasıdır (Underwood ve Suttle, 2001). Bununla birlikte elektron alışverişinde, DNA, RNA ve protein sentezinde de yaşamsal açıdan öneme sahiptir. Buna karşın oksijenle reaksiyon kapasitesine sahip olması ve reaktif oksijen ürünleri üretiminde bulunması nedeniyle de toksik bir özelliğe sahip olduğu rapor edilmektedir (Hentze ve ark 2004, De Domenico ve ark 2008).

Organizmadaki demir iki ayrı formda bulunmaktadır. Birincisi ferröz ( $Fe^{+2}$ ) form, ikincisi ise ferri ( $Fe^{+3}$ ) formdur. Fizyolojik pH'da özellikle  $Fe^{+3}$  formu olmak üzere her iki form da kötü çözünürlüğe sahiptir. Bu nedenle organizmalar demirin biyolojik sıvılarda taşınması, hücre membranlarından geçişi ve toksik olmayan ve kolay mobilize olabilen formda depolanmasında kullanılmak üzere çeşitli proteinler geliştirdiğini belirtmektedirler (Hentze ve ark 2004, De Domenico ve ark 2008).

Demir vücutta hemoglobin, miyoglobin ve sitokromların yapısında bulunmaktadır. Ayrıca demir hemoglobin sentezinde çok önemli bir role sahiptir. Demirin yaklaşık olarak %70'i hemoglobine, %9'u miyoglobine, %0,1'lik kısmı sitokromlarda %0,1'i enzim-demir kompleksinde, %0,1'i transferinde, geriye kalan %20'lik kısım ise ferritinde depolanmış demir olarak başta karaciğer olmak üzere dalak ve kemik iliğinde bulunmaktadır. (Underwood 1977, McDowell 1992, Ası 1996, Kraft 1999a). Hemoglobin toplamda dört molekül hem ve her biri bir demir atomu içeren yapıdan oluşmaktadır. Hemoglobin yapısına katılan demirin geri kalan kısmı vücutta transferin ve ferritin olarak, küçük bir kısmı ise miyoglobin şeklinde bulunmaktadır. Demir çok sayıda enzimin normal fonksiyonu için önemli olduğu, buzağılarda ki demir yetersizliği olgularında hemoglobin ve miyoglobin konsantrasyonlarının azaldığı bildirilmektedir (McDowell 1992, Ası 1996, Underwood ve Suttle 2001).

Demir süt içerisinde çok düşük konsantrasyonda bulunur. Kolostrum 1,5-2,5 mg, normal süt ise litrede 0,3-0,5 mg demir içerir, ancak bağırsaklardan çok iyi derecede demir emilimi gerçekleşmektedir (Underwood ve Suttle 2001, Staunfenbiel 2002). Ancak uzun süreli olarak sadece sütle beslenen buzağılarda yetersiz demir alımına bağlı olarak demir eksiklikleri görülebilmektedir (Hall 2006). Uzun süre boyunca ana kaynak olarak sütle



beslenen buzaşılarda demir yetersizliği, sütün düşük miktarda demir içermesinden kaynaklanmaktadır. Süt içerisindeki demir miktarı buzaşıların kendi başlarına demir sentezleyinceye kadarki süreçte yeterlidir (Kraft 1999a). Ancak, ilerleyen süreçlerde demir eksiklikleri gelişebilmektedir. Buzaşılardaki demir eksiklikleri birçok faktöre bağlı olarak değişim göstermektedir. Başlıcalar; fetal gelişim esnasında demir dinamiklerinin yetersiz olması, gıdadaki ve sütteki demir miktarının yetersizliği, demir rezorbsiyonlarının bozulması, uzun süreli kan kayıpları ve enfeksiyöz durumlar olarak sıralanabilir (Elmasoğlu 2008).

Buzaşılarda kan ortalama hemoglobin konsantrasyonu 4,5 mmol/L (7,2 g/100 ml) olarak rapor edilmektedir. Buzaşılarda demir yetersizliği nötrofiller ile fagositoz kapasiteleri ve kan serum immunglobulin konsantrasyonunda değişikliğe neden olduğu bildirilmektedir. Kan hemoglobin konsantrasyonun 7,2g/100 ml'nin altında deneysel olarak 7 haftadan sonra düşük olması sağlık açısından olumsuz bir sonuç olarak bildirilmektedir (Enjalbert 2009).

Demirin emilimi, organizmanın ihtiyaına bağlıdır ve intestinal mukozadaki demir miktarıyla kontrol edilmektedir. Demir emilimi çoğunlukla duedonumda gerçekleştirilmektedir (Underwood ve Suttle 2001). Zimmermann ve ark (2007) duedonumla birlikte villslerin tepe kısmında bulunan olgun enterositlercede demir emiliminin gerçekleştirilebildiğini bildirmektedirler. Enterositin apikal tarafından emilen demir hücre içinde bazolateral tarafa taşınır ve bazolateral membrandan plazmaya gönderilir. Emilimin demir eksikliği olan hayvanlarda daha etkili olduğu rapor edilmektedir (Underwood ve Suttle 2001).

Vücudun ihtiyaından fazla demir emiliminin olduğu durumlarda emilen demirin atılımı için herhangi bir yol olmadığından, vücudun fazla demirden korunması için tek yol bağırsaklardan demir emiliminin iyi kontrol edilmesidir. Bu nedenle vücutta olası demir ihtiyaı arttığı durumlarda (demir eksikliği, hemoliz, kan kayıpları vb.) emilim artarken, yeterli demir olduğunda ise azaltılabildiği bildirilmektedir (Hentze ve ark 2004, De Domenico ve ark 2008).

Organizmanın fazla demiri atması için özel bir mekanizma olmaması nedeniyle demir yüklenmesi sadece bağırsaktan emilimin iyi ayarlanması ve makrofajların demir döngüsü ile engellenmektedir (Frazer ve ark 2003).

Bağırsaktan demir emiliminin düzenlenmesi hemakromatoz genleri ve hepsidinin keşfi ile açıklık kazanmaktadır. Gelişmiş canlılarda hepsidinin rolü demir hemostazına yönelmiştir, ancak antibakteriyel etkisinde olduğu bildirilmektedir (Sow ve ark 2007). Hepsidin geninde mutasyona bağlı eksiklik olan farelerin özellikle karaciğer, pankreas ve kalplerinde demir birikimi olduğu, makrofajlarda demir depolarının da tükendiği görülmektedir (Nicolas ve ark 2001). Aksine, hepsidin fazlalığı olan farelerin doğumdan kısa süre sonra hipokrom mikrositer anemi nedeniyle öldükleri bildirilmektedir (Nicolas ve ark 2002). Hepsidin, enterosit ve makrofajlardaki ferroportine bağlanarak onun membrandan ayrılmasına ve sitoplazmada yıkılmasına neden olmaktadır (Delaby ve ark 2005, Nemeth ve ark 2004). Hepsidin yokluğunda artmış intestinal demir emilimi makrofajlardan demir çıkışının artışına ve dokularda demir birikimine yol açmaktadır (Nicolas ve ark 2001, Viatte ve ark 2005).

Bostedt ve ark (1990), buzağuların doğduklarında serum demir konsantrasyonunun  $27.7 \pm 9.6 \mu\text{mol/L}$ , 4 günlük yaşta ise  $18.0 \pm 3.0 \mu\text{mol/L}$  olduğunu, yaşamda ki ikinci haftadan sonra demir konsantrasyonunun artmaya başladığını ve 6 haftalık yaşta doğumdaki benzer seviyeye ulaştığını ( $28.0 \pm 7.8 \mu\text{mol/L}$ ) bildirmektedirler. Knowles ve ark (2006) ise serum demir konsantrasyonunun 30. günden 80. güne kadar kademeli olarak arttığını ancak 80 günlük yaşta demir konsantrasyonları hala yetişkin sığır referans değerlerinin altında kaldığını belirtmektedirler. Diğer çalışmalar da demir konsantrasyonunun 60 günlük yaşa kadar kademeli olarak arttığı belirlenmiştir. (Steinhardt ve Thielscher 2000a, Steinhardt ve Thielscher, 2000b).

Sığırlarda normal serum demir konsantrasyonunun,  $17,9-35,8 \mu\text{mol/L}$  (Blood ve ark 1979) ve  $21,48-32,75 \mu\text{mol/L}$  olarak rapor edilmektedir (Jacobi 1988). Normal koşullarda (parçalanan eritrositlerin hemoglobinleri retikulo endotelyal sistem hücreleri tarafından demirinden ayrılır) organizmanın demir kaybı yoktur. Depodaki demir çeşitli nedenlerle (kanama, paraziter gibi) azalırsa, bağırsaklardan emilimi artar. Hemoglobin yapısında bulunan demir, atmosferik oksijeni gevşek bir biçimde bağlayarak dokuların derinliklerine taşır. Kaslardaki myoglobinde bulunan demir, hemoglobinle gelen oksijeni depolarken çeşitli koenzimlerin yapısında bulunan demir ise redoks aracısı olarak görev yapmaktadır (Underwood 1977, McDowell 1992, Ası 1996, Harris ve ark 2007).

Uzun süreli demir eksikliğinde iştah kaybı, gelişme geriliği, immun sistemin baskılanması, ağırlık kaybı, dolaşım güçlüğü ve halsizlik (McDowell ve ark 1992,

Arthington 2006, Harris ve ark 2007), progresiv mikrositik-hipokromik anemi nedeniyle beyaz mukoz membranlar (Underwood ve Suttle 2001), döl veriminde düşme, enfeksiyöz hastalıklara duyarlılıkta artış ve ani ölüm gibi bulgular gözlenebildiği bildirilmektedir (Underwood ve ark 1999).

Demirci ve ark (2003), kronik giardiosisli çocuklarda serum demir konsantrasyonunun sağlıklı çocuklara göre daha düşük olduğu bildirilmektedir.

## 2.GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmaya başlamadan önce Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik kurulundan 01.08.2012 tarih ve 2012/035 sayılı etik kurul kararı ile onay alınmıştır.

### 2.1.Hayvan Materyali

Araştırmanın hayvan materyalini 16 adet sağlıklı erkek holştayn buzağı oluşturdu. Doğumdan sonra 1-3 günlük yaşta ve yeterli kolostrum almış buzağular çevredeki işletmelerden temin edildi. İşletmelerden temin edilen tüm hayvanların dışkı örnekleri, alım öncesi *E. coli K99*, *C. parvum*, *Coronavirus* ve *Rotavirus* antijenlerine karşı hızlı test kiti (Bionote Rapid Test, Kore) ile kontrol edilerek ve negatif olanlar tercih edildi. Yenidoğan dişi buzağuların işletmelerde damızlık olarak kullanılması, yenidoğan erkek buzağuların 1 günlükten itibaren satılabilmesi nedeniyle materyalin kolay temini için erkek buzağı tercih edildi.

### 2.2.Hayvan Bakımı ve Muayene Protokolü

Buzağular ADÜ Veteriner Fakültesi Çiftlik Hayvanları Uygulama Ünitesinde bireysel kulübelere barındırıldı. Buzağular süt ile bireysel biberonlar kullanılarak günde 2 öğün beslendi. Su *ad libitum* olarak bulunduruldu ve 3. haftadan itibaren iyi kalitede kuru ot ile beslemeye devam edildi. Çalışma boyunca buzağulara herhangi bir aşılama ve ek ilaç uygulaması yapılmadı. Bütün hayvanlar günde bir kere dışkı kıvamı ve iştahın değerlendirilmesini kapsayan klinik kontrolden geçirildi. Buzağuların canlı ağırlıkları günlük olarak ölçüldü. İshal ortaya çıktığında bütün hayvanların dışkı örnekleri *E. coli K99*, *C. parvum*, *Coronavirus* ve *Rotavirus* antijenlerine karşı hızlı test kiti (Bionote Rapid Test, Kore) ile kontrol edildi.

