

TÜRKİYE'DE BUZAĞILARDA CRYPTOSPORIDIUM'LARIN BULUNUŞU İLE
İLGİLİ İLK ÇALIŞMALAR

Ayşe Burgu*

Preliminary studies on the occurrence of Cryptosporidia in calves in Turkey

Summary: *Oocysts of Cryptosporidium were detected for the first time in the faeces of naturally infected calves in Turkey.*

The faeces for parasitological examination were taken from the rectum of 1-28 days old calves in Karacabey State Farm. Eighty-six faecal samples (51 diarrheic, 5 in normal consistency) were examined by a) Carbol-fuchsin method b) Modified ZnCl₂ + NaCl centrifuge floatation technique. In addition to these c) Giemsa stained faecal smears were also prepared from only the Cryptosporidium positive faeces that were detected using by first two techniques. Therefore a comparison was made between three methods. Fifteen out of 56 faeces (% 26.7) were found infected with Cryptosporidium oocysts. The age of infected calves varied between 14 to 28 days and with one exception, all their faeces were diarrheic. From these three methods, the carbol-fuchsin method was found distinctly easier, quicker and more sensitive.

The result of this study indicate that Cryptosporidium is probably a widely spread in calves in Turkey. Cryptosporidium should be regarded as common enteric pathogens of calves and it will be necessary to pay more attention to their occurrence.

Özet: *Cryptosporidium oocyst'lerine doğal olarak enfekte buzağuların dışkısında rastlandığı Türkiye'de ilk kez bildirilmektedir.*

Parazitolojik muayeneler için gerekli olan dışkıları Karacabey Harasında yaşları 1-28 gün arasında değişen buzağuların rektumundan doğrudan elle alın-

* Doç.Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Ankara.

muştur. Elli altı (51 i sulu, 5 i normal kıvamda) dışkı örneğinin a) Carbol-fuchsin boyama b) Modifiye ZnCl₂ + NaCl santrifüj flotasyon yöntemleriyle bakıları yapılmıştır. Bunlara ilaveten c) Yukarıdaki yöntemlerle Cryptosporidium yönünden pozitif bulunan dışkılardan froti hazırlanmış ve giemsa ile boyanmıştır. Böylece dışkı örneklerinde Cryptosporidium oocyst'lerinin saptanmasında kullanılan 3 yöntemi karşılaştırmak mümkün olmuştur.

Kontrol edilen 56 dışkıdan 15 inde (% 26.7) Cryptosporidium'lara rastlanmış, enfekte hayvanların yaşlarının 14-28 gün arasında değiştiği ve biri dışında bütün enfekte dışkuların sulu kıvamda olduğu kaydedilmiştir. Kullanılan yöntemlerden carbol-fuchsin metodu diğerlerine oranla kolay, çabuk uygulanabilir ve duyarlı olmasından ötürü üstün bulunmuştur.

Bu çalışma sonuçları, Cryptosporidium'ların Türkiye'de buzağularda yaygın olabileceğini göstermektedir. Yurdumuzda da, Cryptosporidium'lar buzağuların enterik patojenleri arasında düşünülmeli ve daha çok önem verilmelidir.

Giriş

Coccidia grubu protozoonlardan Cryptosporidium'lar genel olarak insan dahil birçok memeli, kanatlı, sürüngen ve balık türlerinin mide barsak kanalı epitel hücrelerinde lokalize olurlar. Ayrıca, kanatlılarda solunum sistemi, bursa fabricius ve konjonktivada, insan ve domuzlarda solunum sisteminde, maymunlarda safra kesesi, safra yolları ve pankreasta rastlanmıştır. Bu etkenler özellikle buzağı ve insanlarda diyarelere, bazı konakçılarda ise subklinik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Gelişmeleri diğer enterik Coccidia'ya benzemekte, enfeksiyon, oocyst'lerin ağızdan alınması ile oluşmaktadır. Ekstrasellüler olmaları ile diğer Coccidia'dan ayrıldığı bildirilmişse de, bunların konakçı hücrelerine ait membranlarla çevrili olarak buldukları, bu nedenle de gerçek anlamda ekstrasellüler olmadıkları ortaya konmuştur (1, 6, 16, 25, 30, 35, 37).

Sığırlarda Cryptosporidium'lara ilk kez Panciera ve ark. (20) rastlamışlardır. Oklohoma'da 1971 yılında klinik olarak kronik bir zayıflama, dehidrasyon ve ishal gösteren 8 aylık dişi Santa Gertrudis ırkı dananın öldürüldükten sonra otopsi yapılmış, ince barsakların histolojik incelenmesinde villuslarda genel atrofi ve Cryptosporidium'ların çeşitli gelişme dönemlerine rastlanmıştır. İkinci olgu 1974 yılında Meuten ve ark. (16) tarafından kaydedilmiş olup 2 haftalık bir buzağının nekropsisinde başlıca ileum ve kolonlarda lezyonlara rastlanmış,

histolojik incelemelerde de çeşitli gelişme safhalarındaki *Cryptosporidium*'lar görülmüştür. En belirgin histolojik görünümün fazla şiddetli olmayan bir kriptitisle karakterize enterokolitis olduğu, mukoza yüksekliğinde azalma, villuslarda erime ve lamina propria'da hiperselülit olduğu kaydedilmiştir.