### 2.3. *C. parvum*'un kaynağı ve hazırlanması

*Cryptosporidium parvum* ookistleri doğal enfekte bir buzağı veya buzağulardan dışkı örneği alınarak Lorenzo ve ark (1993) bildirdiği şekilde elde edildi. *C. parvum* pozitif dışkı örneği alınan buzağı veya buzağuların dışkı örnekleri, alım öncesi *E. coli K99*, *Coronavirus* ve *Rotavirus* antijenlerine karşı hızlı test kiti ile kontrolleri yapıldı ve negatif olanlar tercih edildi. Toplanan dışkıları distile su ile sulandırılarak 45 µm delikli süzgeçlerden geçirilip ve elde edilen sıvı kısım 1000 x g de 5 dakika santrifüj edildi. Sediment 20 ml distile su ve 20 ml dietil eter ile karıştırılarak 1000 x g de santrifüj edilip ve üsteki üç tabaka uzaklaştırıldı. Bu işlem dışkıdaki yağ tamamen uzaklaştırılana kadar

tekrar edildi. Elde edilen sediment 1 ml distile suyla karıştırılarak Percoll gradientinin üzerine yayıldı. Karışım 650 x g'de 15 dakika santrifüj edildi. Ookist içeren bant uzaklaştırılarak distile su ile 1000 x g'de 5 dakika santrifüj edilerek ve bu işlem üç kez tekrarlandı. Ookistlerin oluşturduğu sediment deneysel enfeksiyona kadar % 2,5 (w/v) potasyum dikromat solusyonuyla karıştırılarak 4°C de saklandı. Kullanılacağı zaman distile su ile karıştırılıp 1000 x g de santrifüj edilerek potasyum dikromat uzaklaştırıldı. 0,2 ml karışım 0,8 ml malaşit yeşili ile karıştırılarak mililitredeki ookist sayısı Neubauer hemacytometer ile sayıldı.

Elde edilen *Cryptosporidium* ookistlerinin türünün ve tipinin belirlenmesi amacıyla 100 µl süspansiyonunda fenol/kloroform metodu kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı. *C. parvum*'un tiplendirilmesi, nested PZR ve *SspI*, *VspI* ve *MboII* enzimleri kullanılarak RFLP (restriction fragment length polymorphism) analizi ile daha önce tarif edildiği gibi gerçekleştirildi (Aysul ve ark, 2009). Birinci PZR'da F: 5'-TTC TAG AGC TAA TAC ATG CG-3' ve R: 5'-CCC TAA TCC TTC GAA ACA GGA-3' primerleri kullanılarak *Cryptosporidium* spp. için spesifik bölge çoğaltıldı. Nested PZR için bu bölgeden seçilen F: 5'-GGA AGG GTT GTA TTT ATT AGA TAA AG-3' ve R: 5'- AAG GAG TAA GGA ACA ACC TCC A-5' primerleri kullanılarak bölge çoğaltıldı. Nested PZR sonucu pozitif bulunan örneklerle tür tayinlerinin yapılabilmesi amacıyla RFLP (restriction fragment length polymorphism) analizi uygulandı. Bu amaçla *SspI*, *VspI* ve *MboII* restriction enzimleri kullanıldı.

#### **2.4. Deneysel Gruplar**

Buzağılar 2 gruba (n=8) ayrıldı 1. gruptaki her buzağı özel olarak hazırlanan  $1 \times 10^7$  adet *C. parvum* ookisti oral yolla verilerek enfekte edildi. Bu grup enfekte grup olarak tanımlandı. Kontrol grubu olarak tutulan 2. gruba plasebo uygulandı.

Buzağılar klinik, hematolojik, biyokimyasal ve parazitolojik muayene bulguları dikkate alınarak değerlendirildi ve bu kapsamda buzağılar 1 ay boyunca izlendi.

#### **2.5. Muayene ve Değerlendirme Protokolleri**

Buzağuların dışkı kıvamları Grinberg ve ark (2002) belirttiği şekilde değerlendirildi. Skor 1: Katı, Skor 2: Pastöz ve Skor 3: Sulu. Ayrıca renk özellikleri belirlenerek değerlendirildi.

Buzağuların klinik muayene ve değerlendirmeleri inokulasyon öncesi (İÖ), inokulasyon günü (İNK) ve 1., 2., 4., 7., 14., 28. günlerde gerçekleştirildi.

## **2.6.Hematolojik ve Biyokimyasal Analizler**

*Cryptosporidium parvum* 'a bağlı hematolojik parametreler ve serum demir, bakır ve çinko konsantrasyonlarındaki değişiklikleri ortaya koymak amacıyla buzağılardan kan örnekleri inokulasyondan bir gün önce, inokulasyon günü ve inokulasyondan sonra 1., 2., 4., 7., 14. ve 28. günlerde *Vena jugularisten* antikoagulanlı (EDTA ) ve antikoagulansız tüplere toplam 10 ml olarak alındı. Bu amaçla antikoagulanlı (EDTA) tüplere alınan kan örneklerinden kan sayım cihazında (Abacus Junior Vet, Macaristan) kan sayımları yapıldı. Alınan kan 3000 devirde 10 dk. santrifüj edilerek serum örnekleri elde edildi. Serum örneklerinden demir, bakır ve çinko konsantrasyonları ticari test kitleri (Archem Diagnostik, Türkiye) kullanılarak otoanalizör cihazında (Sinnova D 280, Çin) ölçüldü.

## **2.7.İstatistiksel Değerlendirme**

Verilerin istatistiksel değerlendirmesi SPSS 15 paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Hematolojik ve serum biyokimyasal parametrelerin grup, zaman ve grup-zaman ilişkisi tekrarlı ölçümler varyans analizi ile değerlendirildi. Gruplar arasında anlamlı farklılığın görüldüğü parametrelerde farkın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için Tukey Testi uygulandı. Tablolarda hematolojik ve biyokimyasal parametreler aritmetik ortalama ( $\bar{X}$ ) standart hata (SEM) olarak verildi. Tüm istatistiksel değerlendirmelerde  $p < 0,05$  anlamlı kabul edildi.

### 3. BULGULAR

#### 3.1 Klinik Bulgular

Çalışma boyunca *C. parvum* enfeksiyonu gelişen buzağuların (1. Grup) klinik değerlendirmelerinde; vücut tutuluşlarının normal, genel görünüşlerinin canlı, beden ısılarının 38.1 ile 40,3 °C arasında değiştiği, emme refleksinin hafif azaldığı ve hafif dehidre olmaları dışında ek bir enfeksiyon veya sorunun çıkmadığı belirlendi.



**Resim 3.1.** *C. parvum* ile enfekte buzağuların günlük yaşam ve muayene esnasında görünümleri

*Cryptosporidium parvum* ile deneysel enfekte edilen buzağılarda inokulasyonu takiben 4. ve 5. günden itibaren pastözden sulu karaktere kadar değişen kıvamda, açık sarıdan yeşilimsi kahverengiye kadar değişen renkte ve pis kokulu ishal gelişti (Resim 3.2.).



**Resim 3.2.:** *C. parvum* ile enfekte edilmiş buzağılardan elde edilen dışkıların kıvam ve görünüşleri

### 3.2 Laboratuvar Bulguları

Çalışmadaki sağlıklı (n=8) ve *C. parvum* ile enfekte (n=8) buzağuların hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin klinik inceleme süresindeki değerleri ile istatistiksel sonuçları Çizelge 1-3’de gösterildi.

#### 3.2.1.Hematolojik bulgular

Tekrarlı ölçümlere ait varyans analizi, incelenen hematolojik parametrelerden RBC ve PLT sayıları ile HCT değerinin (Çizelge 3.1.), WBC, lenfosit ve nötrofil sayılarının (Çizelge 3.2.) zamanla; WBC ve nötrofil sayılarının gruplar arasında gösterdiği değişimlerin önemli, belirtilen bu parametreler ile monosit sayılarının zaman/grup ilişkisinin ise istatistiksel anlamlı olmadığını gösterdi.

#### 3.2.2.Biyokimyasal Bulgular

Serum Cu, Zn, Fe konsantrasyonları 28 günlük araştırma sürecinde 8 ayrı zamanda yapılan örneklemeler ile ölçüldü. Tekrarlı ölçümlere ait varyans analizi, serum Fe, Zn ve Cu konsantrasyonlarının zamanla; Cu ve Fe konsantrasyonlarının gruplar arasında gösterdiği değişimlerin önemli, belirtilen bu parametrelerin zaman/grup ilişkisinin ise istatistiksel anlamlı olmadığını gösterdi. (Çizelge 3.3.).



Çizelge 3.1. Sağlıklı ve *C. parvum* ile enfekte buzağlarda hematokrit değer ile eritrosit ve trombosit sayıları

Parametreler	Gruplar (n=8)	Zaman (Gün)							
		İ.Ö	İNK	1.	2.	4.	7.	14.	28.
		$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$
<b>RBC</b> ( $10^6/\text{mm}^3$ )	<b>Sağlıklı</b>	7,2± 0,6	7,1 ± 0,5	7,0 ± 0,6	7,2 ± 0,6	7,7± 0,5	7,6 ± 0,7	7,8 ± 0,7	8,7 ± 0,7
	<b>Enfekte</b>	5,7 ± 0,8	5,9 ± 0,8	5,7 ± 0,9	6,0 ± 0,7	6,6 ± 0,8	7,2 ± 0,4	6,2 ± 0,9	6,7 ± 1,2
<b>HCT</b> (%)	<b>Sağlıklı</b>	23,1 ± 2,1	23,9 ± 1,6	24,1 ± 1,7	24,9 ± 1,8	25,9 ± 1,5	24,4 ± 1,7	23,9 ± 2,0	23,8 ± 2,2
	<b>Enfekte</b>	22,7 ± 3,1	23,2 ± 3,3	22,1 ± 3,4	23,3 ± 2,9	24,8 ± 3,1	25,2 ± 2,6	21,8 ± 3,4	21,4 ± 3,6
<b>PLT</b> ( $10^3/\text{mm}^3$ )	<b>Sağlıklı</b>	465 ± 72	528 ± 62	545 ± 55	455 ± 48	639 ± 72	618 ± 71	587 ± 56	642± 73
	<b>Enfekte</b>	439 ± 68	415 ± 44	460 ± 29	623 ± 68	784 ± 86	741 ± 107	640 ± 67	755 ± 108
<b>İstatistiksel Değerlendirme</b>									
		<b>Grup</b>			<b>Zaman</b>			<b>Zaman/Grup</b>	
<b>RBC</b>		ÖD			p<0,01			ÖD	
<b>HCT</b>		ÖD			p<0,01			ÖD	
<b>PLT</b>		ÖD			p<0,01			ÖD	

\*ÖD: Önemli Değil

**Çizelge 3.2. Sağlıklı ve *C. parvum* ile enfekte buzağılarda lökosit sayıları**

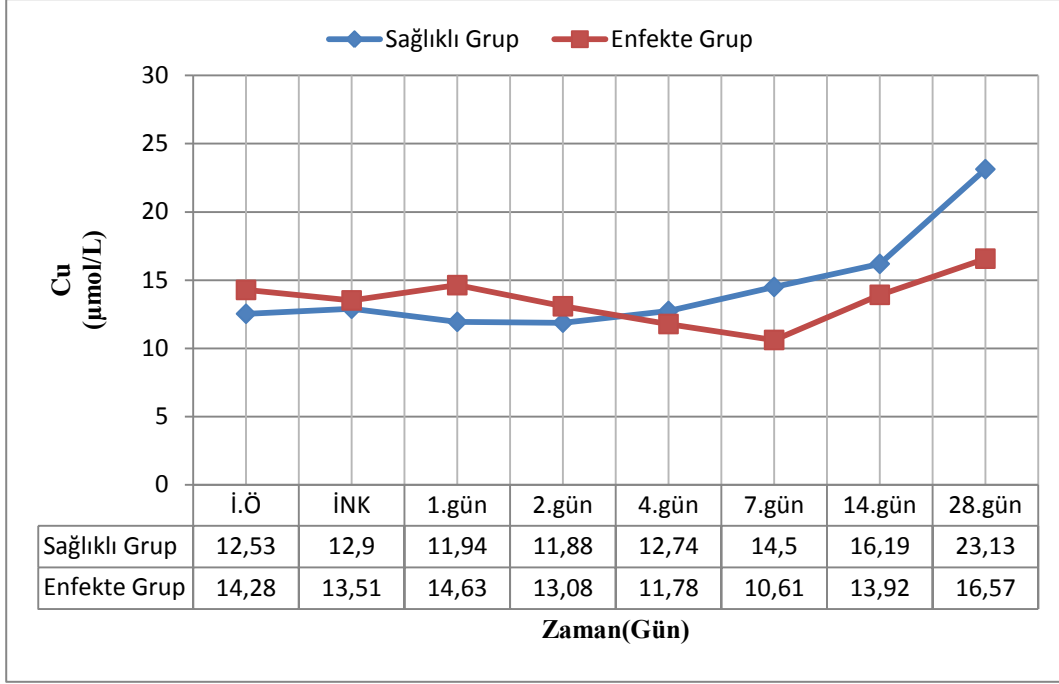
Parametreler	Gruplar (n=8)	Zaman (Gün)							
		İ.Ö	İNK	1.	2.	4.	7.	14.	28.
		$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$
WBC ( $10^3/\text{mm}^3$ )	Sağlıklı	9,7 ± 1,0	10,1 ± 0,6	9,7 ± 0,5	9,3 ± 0,7	9,7 ± 0,8	9,5 ± 1,7	9,4 ± 0,9	8,9 ± 1,7
	Enfekte	10,3 ± 1,1	9,5 ± 1,1	7,6 ± 0,7	9,0 ± 1,3	12,3 ± 1,1	11,3 ± 1,3	11,8 ± 2,1	8,8 ± 0,7
LYM ( $10^3/\text{mm}^3$ )	Sağlıklı	4,0 ± 0,6	4,9 ± 0,7	4,7 ± 0,6	4,4 ± 0,8	5,2 ± 0,6	4,8 ± 0,5	5,1 ± 0,6	5,5 ± 0,9
	Enfekte	4,2 ± 0,4	4,7 ± 0,5	4,1 ± 0,2	4,4 ± 0,3	5,1 ± 0,7	5,5 ± 0,5	6,3 ± 0,4	5,6 ± 0,3
MON ( $10^3/\text{mm}^3$ )	Sağlıklı	0,2 ± 0,06	0,17 ± 0,02	0,2 ± 0,08	0,7 ± 0,07	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,09	0,4 ± 0,07	0,1 ± 0,01
	Enfekte	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0,1	1,0 ± 0,8	0,3 ± 0,07	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,3	0,2 ± 0,1
NEU ( $10^3/\text{mm}^3$ )	Sağlıklı	5,4 ± 1,4	5,1 ± 0,7	4,7 ± 0,7	4,2 ± 0,6	4,3 ± 0,8	4,4 ± 1,7	3,8 ± 0,3	3,2 ± 1,2
	Enfekte	5,8 ± 0,9	4,4 ± 1,1	3,4 ± 0,6	4,4 ± 1,2	6,8 ± 1,2	5,3 ± 1,4	5,1 ± 1,8	2,9 ± 0,3
<b>İstatistiksel Değerlendirme</b>									
		<b>Grup</b>			<b>Zaman</b>			<b>Zaman/Grup</b>	
WBC		p<0,05			p<0,01			ÖD	
LYM		ÖD			p<0,01			ÖD	
MON		ÖD			ÖD			ÖD	
NEU		p<0,05			p<0,01			ÖD	

\*ÖD: Önemli Değil

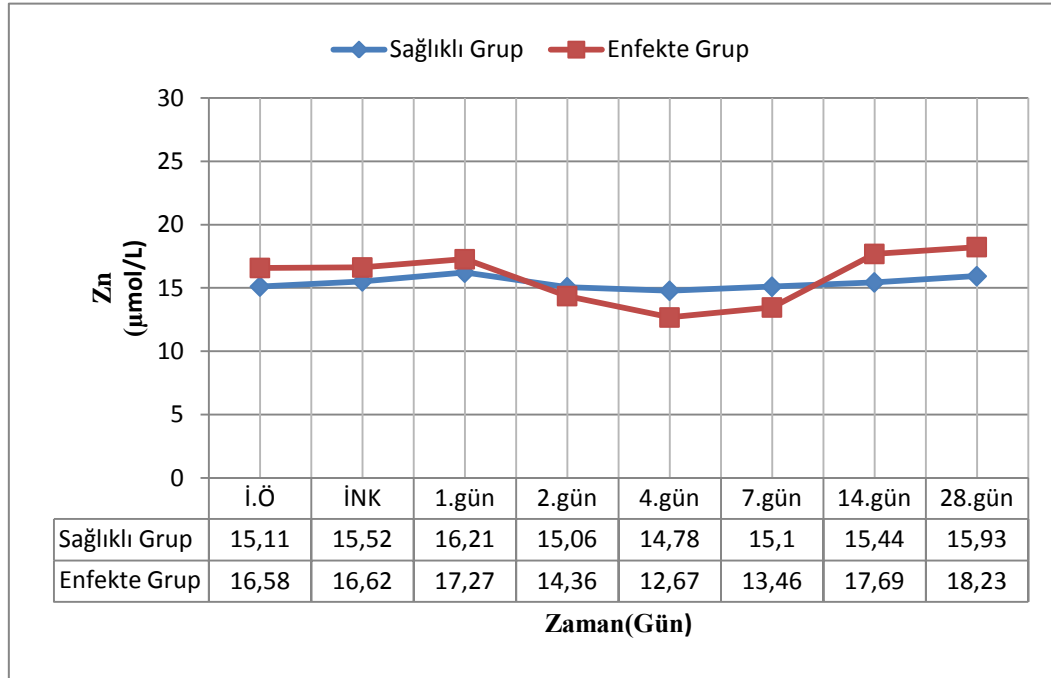
**Çizelge 3.3. Sağlıklı ve *C. parvum* ile enfekte buzağılarda serum bakır, çinko ve demir konsantrasyonları**

Parametreler	Gruplar (n=8)	Zaman (Gün)							
		İ.Ö	İNK	1.	2.	4.	7.	14.	28.
		$\bar{X}\pm SEM$	$\bar{X}\pm SEM$	$\bar{X}\pm SEM$	$\bar{X}\pm SEM$	$\bar{X}\pm SEM$	$\bar{X}\pm SEM$	$\bar{X}\pm SEM$	$\bar{X}\pm SEM$
<b>Cu</b> ( $\mu\text{mol/L}$ )	<b>Sağlıklı</b>	12,53 $\pm$ 1,5	12,9 $\pm$ 2,58	11,94 $\pm$ 2,6	11,88 $\pm$ 2,19	12,74 $\pm$ 1,82	14,5 $\pm$ 3,19	16,19 $\pm$ 1,77	23,13 $\pm$ 1,81
	<b>Enfekte</b>	14,28 $\pm$ 5,6	13,51 $\pm$ 2,89	14,63 $\pm$ 4,02	13,08 $\pm$ 2,94	11,78 $\pm$ 2,23	10,61 $\pm$ 3,11	13,92 $\pm$ 2,41	16,57 $\pm$ 2,63
<b>Zn</b> ( $\mu\text{mol/L}$ )	<b>Sağlıklı</b>	15,11 $\pm$ 5,77	15,52 $\pm$ 6,15	16,21 $\pm$ 6,06	15,06 $\pm$ 5,48	14,78 $\pm$ 4,00	15,10 $\pm$ 5,68	15,44 $\pm$ 5,82	15,93 $\pm$ 5,68
	<b>Enfekte</b>	16,58 $\pm$ 5,8	16,62 $\pm$ 5,32	17,27 $\pm$ 5,52	14,36 $\pm$ 6,44	12,67 $\pm$ 4,35	13,46 $\pm$ 5,15	17,69 $\pm$ 4,63	18,23 $\pm$ 3,45
<b>Fe</b> ( $\mu\text{mol/L}$ )	<b>Sağlıklı</b>	22,06 $\pm$ 7,75	19,78 $\pm$ 4,57	18,29 $\pm$ 4,9	16,8 $\pm$ 7,45	16,53 $\pm$ 7,22	17,34 $\pm$ 12,0	17,14 $\pm$ 11,12	27,22 $\pm$ 7,45
	<b>Enfekte</b>	20,14 $\pm$ 8,87	17,56 $\pm$ 5,11	19,30 $\pm$ 5,77	12,54 $\pm$ 10,36	12,36 $\pm$ 7,95	13,93 $\pm$ 8,85	17,06 $\pm$ 10,5	25,1 $\pm$ 4,25
<b>İstatistiksel Değerlendirme</b>									
		<b>Grup</b>			<b>Zaman</b>			<b>Zaman/Grup</b>	
<b>Cu</b>		p<0,01			p<0,05			ÖD	
<b>Zn</b>		ÖD			p<0,05			ÖD	
<b>Fe</b>		p<0,05			p<0,01			ÖD	

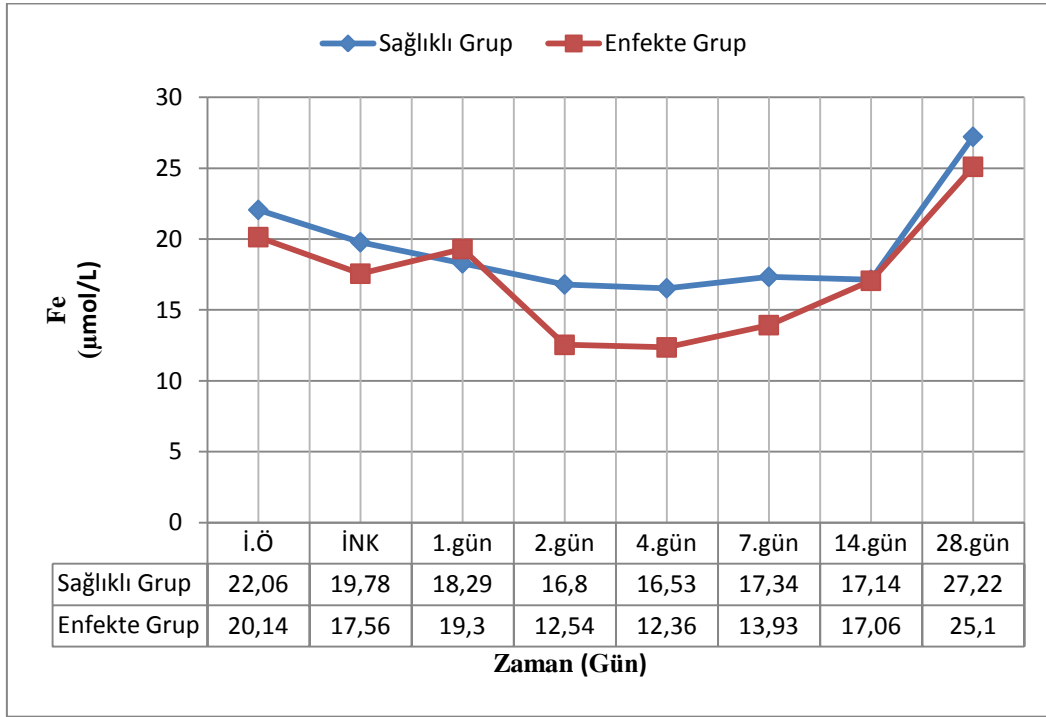
\*ÖD: Önemli Değil



**Şekil 3.1. Sağlıklı ve *C. parvum* ile enfekte buzağılarda serum bakır konsantrasyonları**



**Şekil 3.2. Sağlıklı ve *C. parvum* ile enfekte buzağılarda serum çinko konsantrasyonları**



**Şekil 3.3. Sağlıklı ve *C. parvum* ile enfekte buzağılarda serum demir konsantrasyonları**

#### 4. TARTIŞMA

Buzağılarda ishal, son yıllarda profilaksi ve sağaltım alanında tüm gelişmelere rağmen yaygın olarak görülmekte ve ölümlerle doğrudan, gelişme geriliği, sağaltım giderler ve laboratuvar harcamaları ile de dolaylı önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Özellikle neonatal dönemde ishale daha sık rastlanılmakta ve sonuçları daha ciddi olmaktadır. Buzağılarda neonatal dönemde *E. coli*, *Rotavirus* ve *Coronavirus* yanında ishale neden olan önemli bir etken de zoonotik karakterdeki *C. parvum*'dur.

*Cryptosporidium* ile klinik enfeksiyonun oluşması veya oluşturulması için alınması gereken ookist sayısı, bireysel duyarlılık ve konakçı direncine bağlı olarak oldukça farklılık göstermektedir. Duyarlı ya da immunsupresif hayvanlar düşük ookist dozlarında bile (10 ookist) enfeksiyona yakalanabilirler (Divers ve Peek 2008, O'Hara ve Chen 2011). Enfektif bir hayvanın 1 gram dışkı ile milyonlarca ookist saçması enfeksiyonun hızla yayılıp bir sürü problemi haline gelmesini kolaylaştıran bir faktördür (De Graaf ve ark 1999, Hamnes ve ark 2006, Divers ve Peek 2008). Birçok türde cryptosporiosis deneysel olarak da oluşturulabilmektedir. Birçok araştırmacı (Viel ve ark 2007, Schnyder ve ark 2009, Al-Mathal ve Alsalem 2012, Zambriski ve ark 2013) farklı hayvan türlerinde  $1 \times 10^3$  ile  $1 \times 10^7$  arasında ookist verilmesiyle deneysel klinik enfeksiyonun oluştuğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmada da  $1 \times 10^7$  dozunda bir kez verilen *C. parvum* ookistleri ile enfekte grupta dışkıda ookistlerin mikroskopik bakıda belirlenmesi ve klinik bulgular ile enfeksiyon oluştuğu ortaya konulmuştur.

Neonatal dönemde buzağılarda ishalin en önemli nedenlerinin *E. coli*, *Rotavirus* ve *Coronavirus* ile *C. parvum* olduğu ve çoğunlukla da miks seyrettiği bildirilmektedir (Kaske 1993, Schnyder ve ark 2009). Bu çalışmada oluşan ishalin *C. parvum*'a bağlı mono olarak şekillendiği söz konusu diğer etkenlerin dışkıda test kiti ile belirlenememesi ile saptanmıştır.

Cryptosporidiosisin göze çarpan en önemli klinik semptomu ishaldir. İştahsızlık, kas titremeleri, dengesiz yürüyüş, sıvı-elektrolit kaybı, halsizlik, kilo kaybı, gelişme geriliği, beden sıcaklığında hafif artış (maksimum  $40.1^{\circ}\text{C}$ ) ve kıllarda karışıklık, cryptosporidiosisde görülen diğer klinik semptomlardır. Ayrıca, dışkı rengi açık sarı-beyazdan yeşil-siyaha kadar, dışkının kıvamı ise pastözden sulu forma kadar değişmekte ve dışkı mukus, fibrin, gaz kabarcığı ve kan izleri taşımaktadır. Hastalık üç günlük

buzağılardan erişkin sığırlara kadar her yaştaki sığırlarda gözlenebilir. Fakat özellikle 3 haftalıktan küçük hayvanlarda ölümle sonuçlanabilen ishallerle neden olmaktadır (Fayer ve ark 2000). Bu çalışmada *C. parvum* ile deneysel enfekte edilen tüm buzağılarda pastözden sulu karaktere kadar değişen kıvamda, açık sarıdan yeşilimsi kahverengiye değişen renkte, pis kokulu ishal gözlemlendi. Buzağuların genel görünüşlerinin canlı, beden ısısının 38,1 ile 40,3 °C arasında değiştiği belirlendi.

Sıvı alımının azalması veya kaybının artmasına bağlı vücut ağırlığında %5'e kadar kayıp, diğer bir ifadeyle 50 ml/kg'a kadar sıvı kaybı sonucu gelişen dehidrasyon çok hafiftir ve klinik olarak belirlenemeyebilir (Hartmann 1995). Buna karşın, hafif-orta derecede sıvı kaybı sonucu gelişen (%5-7) dehidrasyonda deri elastikiyetinde azalma, göz küresinde farklı derecelerde çökme, emme refleksinin azalması dikkati çeken bulgulardandır (Kurtdebe 1987, Klee 1989, Stöber ve ark 1990, Kaske 1994, Şahal ve ark 1994, Hartmann 1995). Bu çalışmada ishallerde belirlenen klinik bulgular, ağırlıklı olarak hafif ishallerde buzağılarda araştırmacılar tarafından bildirilen bulgular ile paralellik göstermektedir.

Akut bir ishallerde tüm patofizyolojik değişiklikler temel olarak dışkıyla yoğun sıvı ve elektrolit kayıplarına bağlı olarak gelişir (Argenzio 1984, Baljer ve Weiler 1989, Klee 1989 Kaske 1994; Rossow 1995). Ekstraselüler kompartmandan gerçekleşen sıvı ve elektrolit kayıpları sonucu hemokonsantrasyon, prerenal azotemi, metabolik asidozis ve hiperkalemi gelişmektedir (Klee 1989, Kaske 1994, Hartmann 1995). HCT değeri, RBC ile serum total protein ve albumin konsantrasyonlarındaki artış hemokonsantrasyonun önemli göstergelerindedir (Stöber ve ark 1990). İshallerde buzağılarda yoğun intestinal sıvı kaybı sonucu HCT değerinin önemli düzeyde arttığı (Fischer ve Butte 1974, Kurtdebe 1987, Slanina 1988, Şahal ve ark 1994) ve dehidrasyonun derecesi ile HCT değeri arasında pozitif bir ilişkinin bulunduğu bildirilmektedir (Slanina 1988, Şahal ve ark 1993, Constable ve ark 1998). Bu çalışmada HCT değeri ve RBC sayısının zamanla gösterdiği değişimin önemli, sağlıklı buzağularla arasındaki farkın anlamlı bulunmaması (Çizelge 1) Hafez'in (1974) bulguları ile uyumluluk göstermektedir. Hafez'in (1974) belirttiği gibi bakteriyel ve viral kökenli ishallerde buzağılarda sağlıklı buzağılara göre HCT değerinde önemli düzeylerde artışlar olduğunu, alimenter ve paraziter enteritisli buzağılarda ise değişimlerin istatistiksel anlamlı olmadığını belirtmektedir. Bu çalışmada gelişen hemokonsantrasyonun derecesi yüksek değildir. Bu durum ishallerin *C. parvum* ile mono olması nedeniyle hafif seyretmesine dayandırılabilir.

İshalli buzağılarda total WBC ve diferansiyel lökosit sayıları bir örneklilik göstermemektedir. Başta ishalin etiyojisi olmak üzere birçok faktörden etkilenmektedir. Bu çalışmada total WBC, LYM ve NEU sayılarının zamanla gösterdiği değişim enfeksiyon kaynaklı olmakla birlikte, Klinkon ve Jezerk'in (2012) bildirdiği gibi yaş ile ilişkili fizyolojik değişimle açıklanabilir. Gruplar arasındaki önemliliğin ise bağırsaklarda *C. parvum*'un neden olduğu fizyopatolojik değişiklikler ile doğrudan veya dolaylı olarak oluştuğu düşünülmektedir. Benzer şekilde PLT sayısının her iki grupta da zamanla gösterdiği değişimin Klinkon ve Jezerk'in (2012) bildirdiği gibi yaş ile ilişkili fizyolojik değişimle açıklanabilir.

İshalin süresinin 14 günden fazla devam etmesi durumda persistent bir ishalden söz edilmekte ve malnutrisyon ile bir arada olduğunda ölüm riski artmaktadır. Bu hastaların immun kapasitelerinin azalması nedeniyle enfeksiyonlara yakalanma riski daha yüksektir. İshal olgularının persistent hale gelmesinin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Ancak yeni doğum, kolostrum alınmaması, ishalin başlamadan önceki geçirilen hastalıklar, besi durumu, ve sellüler immun fonksiyonun durumu gibi hastaya ait özellikler spesifik etiyojistik ajandan daha çok ishalin persistent olmasından sorumludur. *C. parvum* enfeksiyonunun sağaltımı için günümüze kadar 200'den fazla ajan denenmiştir. Ancak hiçbiri klinik bulguların tam olarak kontrol altına alınmasını ve enfeksiyonun tamamen ortadan kalkmasını sağlamamıştır (Shadiduzzaman ve Dauschies 2012).

Çinko gibi iz elementler bir çok sellüler fonksiyon için esansiyeldir ve intestinal mukozasının onarılmasında önemli bir fonksiyona sahiptir. Çinko eksikliği sonucu, anormal immun fonksiyon ile enfeksiyöz hastalık oranı artmaktadır. İshalli çocuklarda çinko ilavesinin ishalin şiddeti ve süresi üzerine klinik olarak önemli derecede olumlu bir etkide bulunduğu rapor edilmektedir (Bettger ve O'Dell 2003). Bhandari ve ark (2002) çinko ilavesi yapılan çocuklarda tekrarlayan, ağır ve uzamış ishal ataklarının, ishale bağlı mortalite ve malnutrisyon oranının azaldığını bildirmektedirler. Çinko seviyesinde düşüklüğün ishal süresini ve dolayısı ile şiddetini arttırma olasılığının yüksek olacağına dikkate alınması gerektiği vurgulanmaktadır. Bu nedenle akut ishalli çocuklarda çinko tedavisinin ishalin kontrolünde önemli olduğu düşünülmekte ve ishalli çocukların gıdalarına çinko gibi iz elementlerin verilmesi önerilmektedir (Strand ve ark 2002). İshalli buzağılarda serum veya kan Fe, Cu ve Zn konsantrasyonları sınırlı sayıda araştırmada değerlendirilmiş ve farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Ghergariu ve Kadar (1979), sağlıklı buzağılara göre neonatal ishalli buzağılarda serum Fe, Cu ve Zn konsantrasyonlarının



önemli düzeylerde düşük olduğunu belirlerken buna karşın Ranjan ve ark (2006), ishali buzağılarda kan Zn konsantrasyonunda önemli düzeyde azalma, Cu konsantrasyonunda ise önemli düzeyde artış olduğunu rapor etmektedirler. Elmasoğlu (2008) ise akut ishali buzağılarda serum Cu ve Zn konsantrasyonlarının önemli derecede düşük olduğunu serum Fe konsantrasyonunda ise istatistiksel anlamlı bir farklılığın oluşmadığını bildirmektedirler. Bu çalışmaların hiç birinde etiyolojik açıdan bir değerlendirme yapılmazken, *C. parvum* ile deneysel enfekte buzağılarda iz elementlerin değerlendirilmesinin amaçlandığı ilk çalışma olan bu çalışmada diğer çalışmalarda olduğu gibi *C. parvum* ile deneysel enfekte buzağılarda serum Fe, Zn ve Cu konsantrasyonlarının zamanla; Cu ve Fe konsantrasyonlarının gruplar arasında gösterdiği değişimlerin önemli olduğu belirlendi.

Fe, Cu ve Zn büyüme, gelişme ve yaşamın sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesi için esansiyel olan iz elementlerdir. Serum veya plazmada Fe, Cu ve Zn konsantrasyonlarının ölçümü bu iz elementlerin noksanlıklarının tanısında çoğunlukla kullanılan değişkenlerdir (Gooneratne ve ark 1989, Smith 1989, McDowell 1992, Keen ve Gerschwin 2000, Staufenbiel 2002). Sağlıklı yeni doğan buzağılarda serum Fe konsantrasyonu  $18,0 \pm 27,7 \mu\text{mol/L}$ , Cu konsantrasyonu  $9,88-13,0 \mu\text{mol/L}$  ve Zn konsantrasyonu  $16,27-66,06 \mu\text{mol/L}$  arasında değişmektedir (Bostedt ve ark 1990, Ranjan ve ark 2006, Elmasoğlu 2008) Enfektif, immunolojik, neoplastik, travmatik, paraziter veya diğer nedenlere bağlı doku hasarının oluşmasından kısa bir süre sonra ortaya çıkan akut faz yanıt, ateş ve lökositozis yanında serum Fe ve Zn konsantrasyonlarında azalma, Cu konsantrasyonunda ise artışla karakterizedir (Gruys ve ark 1994, Eckersall 2000). Söz konusu araştırmacılar ishali buzağılarda kan Zn konsantrasyonundaki azalmayı ishal sırasında gastrointestinal kanalda Zn'nun kaybı ve zayıf absorpsiyonu, immun sistemde Zn ihtiyacının artması ve Zn'nun doku düzeyinde antioksidan enzimlerin sentezi için kullanımı ve biriktirilmesinden, kan Cu konsantrasyonundaki artışı da akut faz reaksiyon ve seruloplazmin ve diğer eritrositik antioksidant enzimler gibi Cu içeren antioksidantlardan ileri geldiğini düşünmüşlerdir. Bu çalışmada *C. parvum* ile enfekte buzağılarda serum Fe konsantrasyonundaki azalma kısmen akut faz reaksiyonla ilişkilendirilebilir. Ancak buzağılarda serum Fe, Cu ve Zn konsantrasyonlarındaki değişimin diğer nedenlerden olabileceğini düşündürmektedir. Akut faz yanıtına ilişkin olarak artması beklenen serum Cu konsantrasyonunun *C. parvum* ile enfekte buzağılarda artmaması ve Zn konsantrasyonunun gruplar arası fark göstermemesi bu durumu desteklememektedir. *C. parvum* ile enfekte buzağılarda serum Cu ve Zn konsantrasyonundaki önemli düzeydeki azalmalar ishalin

neden olduğu anoreksi, bağırsak hasarı, malassimilasyon ve doğrudan kayıplar (Argenzio 1984, Baljer ve Wieler 1989, Kaske 1993, Keen ve Gerschwin 2000, Staufenbiel 2002, Failla 2003, Ranjan ve ark. 2006), adrenal yetmezlik (Ghargariu ve Kadar 1979) ve immun sistemde ihtiyacın artması, doku düzeyinde antioksidan enzimlerin sentezi için kullanımı ve depolanmasından kaynaklanabilir.

Tabrizi ve ark (2011) doğum esnasında buzağuların bakır konsantrasyonlarının doğumdan sonraki 24 saatlik zaman diliminden sonra kademeli olarak arttığını bildirmektedirler. Doğum esnasında bakır konsantrasyonu  $14,28 \pm 0,47 \mu\text{mol/L}$ , doğumdan 24 saat sonra  $15,6 \pm 0,62 \mu\text{mol/L}$ , 48 saat sonra  $15,85 \pm 0,78 \mu\text{mol/L}$  ve 72 saat sonra ise  $18,21 \pm 0,62 \mu\text{mol/L}$  olduğu rapor edilmektedir. Yeni doğan buzağuların kolostrum almaları sağlanarak bakır seviyelerinin arttırılabileceği, bakır konsantrasyonunun yaşamın ilk üç haftasında ilk günlere göre önemli bir şekilde arttığı bildirilmektedir. Bu çalışmada da sağlıklı buzağulardaki Cu konsantrasyonu Tabrizi ve ark (2011) bildirdiği gibi yaş ile ilişkili fizyolojik değişim bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Bostedt ve ark (1990) buzağularda ilk yaşam günü serum demir konsantrasyonunun  $27,7 \pm 9,6 \mu\text{mol/L}$ , 4 günlük yaşta ise  $18,0 \pm 3,0 \mu\text{mol/L}$  olduğu bildirmektedirler. Ayrıca yaşamdaki ikinci haftadan sonra demir konsantrasyonun artmaya başladığını ve 6 haftalık yaşta doğumdaki ile benzer seviyeye ulaştığını ( $28,0 \pm 7,8 \mu\text{mol/L}$ ) rapor etmektedirler. Bu çalışmada her iki grupta da ortaya çıkan değişimin Bostedt'in bulgularıyla uyumlu olduğu ancak Fe konsantrasyonunun *C. parvum* ile enfekte buzağularda daha düşük seyrettiği belirlendi.

Zimmermann ve ark (2007) bağırsak villusların tepe kısmında bulunan olgun enterositlerce de demir emiliminin gerçekleştirilebildiğini bildirmektedirler. Enterositin apikal tarafından emilen demir hücre içinde bazolateral tarafa taşınır ve bazolateral membrandan plazmaya gönderilmektedir. Symeonidis ve Marangos (2012) demir'in birçok protozoon patojenin için gerekli bir besin maddesi olduğunu rapor etmektedir. *C. parvum* da yaşam siklusunu devam ettirebilmesi için demire ihtiyaç duymakta ve bunu konakçıdan karşılamaktadır. Bu çalışmada *C. parvum* ile enfekte buzağularda sağlıklı buzağulara göre demir konsantrasyonunun daha düşük seyretmesi olası akut faz yanıt dışında *C. parvum*'un barsak villuslarında oluşturduğu yıkımlanmaya bağlı olarak demirin emilim mekanizmalarının etkilenmesi ile Symeonidis ve Marangos (2012) bildirdiği gibi büyüme

ve gelişmesini sürdürebilmesi için *C. parvum* tarafından demirin kullanımının artmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

## 5. SONUÇ

Organizma için iz elementler; büyüme, gelişme, yaşamın sağlıklı bir şekilde sürdürülmesi ve optimum vücut gelişiminin tamamlanması için gerekli maddelerdir. İz elementlerin organik maddelerin yapılarına girmeleri, enzim aktivasyonunda görev almaları, vücut asit-baz dengesinin düzenlenmesi, vitamin sentezi, hormon üretimi, doku sentezi, oksijen transportu, enerji üretimi ve büyüme, sağlık ve reproduksiyon, vücut osmotik basıncın, dolaşım, iskelet ve sinir sistemi fonksiyonlarının düzenlenmesi gibi fonksiyonel görevlere sahip oldukları bildirilmektedir.

Bu çalışmada; *C. parvum* ile deneysel enfekte buzağılarda serum Fe, Zn ve Cu konsantrasyonlarının zamanla; Cu ve Fe konsantrasyonlarının gruplar arasında gösterdiği değişimlerin önemli olduğu belirlendi.

Sonuç olarak; *C. parvum* ile enfekte buzağılarda serum Fe, Cu ve Zn konsantrasyonlarının *C. parvum*'un neden olduğu fizyopatolojik değişikliklere bağlı etkilenebileceği sonucuna varıldı. Bu kapsamda *C. parvum* ile enfekte buzağılarda destekleyici sağaltım amacıyla, Fe, Cu ve Zn gibi iz elementlerin etkinliğinin değerlendirileceği çalışmaların faydalı olabileceği düşünülmektedir.

## ÖZET

### ***Cryptosporidium parvum* ile Deneysel Enfekte Buzağlarda Serum Demir, Bakır ve Çinko Konsantrasyonlarının İncelenmesi**

Bu çalışmada, *Cryptosporidium parvum* ile deneysel enfekte buzağlarda serum demir, bakır ve çinko konsantrasyonlarının incelenmesi amaçlandı. Araştırmanın hayvan materyalini 1-3 günlük yaşta, kolostrum almış, 16 adet sağlıklı erkek holştayn buzağı oluşturdu. Buzağlar 2 gruba (n=8) ayrıldı ve 1. gruptaki her buzağıya  $1 \times 10^7$  adet *C. parvum* ookisti oral yolla verilerek deneysel olarak enfekte edildi. Kontrol grubu olarak tanımlanan 2. gruba ise plasebo uygulandı. Buzağlar klinik, hematolojik, biyokimyasal ve parazitolojik muayene bulguları dikkate alınarak değerlendirildi ve bir ay boyunca gözlemlendi. Serum Fe, Zn ve Cu konsantrasyonlarının ölçümü için kan örnekleri inokulasyondan bir gün önce, inokulasyon günü ve inokulasyondan sonra 1., 2., 4., 7., 14. ve 28. günlerde alındı. Yapılan analizlerde sağlıklı buzağlara göre *C. parvum* ile enfekte buzağlarda Fe, Zn ve Cu konsantrasyonlarının zaman ile gösterdiği değişimin sırasıyla  $p < 0,01$ ;  $p < 0,05$   $p < 0,05$  düzeyinde önemli olduğu belirlendi. Serum Cu ve Fe konsantrasyonları gruplar arasında sırasıyla  $p < 0,05$  ve  $p < 0,01$  düzeyinde farklılık gösterirken, Zn konsantrasyonunun da anlamlı bir farklılık belirlenmedi.

Sonuç olarak; *C. parvum* ile enfekte buzağlarda serum Fe, Cu ve Zn konsantrasyonlarının *C. parvum*'un neden olduğu fizyopatolojik değişikliklere bağlı etkilenebileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: *Cryptosporidium parvum*, neonatal buzağı, ishal, demir, bakır, çinko.

## SUMMARY

### **Interpretation of Serum Iron, Copper and Zinc Concentrations in Experimentally Induced *Cryptosporidium parvum* Infection Among Calves**

In the present study, the aim was to analyze serum iron, copper and zinc concentrations among experimentally induced *C. parvum* infection of calves. The animal material of the research consisted 1-3 days old, colostrum treated, 16 healthy male Holstein calves. Calves were enrolled into 2 groups (n=8) and calves among group I were administered  $1 \times 10^7$  *C. parvum* oocysts orally, in an attempt to experimental infection. Group II identified as control group, received placebo. Calves were evaluated taking into account relevant clinical, haematological, biochemical and parasitological signs and monitored for 1 month duration. For interpretation of Fe, Zn and Cu concentrations, blood samples were withdrawn 1 day prior to inoculation, at the time of inoculation and following days 1., 2., 4., 7., 14., 28., after inoculation. Analysis performed revealed that *C. parvum* infected calves presented alterations among Fe, Zn and Cu concentrations with time respectively at the levels of  $p < 0,01$ ,  $p < 0,05$ , and  $p < 0,05$ . Cu and Fe concentrations among groups showed alterations at the level of  $p < 0,05$  and  $p < 0,01$  besides there was no statistical difference among groups for zinc concentration.

In conclusion it was suggested that among calves infected with *C. parvum* serum iron, copper and zinc concentrations might have alterations due physiopathological changes induced by *C. parvum*.

Key words: *Cryptosporidium parvum*, neonatal calf, diarrhea, iron, copper, zinc

## KAYNAKLAR

- Akın İ. İz Elementler ve Sığır Tırnak Hastalıkları. Veteriner Cerrahi Dergisi, 2004;10(3-4):54-61.
- Al-Mathal EM, Alsalem AM. Pomegranate (*Punica granatum*) peel is effective in a murine model of experimental *Cryptosporidium parvum* Experimental Parasitology, 2012;131(3):350-7.
- Argenzio RA. Pathophysiology of neonatal diarrhea, Agri-Practice, 1984;5:25-32.
- Arthington JD. Essential Trace minerals for Grazing Cattle in Florida. AN086 Animal Science Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 2006. <http://edis.ifas.ufl.edu/AN0866>
- Ası T. Tablolarla Biyokimya. Sayfa: 54-64, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1996.
- Aştı C, Özbakiş G, Azruk AF, Orkun Ö, Nalbantoğlu S, Çakmak A, Burgu A. Farklı İllere Ait Buzağı Dışkı Bakısı Sonuçları. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2012;18(A):209-214.
- Avcı C. Enjektabl İzelementlerin Geçiş Dönemindeki İneklerde Metabolik Profil Üzerine Etkileri (Yüksek Lisans Tezi) Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları ABD 2012.
- Baljer G, Wieler L. Ätiologie, Pathogenese und Immunprophylaxe der neonatalen Durchfallerkrankungen der Kälber, Vet, 1989;5:18-26.
- Barceloux DG. Zinc. Clin. Toxicol, 1999,37:279-292.
- Berg JM, Shi Y. The galvanization of biology; a growing appreciation for the roles of zinc. Science 1996;271:1081-1085.
- Betancourt WQ, Rose JB. Drinking water treatment processes for removal of *Cryptosporidium* and *Giardia*, Veterinary Parasitology, 2004;126, 219-234.
- Betteger WJ, O'Dell BL. A critical physiological role of zinc on the structure and function of biomembranes Indian Pediatr, 2003;40:463-476.
- Bhandari N, Bahl R, Hambidge KM, Bhan MK. Increased diarrhoeal and respiratory morbidity in association with zinc deficiency-a preliminary report. Acta Paediatr, 1996;85:148-50.

- Bhandari N, Bahl R, Taneja S, Standard T, Molbak K, Ulvik RJ, Bhan MK. Substantial reduction in severe diarrheal morbidity by daily zinc supplementation in young north Indian children. *Pediatrics*, 2002;109(6):e86.
- Bhutta ZA, Bird SM, Black RE. Therapeutic effects of oral zinc in acute and persistent diarrhea in children in developing countries: pooled analysis of randomized controlled trials. *The American journal of clinical nutrition*, 2000;72(6):1516-22.
- Blood DC, Hederson JA, Rodostitis OM. *Veterinary Medicine. A Textbook of the Disorders of Cattle, Sheep, Pigs and Horses*. Fifth Edition, Bailliere Tindall, London, 1979.
- Blume M, Klinische. Labordiagnostische und sonographische Untersuchungen an Kälbern mit neonataler Diarrhoe sowie Studien zum Ausgleich der Metabolischen Azidose durch Infusionen von Natriumbikarbonat – Lösungen in die Ohrvene, Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades des Dr. Vet Med. Beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig Universität Giessen Giessen, Germany, 2007; Pp. 276 – 338.
- Bopp SB. Calves and Cryptosporidiosis. *Bovine Veterinaria*, 2003;4-8.
- Bostedt H, Jekel E, Shramel P. Zur entwicklung der Eisen und Kupferkonzentration im Blutplasma von Kälbern in den ersten Lebenstagen und Wochen, gleichzeitig ein Beitrag zur larvierten neonatalen Eisenmangelanämie. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, ISSN 0341-6593, 1990;97(10) pp. 400 – 403.
- Bragulla HH, Reese S, Budras KD, Steinberg W. How Structures in Bovine Hoof Epidermis are Influenced by Nutritional Factors. *Anatomia, histologia, embryologia*, 1999;28(2):103-108.
- Chandra RF, Sarchielli P. Nutritional status and immune responses. *Clinics in Laboratory Medicine*, 1993;13:455-61.
- Chandra RK, Mc Bean LD, Kumari S. Zinc and immunity. *Nutrition*, 1994;10:79-80.
- Chen X, Levine SA, Splinter PL, Tietz PS, Ganong AL, Jobin C, Gores GJ, Paya CV, LaRusso NF. *Cryptosporidium parvum* activates Nuclear Factor KB in Biliary Epithelia Preventing Epithelial Cell Apoptosis, *Gastroenterology*, 2001;120:1774 – 1783.
- Clement JC, King ME, Salman MD, Wittum TE, Casper HH, Odde KG. Use of epidemiologic principles to identify risk factors associated with the development of diarrhea in calves in five beef herds. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1995;207:1334-1338.



- Coklin T, Uehlinger FD, Farber JM, Berkema HW, O'Handley RM, Dixon BR. Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium spp.* in dairy calves from farms in Prince Edward Island, Canada, *Veterinary Parasitology*, 2009;160:323 – 326.
- Constable PD, Walker PG, Morin DE, Foreman JH. Clinical and laboratory assessment of hydration status of neonatal calves with diarrhea, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1998;212:991-996.
- Cortese VS Neonatal Immunology. Smith RA, Smith GS. (Editors), *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice – Bovine Neonatology*, 2009;25(1):221-225.
- Çetin N, Özer E, Bakiler AR, Sözen G, Yensel N. Akut İshalli Süt Çocuklarında Serum Çinko Düzeyi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2003;10(2):55-57.
- David BM. Trace elements. In: Carl AB, Edward RA (eds): *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, Philadelphia WB. Saunders Company, 1999;Pp 1029-1055.
- De Domenico I, McVey Ward D, Kaplan J. Regulation of iron acquisition and storage: Consequences for iron-linked disorders. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2008;9:72-81.
- De Graaf DC, Vanopdenbosch E, Ortega-Mora LM, Abbassi H, Peeters JE. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals, *International Journal for Parasitology*, 1999;29:1269 – 1287.
- Delaby C, Pilard N, Goncalves AS, Beaumont C, Cannone-Hergeux F. The presence of the iron exporter ferroportin at the plasma membrane of macrophages is enhanced by iron loading and down-regulated by hepcidin. *Blood*, 2005; 106:(12)3979-3984.
- De La Fuente R, Luzón M, Ruiz-Santa-Quiteria JA, García A, Cid D, Orden JA, García S, Sanz R, Gómez-Bautista M, *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain, *Veterinary Parasitology*, 1999;80:179 – 185.
- Demirci M, Delibaş N, Altuntas I, Oktem F, Yönden Z. Serum Iron, Zinc and Copper Levels and Lipid Peroxidation in Children with Chronic Giardiasis. *Journal of Health, Population and Nutrition (JHPN)*, 2003;21(1):72-75.

Dijkstra M, Kuipers F, Smit EP, Havinga R, Vonk RJ. The role of glutathione in bile secretion of endogenous trace elements in rats. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 1993;121:751-758.

Divers TJ, Peek SF. *Rebhun's Diseases of Dairy cattle* (2nd edition), (pp. 217-219), St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Health Sciences, ISBN: 2008;978-1-4160-3137-6.

Dokey DL. *Clinical Pathology and Diagnostic Procedures*. Second Edition, Bailliere Tindall, London, 1983.

Eckersall PD. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals, *Revue de Médecine Vétérinaire*, 2000;151: 577-584.

Elmasoğlu OI. Akut İshalli Buzağılarda Serum Demir, Bakır ve Çinko Konsantrasyonlarının Değerlendirilmesi (Yüksek Lisans Tezi) Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner İç Hastalıkları ABD 2008.

Elgün G. İshalli Dışkı Örneklerinde *Cryptosporidium sp.* Antijeninin ELISA Yöntemiyle Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi) Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji ABD 2009.

Elitok E, Elitok OM, Pulat H. Efficacy of azithromycin dihydrate in treatment of cryptosporidiosis in naturally infected dairy calves, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2005;19, 4, 590 – 593.

Enjalbert F, Lebreton P, Salat O. Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: retrospective study. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2006;90:459-466.

Enjalbert F. The relationship between trace elements status and health in calves Dairy *Revue de Médecine Vétérinaire*, 2009;160:8-9, 429-435.

Ericson DO, Harrold RL, Carlson RC. Calf scours as it relates to selected nutritional components of colostrums. *North Dakota Farm Research*, 1981;38, 18-20.

Evans P, Halliwell B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *British Journal of Nutrition*, 2001;85:s57-s74.

Failla ML. Trace elements and host defense: recent advances and continuing challenges, *The Journal of nutrition*, 2003;133:1443–1447.

- Fayer R, Ellis W. Paromomycin is effective as prophylaxis for cryptosporidiosis in dairy calves, *Journal for Parasitology*, 1993;79(5):771 – 774.
- Fayer R, Morgan U, Upton SJ. Epidemiology of *Cryptosporidium*: Transmission, detection and identification, *International Journal for Parasitology*, 2000;30:1305 – 1322.
- Fayer R, Santín M, Trout J, Greiner E. Prevalence of species and genotypes of *Cryptosporidium* found in 1–2-year-old dairy cattle in the eastern United States, *Veterinary Parasitology*, 2006;135:105- 112.
- Fischer W, Butte R. Vergleichende Untersuchungen des Elektrolyte- und Blutstatus bei gesunden und an Enteritis erkrankten Kälbern, *Deutsch. tierärztl. Wochenschr*, 1974;81:567- 570.
- Fidancı UR. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 1986;56 (1): 37-44.
- Fonseca IMSP. Contribuição para o estudo da criptosporidiose animal em Portugal: caracterização genética de isolados de *Cryptosporidium parvum* de origem bovina, Dissertação de Doutoramento apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, 2000.
- Foster DM, Smith GW. Pathology of Diarrhea in Calves, Smith RA, Smith GS. (Editors), *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice – Bovine Neonatology*, 2009;25(1):13-21.
- Frazer DM, Anderson GJ. The orchestration of body iron intake: How and where do enterocytes receive their cues? *Blood cells, molecules, and diseases*, 2003; 30: 288-297.
- Garcia LS, Shimizu RY. Evaluation of Nine Immunoessay kits (Enzyme Immunoessay and Direct Fluorescence) for Detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in Human Fecal Specimens, *Journal of Clinical Microbiology*, 1997;35(6):1526 – 1529.
- Ghergariu S, Kadar L. Behaviour of Cu, Fe, and Zn blood levels in diseased cattle. I. Changes in neonatal diarrhoea. II. Changes during respiratory disease in young cattle. *Zentralblatt für Veterinärmedizin*, 1979;26A:666-675.
- Goldoft MJ, Todd D. Cryptosporidiosis. *Epitrens*, 2008;13(7):1-4.
- Gookin JL, Nordone SK, Argenzio RA. Host Responses to *Cryptosporidium* Infection, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2002;16:12 – 21.

- Gow S, Waldner C. 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, *Veterinary Parasitology*, 2006;137:50 – 61.
- Gooneratne SR, Buckley WT, Christensen DA. Review of copper deficiency and metabolism in ruminants, *Canadian Journal of Animal Science*, 1989;69:819–845.
- Göbel E. Diagnose und Therapie der akuten Kryptosporidiose beim Kalb. *Tierarztl Umschau*, 1987;42:863-869.
- Graham TW. Trace element deficiencies in cattle, *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 1991;7:153-215.
- Grinberg A, Markovics A, Galindez J, Lopez-Villalobos N, Kosak A, Tranquillo VM. Controlling the onset of natural cryptosporidiosis in calves with paromomycin sulphate. *Veterinary Record*, 2002;151: 606–608.
- Gruys E, Obwolo MJ, Toussaint MJM. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review, *Veterinary Bulletin*, 1994;64:1009-1018.
- Gül Y. Geviş Getiren Hayvanların İç Hastalıkları (Sığır, Koyun-Keçi), Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti. Malatya, 2006;ss25,443-461.
- Hafez AM. Untersuchungen zum Verhalten einiger Elektrolyte in Pansensaft, Blutserum und Harn sowie des roten und weissen Blutbildes bei gesunden und enteritiskranken Rindern im Hinblick auf therapeutische Schlussfolgerungen Inaugural – Dissertation, Tierärztliche Hochschule, Hannover, 1974.
- Hall JO. Appropriate methods of diagnosing mineral deficiencies in cattle Tri- State Dairy Nutrition Conference. April 25 and 26, 2006. [Electronic Journal] Erişim <http://tristatedairy.osu.edu>.
- Hannes IS, Gjerde B, Robertson L. Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in three areas of Norway, *Veterinary Parasitology*, 2006;140:204 – 216.
- Harp JA, Woodmansee DB, Moon HW. Resistance of Calves to *Cryptosporidium parvum* Effects of Age and Previous Exposure, *Infection and Immunity – American Society for Microbiology*, 1990;58(7)2237 – 2240.

- Harp JA, Goff JP. Strategies for the Control of *Cryptosporidium parvum* infection in Calves. Journal of Dairy Science, 1998;81:289 – 294.
- Harris B, Adams JAL, Horn HH. Mineral Needs of Dairy Cattle. University of Florida, Florida Cooperative Extension Service Circular 468 April, 1994. <http://edis.ifas.ufl.edu/DS122> (Erisim 16.03.2007).
- Hartmann H. Flüssigkeitstherapie bei Tieren, Gustav Fischer Verlag, Jena-Stuttgart 1995.
- Heine J, Pohlenz JF, Moon HW, Woode GN. Enteric lesions and diarrhea in genotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species (Abstract), The journal of Infectious diseases, 1984;150, 5.
- Hentze MW, Muckenthaler MU, Andrews NC. Balancing acts: Molecular control of mammalian iron metabolism. Cell 2004; 117: 285-297.
- Imre K, Lobo LM, Matos O, Popescu C, Genchi C, Dărăbus G. Molecular characterisation of *Cryptosporidium* isolates from preweaned calves in Romania is there an actual risk of zoonotic infections, Veterinary Parasitology, 2011; doi:10.1016/j.vetpar.2011.04.042.
- İmren HY, Şahal M. Veteriner İç Hastalıkları (Birinci Baskı), Medisan, Ankara 1991; ss 289- 304.
- Jacobi U. Stoffwechselüberwachung in Milchkuhbeständen. In “Innere Krankheiten der Haustiere. Band II: Funktionelle Störungen.” Rossow N, Horwath Z. (eds) 1st Edition. Gustav, Fischer Verlag, Dena 1988;525-535.
- Jäger M, Gaulty M, Bauer C, Failing K, Erhardt G, Zahner H. Endoparasites in calves of beef cattle herds: Management systems dependent and genetic influences. Veterinary Parasitology, 2005;131:173 – 191.
- Joachim A, Krull T, Schwarzkopf J, Dauschies A. Prevalence and control of bovine cryptosporidiosis in German dairy herds. Veterinary Parasitology, 2003;112:277–288.
- Kaske M. Physiologische Funktionen des Gastrointestinaltraktes und patho physiologische Veraenderungen bei der neonatalen Diarrhoe des Kalbes. Dtsch. Tierarzt, Wschr, 1993;100: 434- 439.
- Kaske M. Pathophysiologische Aspekte der neonatalen Kaelberdiarrhoe. Tierarztl, Umschau, 1994;49:336-348.

- Kaske M, Kunz HJ. Handbuch der Durchfallerkrankungen der Kälber., Osnabrück, Germany: Kamlage Verlag, ISBN: 3-9806688-3-5, 2003; Pp. 9-17,29-31,36–80,109–139.
- Kaufmann J. Parasitic Infections of Domestic Animals – A diagnostic manual, Basel, Switzerland: Birkhäuser. ISBN: 3-7643-5115-2. 1996;Pp. 28.
- Kincaid RL, Cronrath JD. Zinc concentration and distribution in mammary secretions of prepartum cows. *Journal Dairy Science*, 1992;75: 481-848.
- Keen CL, Gerschwin ME Zinc, Radostits OM, Gay CC, Blood DC. *Veterinary Medicine*, 9nd Ed, WB Saunders Co, 2000;pp:1510–1513, Philadelphia.
- King JC. Assessment of Zinc Status. *The Journal of nutrition*. 1990;120:(Suppl.11), 1474.
- Klee W. Aspekte der Behandlung neugeborener Kaelber mit akutem Durchfall, *Vet*. 1989;5: 6-17.
- Klinkon M, Jezek J. *A Bird's-eye View of Veterinary Medicine*. Editor: Carlos C. Perez Marin. Publisher, InTech, (2012), Pp: 614.
- Knowles SO, Grace ND, Knight TW, Mcnabb WC, Lee J. Reasons and means for manipulating the micronutrient composition of milk from grazing dairy cattle. *Animal feed science and technology*, 2006;131: 154-167.
- Koch A. Klinische Wirksamkeit intravenös applizierter hypertoner Kochsalzlösung und hypertoner Natriumbicarbonatlösung bei der symptomatischen Behandlung inappetenter Kälber mit neonataler Diarrhoe – Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades einer Doktorin der Veterinärmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover, Germany, 2004;Pp. 7 – 140.
- Koudela B, Jiří V. Experimental cryptosporidiosis in kids, *Veterinary Parasitology*, 1997;71:273 – 281.
- Kraft W. Hämatologie. In: *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*, W Kraft, UM Dürr, (Ed.), Stuttgart, Germany ISBN 978-3794519422, 1999a;pp. 43-77.
- Krebs NF, Westcott JE, Huffer JW, Miller LV. Absorption of exogenous zinc and secretion of endogenous zinc in the human small intestine. *FASEB J*. 1998;12: A345.
- Krebs NF. Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. *The Journal of nutrition*, 2000;130(5):1374S-1377S.

Kruse-Jarres JD. Pathobiochemistry of zinc metabolism and diagnostic principles in zinc deficiency. *LaboratoriumsMedizin/Journal of Laboratory Medicine*, 1999;23:141-155.

Kurtdede A. Neonatal buzağı enteritleri'nin per os kullanılan glikoz elektrolit solüsyonu (GES) ve glikoz-glisin-elektrolit solüsyonu (GGES) ile sağaltımı üzerinde çalışmalar, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1987;34:177-186.

Kvač M, Hromadová N, Květoňová D, Rost M, Sak B. Molecular characterization of *Cryptosporidium spp.* in pre-weaned dairy calves in the Czech Republic: Absence of *C. ryanae* and management-associated distribution of *C. andersoni*, *C. bovis* and *C. parvum* subtypes, *Veterinary Parasitology*, 2011;177:378 – 382.

Lallemand M, Villeneuve A, Belda J, Dubreuil P. Field study of the efficacy of halofuginone and decoquinate in the treatment of cryptosporidiosis in veal calves. *Veterinary Record*. 2006;159:672–676.

Laurent F, McCole DF, Echmann L, Kagnoff MF. Pathogenesis of *Cryptosporidium parvum* infection, *Microbes and Infection*, 1999;2:141 – 148.

Lorenzo MJ, Ares-Maz'as ME, Villacorta I. Detection of oocysts and IgG antibodies to *Cryptosporidium parvum* in asymptomatic adult cattle. *Veterinary Parasitology*, 1993;47:9–15.

Maureen MB. Zinc deficiency and child development. *The American journal of clinical nutrition* 1998; 68:464S-469S.

McCole DF, Echmann L, Laurent F, Kagnoff MF. Intestinal Cell Apoptosis following *Cryptosporidium parvum* infection, *Infection and Immunity – American Society for Microbiology*, 2000;68:1710 – 1713.

McDowell LR. *Minerals in Animal and Human Nutrition*. ISBN: 0-12-483369-1 Academic Press, Inc. New York, USA.1992.

Mele R, Morales MAG, Tosini F, Pozio E. *Cryptosporidium parvum* of different, developmental stages modulates Host Cell Apoptosis *in vitro*, *Infection and Immunity – American Society for Microbiology*, 2004;72:6061 – 6067.

Mendonça C, Almeida A, Castro A, Delgado ML, Soares S, Costa JMC, Canada N. Molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* isolates from cattle from Portugal, *Veterinary Parasitology Porto, Portugal: Elsevier*, 2007.

Moore DA, Atwill R, Kirk JH, Brahmhatt D, Alonso LH, Hou L, Singer MD, Miller, TD. Prophylactic use of decoquinate for infections with *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves, Journal of the American Veterinary Medicine Association, 2003;223:839 – 845.

MSD Animal Health. Intervet International BV. Halocur Data Sheet Accessed on 20th September,2011,[http://www.msdanimalhealth.co.uk/Products\\_Public/Halocur/090\\_Product\\_Datasheet.aspx](http://www.msdanimalhealth.co.uk/Products_Public/Halocur/090_Product_Datasheet.aspx) 2009.

Muehlenbein EL, Brink DR, Deutscher GH, Carlson MP, Johnson AB. Effects of inorganic and organic copper supplemented to first-calf cows on cow reproduction and calf health and performance. Journal of animal science, 2001;79(7):1650–1659.

Muhid A, Robertson I, Ng J, Ryan U. Prevalence of and management factors contributing to *Cryptosporidium sp.* infection in pre-weaned and post-weaned calves in Johor, Malaysia, Experimental Parasitology, 2011;127:534- 538.

Naciri M, Mancassola R, Yvoré P, Peeters JE. The effect of halofuginone lactate on experimental *Cryptosporidium parvum* infections in calves, Veterinary Parasitology, 1993;45.

Naresh R, Dwivedi SK, Swarup D, Dey S. Zinc, copper and cobalt concentrations in blood during inflammation of mammary gland in dairy cows. Asian Australian Journal of Animal Sciences 2001;14:564-566.

National Research Council-NRC Minerals. National Research Council-NRC (ed.), Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Ed., Natl. Acad. of Scid. 2001;pp:105-161, Washington.

Naveh Y, Lightman A, Zinder O. Effect of diarrhea on serum zinc concentrations in infants and children. The Journal of pediatrics,1982;101(5):730-2.

Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Danova A, Ward DM, Kaplan J. Hcpidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. Science 2004; 306(5704):2090-2093.

Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B, Khan A, Vaulant S. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 2001; 98(15):8780-8785.



Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, Mativet S, Beaumont C, Grandchamp B, Khan A, Vaultant S. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 2002; 99: 4596-4601.

O'Hara SP, Chen XM. The cell biology of *Cryptosporidium* infection, *Microbes and Infection*, 2011;13:721 – 730.

Ojcius DM, Perfettini J, Bonnin A, Laurent F. Caspase-dependent apoptosis during infection with *Cryptosporidium parvum*, *Microbes and Infection*, 1999;1:1163-1168.

O'Handley RM, Olson ME. Giardiasis and Cryptosporidiosis in Ruminants. Ballweber LR, Smith RA. (Editors), *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice – Ruminant Parasitology* 2006;22:623 – 639.

Okatan AG, Çam Y, Leblebici Z. Kayseri Yöresinde Dil Oynatma Hastalığı Olan Sığırlarda Bazı İzelementlerin Serum Düzeylerinin Değerlendirilmesi Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2008;17(1):16-22.

Olson ME, O'Handley RM, Ralston BJ, McAllister TA, Thompson RCA. Update on *Cryptosporidium* and *Giardia infections* in cattle, *Trends in Parasitology* 2004;20:185 – 191.

Özcel MA. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları, Tıbbi Parazitoloji Derneği Yayınları, No:22, İzmir 2007; Pp: 363-376.

Paolicchi F, Perea J, Cseh S, Morsella C. Relationship between Paratuberculosis and the microelements Copper, Zinc, Iron, Selenium and Molybdenum in Beef Cattle Brazilian *Journal of Microbiology* ISSN 1678-4405, 2013;44(1):153-160.

Paterson J, Swenson C, Johnson B, Ansotegui R. Life Cycle Trace Mineral Needs for Reducing Stress in Beef Production. Montana State University Zinpro Corporation, 2007. <http://www.animalrangeextension.montana.edu/articles/beef/nutrition/lifecyclestress.htm> (Erişim 16.03.2007).

Pechová A, Pavlata L, Dvořák R, Lokajová E. Contents of Zn, Cu, Mn and Se in Milk in Relation to their Concentrations in Blood, Milk Yield and Stage of Lactation in Dairy Cattle *Acta Veterinaria Brno* 2008;77(4): 523-531.

Pongs P. Kryptosporidien Infektion beim Kalb Behandlungsversuch mit Lasalocid-Na unter Praxis-bedingungen. *Tierärztl. Umschau*, 1989;44:100–101.

- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats* (10th edition), Philadelphia, USA: Elsevier Saunders. ISBN: 978-0-7020-2777-2. 2007;Pp. 73–76; 82–92; 149–153; 851–860; 1512-1515.
- Ramirez NE, Ward LA, Sreevatsan, SA. Review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals, *Microbes and Infection*, 2004;6:773–785.
- Ranjan R, Naresh R, Patra RC, Swarup D. Erythrocyte Lipid Peroxides And Blood Zinc and Copper Concentrations In Acute Undifferentiated Diarrhoea in Calves *Veterinary Research Communications*, 2006;30(3):249-254.
- Rink L, Kirchner H. Zinc-altered immune function and cytokine production. *The Journal of nutrition*, 2000;130(5):1407-1411.
- Rommel M, Eckert J, Kutzer E, Körting W, Schnieder T, Boch J, Supperer R. (Editors), *Veterinärmedizinische Parasitologie Berlin*, Germany: Parey, ISBN: 3-8263-3178 8, 2000; Pp.144 – 147.
- Rossow N. *Innere Krankheiten für Tierärzte*, Eugen Ulmer, Stuttgart 1995.
- Saenko EL, Yaroplo VAI, Harries ED. Biological function of ceruloplasmin expressed through copper-bindings sites, *J. Trace Elements Exp. Med.*, 1994;7:69-88.
- Saini PK, Ransom G, McNamara M. Emerging Public Health Concerns Regarding Cryptosporidiosis. *Veterinary Medicine Today: Public Veterinary Medicine. Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2000;217: 658-662.
- Santín M, Trout J. *Livestock, Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*, Fayer R, Xiao L. 2nd Edition, Ed. CRC Press, New York USA, 2008; Pp: 458.
- Santín M, Trout JM, Xiao L, Zhou L, Greiner E, Fayer R. Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves, *Veterinary Parasitology*, 2004;122:103–117.
- Semrad CE. Zinc and intestinal function. *Current gastroenterology reports*, 1999;1(5):398-403.
- Schnyder M, Kohler L, Hemphill A, Deplazes P. Prophylactic and therapeutic efficacy of nitazoxanide against *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves. *Veterinary Parasitology*, 2009;160: 149–154.

- Shadiduzzaman MD, Dauschies A. Therapy and Prevention of Cryptosporidiosis, *Veterinary Parasitology*, 2012;188: 203,214.
- Shen XY, Du GZ, Chen YM, Fan BL. Copper deficiency in yaks on pasture in western China. *The Canadian Veterinary Journal*, 2006;47: 902-906.
- Slanina L. Stoffwechselüberwachung in Kaelbernbestaende Rossow N, Horvath Z (eds)” *Innere Krankheiten der Haustiere. Bd II: Funktionelle Störungen*” 1988;p:536-544.
- Smith JE. Iron metabolism and its diseases, Kaneko JJ. (ed.), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 4th Ed., Academic Press, San Diego 1989.
- Sow FB, Florence WC, Satoskar AR, Schlesinger CS, Zwilling BS, Lafuse WP. Expression and localization of hepcidin in macrophages: A role in host defense against tuberculosis. *Journal of Leukocyte Biology*, 2007; 82(4): 934-945.
- Spears JW. Micronutrients and immune function in cattle. *Proceedings of the nutrition society*, 2000;59(04): 587-94.
- Staufenbiel R, Eisenmangel Dirksen G, Gründer HD, Stöber M. *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*, Verlag Parey, 2002;pp: 226-230, Berlin.
- Steinhardt M, Thielscher HH. Reaktionen von Milchrindkälbern auf ACTHApplikation und Flüssignahrungsaufnahme an verschiedenen Alterspunkten vor und während der Aufzucht am Tränkeautomaten–Plasmacortisol, Speichelcortisol, hämatologische, metabolische Variablen und Herzschlagfrequenz. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, ISSN 0341-6593 2000a;107,(5):pp.180-187.
- Steinhardt M, Thielscher HH. Physiologische Variablen und Wachstumsleistung bei Saugkälbern der Mutterkuhhaltung in den ersten beiden Lebensmonaten. *Tierärztliche Umschau*, ISSN 0049-3864, 2000b;55(7):pp. 380-389.
- Stöber M, Gründer HD, Kreislauf Rosenberger G, *Die klinische Untersuchung des Rindes*, 3rdEd, Paul Parey, Berlin und Hamburg, 1990;p:171-241.
- Strand TA, Chandyo RK, Bahl R, Sharma PR, Adhiraki RK, Bhandri N, Sommerfelt H. Effectiveness and efficiacy of zinc for the treatment of acute diarrhea in young children. *Pediatrics* 2002;109(5):898-903.

Sturniolo GC, Fries W, Mazzon E, Di Leo V, Barollo M, D'inca R. Effect of zinc supplementation on intestinal permeability in experimental colitis. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 2002;139(5):311-5.

Symeonidis A, Marangos M. Iron and Microbial Growth. In: Roy PK (Eds), *Insight and Control of Infectious Disease in Global Scenario*. Croatia: Intech; 2012. p. 309.

Şahal M, Ünsüren H, İmren HY. Untersuchungen zur Infusionstherapie bei neugeborenen durchfaelligen Kaelbern aus der Umgebung von Ankara unter spezieller Berücksichtigung einer Azidose (I. Mitteilung), *Dtsch. tieraerztl. Wschr*, 1993;100:138-142.

Şahal M, Kurtdede A, Börkür MK, Ünsüren H, İmren HY, Özlem MB, Kalınbacak A. Yeni doğan ishalleri buzağuların klinik bulguları ve asit-baz dengesi dikkate alınarak sodyumbikarbonat ve elektrolit sıvılarıyla sağaltımı, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1994;41:509-525.

Tabrizi BA, Hasanpour A, Mousavi G, Hajjalilou S. Evaluation of Serum Levels of Copper in Holstein Cows and Their Calves During Colostrum Nourishing *Middle-East Journal of Scientific Research* 2011;7(5):712-714.

Tanyüksel M, Sayal A, Aydın A. Paraziter Hastalıklarda Eser Elementlerin Düzeyleri. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 1995;19(2):315- 321.

Tapiero H, Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomed Pharmacother*, 2003;57:399-411.

Taşkapan Ç, Atambay M, Aycan ÖM, Özyalın F, Yoloğlu S, Miman Ö, Daldan N. Giardiosisli Hastalarda Serum Çinko (Zn) Düzeyleri *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 2007;31(1): 14-16.

Thompson RCA, Palmer CS, O'Handley R, The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals, *The Veterinary Journal*, 2008;177:18-25.

Tzipori S, Ward H. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease, *Microbes and Infection*, 2002;4:1047 – 1058.

Underwood EJ. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. Academic Pres, New York, 1977.

Underwood EJ, Suttle NF. The Mineral Nutrition of Livestock. (3rd ed), CABI Publishing, United Kingdom 1999; pp 1-614.

Underwood EJ, Suttle NF The mineral nutrition of the livestock. CABI Publishing, United Kingdom ISBN 0-85199-128-9, 2001;pp.105 397.

Yakıncı C, Gül A, Gülcan H, Küçükbay Z, Refik M, Şahin A. Giyardiiasis'li çocuklarda serum çinko, bakır ve magnezyum düzeyleri. İnönü Üniversitesi Tıp Fak Dergisi. 1996;3(4):311 - 314.

Viatte L, Lesbordes-Brion JC, Lou DQ, Bennoun M, Nicolas G, Kahn A, Vaulant S. Deregulation of proteins involved in iron metabolism in hepcidin-deficient mice. Blood 2005;105(12):4861-4864.

Viel H, Rocques H, Martin J, Chartier C. Efficacy of nitazoxanide against experimental cryptosporidiosis in goat neonates. Parasitological Research.2007;102(1).7

Villacorta I, Peeters JE, Vanopdenbosch E, Ares-Mazás E, Theys H. Efficacy of Halofuginone Lactate against *Cryptosporidium parvum* in Calves, Antimicrobial agents and Chemotherapy, 1991;35:283 – 287.

Viu M, Quilez J, Sánchez-Acedo C, Del Cacho E, López-Bernard F. Field trial on the therapeutic efficacy of paromomycinon natural *Cryptosporidium parvum* infections in lambs, Veterinary Parasitology, 2000;90:163 – 170.

Ward JD, Gengelbach GP, Spears JW. The effects of copper deficiency with or without high dietary iron or molybdenum on immune function of cattle. Journal of animal science, 1997;75:1400-1408.

Wiske S, Herd D, Field R, Holland P. Diagnosis of copper deficiency in cattle. Journal of the American Veterinary Medical Association, 1992;200:1625-1629.

Zambriski JA, Nydam DV, Bowman DD, Bellosa ML, Burton AJ, Linden TC, Liotta JL, Ollivett TL, Tondello-Martins L, Mohammed HO. Description of fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in experimentallychallenged dairy calves. Parasitological Research, 2013;112(3):1247-54.

Zimmermann MB, Hurrell RF. Nutritional iron deficiency, Lancet 2007; 370: 511–20.

## ÖZGEÇMİŞ

1988 yılı Şubat ayında Ankara’da doğdum. İlköğrenimime Malatya Şehit Konuk İlköğretim ve Eskişehir Şeker İlköğretim okulunda tamamladım. Orta öğrenimine Org. Halil Sözer İlköğretim okulunda tamamladıktan sonra lise eğitim ve öğrenimine yine Eskişehir’de Yunus Emre Lisesinde devam ettim. Üniversite öğrenimine 2006 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesinde başladım. Üniversite öğrenim sürecimde öğrenci topluluklarından ADÜ Binicilik Topluluğu’nun bir yıl Yönetim Kurulu Başkan Yardımcılığı, ADÜ Su Altı Topluluğu’nun 1 yıl Yönetim Kurulu Başkanlığı görevlerinde bulundum. Ayrıca Veteriner Fakültesi Basketbol Takımında 5 yıl süresince fakültemi temsil ettim. 2009-2010 yaz döneminde mesleki stajımı Antalya’da Akdeniz Hayvan Hastanesi’nde tamamladım ve 2011 yılında mezun oldum. Aynı yıl, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladım. Yüksek Lisans eğitimim sürecinde TÜBİTAK projesinde 10 ay süreyle bursiyer öğrenci olarak yer aldım. Ayrıca 2013 yılında Erasmus programından yararlanarak Litvanya Vilnius College’de 6 ay süreli bulundum.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca mesleki bilgi ve beceri edinmemde, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, tez çalışmamın her aşamasında yardımlarını ve ilgisini eksik etmeyen danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Bülent ULUTAŞ'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince mesleki bilgi ve tecrübelerini benimle birlikte paylaşan, yine bu süreç boyunca her türlü konuda destek olan hocalarım Prof. Dr. Hüseyin VOYVODA, Prof. Dr. Serdar PAŞA, Doç. Dr. Kerem URAL ve eğitimime katkıda bulunan tüm hocalarıma,

Yüksek lisansa başladığım günden itibaren desteğini her zaman hissettiğim, hiçbir konuda beni yalnız bırakmayan, tezimi hazırlarken her aşamada büyük katkısını ve desteğini gördüğüm değerli ağabeyim Araş. Gör. Mehmet GÜLTEKİN'e,

2,5 yıllık zaman dilimi içerisinde beraber çalıştığımız İç Hastalıkları Anabilim Dalı bünyesindeki değerli Araş. Gör. G. Emek TUNA ve Araş. Gör. Ceren DİNLER ve tüm lisansüstü arkadaşlarıma, tez çalışma aşamasında bana yardımcı olan sevgili arkadaşlarım Veteriner Hekim Selman YILDIRIM, Erhan AY, Mehmet SÜER ile İntörn Veteriner Hekim Berk ER ve Burak AKBAŞ'a,

Bugünlere gelmemde en büyük emeğe sahip, bin bir sabırla desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen, lisans ve lisansüstü eğitimim süresince yaşamın karşıma çıkardığı zorluklarla baş edebilmem için bana büyük destek veren aileme,

Bu süreç boyunca sabrı ve ilgisini hiçbir zaman eksik etmeyen İzel EROL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.