Bunlar (16, 20) ve bunları izleyen cryptosporidiosis olaylarının bazılarında (3, 26, 32) diğer etkenlerin yeterince araştırılmamış olmasından veya *Cryptosporidium*'larla birlikte başka etkenlere de rastlanmasından, patojeniteleri açıklığa kavuşturulamamıştır Morin ve ark. (18) yeni doğmuş buzağuların ishallerinde viral, bakteriyel ve paraziter etkenlerin araştırılmasına yönelik çalışmalarında, 55 olaydan 5 inde *Cryptosporidium*'ları tek etken olarak izole etmişlerdir. *Cryptosporidium*'ların tek başlarına sorumlu oldukları buzağı diyare salgınları seyrek değildir (6, 12, 36).

Buzağılarda cryptosporidiosis olaylarına Amerika (5, 16, 18, 20, 27, 31), Avusturalya (3, 14) ve Avrupa'da (8, 9, 12, 21, 23) rastlanmıştır.

Saha çalışmalarıyla (32, 34, 36) cryptosporidiosisin 1-4 haftalık olan buzağılarda orta veya şiddetli ishal meydana getirdiği, morbiditenin yüksek, mortalitenin ise düşük olduğu belirlenmiştir. *Cryptosporidiosis*'te oocyst çıkaran en genç buzağının 4 günlük olduğu (32), hastalığın 2-14 gün, ortalama 7 gün sürdüğü, ancak birçok olayda geçici iyileşme görülmesinden sonra da hastalığın tekrarlıyabildiği kaydedilmiştir (36). Bergeland ve ark. (5), bu enfeksiyonlarda mortalitenin % 16 olduğunu bildirerek klinik belirtiler arasında inatçı bir ishal, dehidrasyon ve zayıflamayı kaydetmişlerdir. Tzipori (35) ilgili yazarlara atfen Hollanda'dan bildirilen "etçi ırk danaların kaşeksi sendromu"nun etiyolojisinde *Cryptosporidium*'ların katkısının belirlendiğini yazmaktadır.

Buzağı dışkularından izole edilen materyalle SPF (Specific Pathogen Free) buzağı, domuz ve kuzular ile ayrıca normal keçi, tavşan, rat, fare ve tavuklar deneysel olarak enfekte edilmiştir. Bunlardan, özellikle yeni doğmuş SPF kuzu ve buzağılarda benzer şiddette enterokolitis ve diyare görülmüş, bu buzağuların daha ileri yaşlarda da aynı enfeksiyona duyarlılığını korudukları kaydedilmiştir (1, 6, 12, 28, 30, 33, 37, 39, 40). Tzipori ve ark. (40) deneysel olarak ağızdan veya kontakla enfekte edilmiş, kolostrum almış veya almamış buzağılarda klinik semptom ve patolojik bulgular arasında bir fark gözlenmediğini,

inkübasyon periyodunun 3-5 gün arasında değiştiğini, ancak kontakla olan bulaşmalarda bu sürenin 7 güne kadar uzayabildiğini bildirmişlerdir.

Cryptosporidium oocyst'lerinin dışkı ile atılmasının hastalığın klinik süresi ile uyumlu olduğu, bu süre içinde otopsi yapılan buzağuların hepsinde ince barsakların, yarısından fazlasında aynı zamanda sekum ve kolonların da enfekte bulunduğu yazılmıştır (1, 23, 35, 40). Bu enfeksiyondan ötürü mukoza değişikliklerinin en şiddetli olarak ince barsakların ileum bölgesinde gözleendiği, bu kısımların hiperemik olduğu ve yer yer şişkinlik gösterdiği, hastalığın klinik şiddeti ile mukoza değişikliklerinin derecesi ve yaygınlığı arasında çok kuvvetli bir ilişki olduğu, bunun ise deneysel ve doğal enfeksiyonlarda farklılık göstermediği kaydedilmiştir (1, 6, 20, 23, 25, 29, 35, 40).

Hastalığın teşhisinde şüphesiz en geçerli yol, histolojik preparatlarda etkenlerin epitel hücreleri mikrovilluslarında görülmesidir (1, 3, 5, 9, 14, 16, 20, 23, 25, 29). Ancak, dışkı ile oocyst çıkarılması konusu olduğundan, bazı boyama (5,6, 8,9, 11, 12, 13, 24) ve zenginleştirme yöntemleri (6, 9, 12, 22, 24, 30, 35) bu tür oocyst'lerin saptanmasında şüphesiz daha pratik bir değer taşımaktadır.

Cryptosporidium oocyst'lerinin çevre koşullarına dayanıklı olduğu, etkenleri içeren buzağı dışkılarının 5°C de 3 ay saklanması halinde fareler için enfektivitelerini korudukları ve bunların 6 ay canlılıklarını yitirmedikleri, 50°C de 15 dakikada, -18°C de ise 24 saatte canlılıklarını kaybettikleri bildirilmiştir (6). Campbell ve ark. (7) *Cryptosporidium* oocyst'lerinin laboratuvar ve hastanelerde kullanılan birçok genel dezenfektana karşı dirençli olduklarını yalnızca amonyak ve formolün oocyst'leri tahrip ettiğini bildirerek kontaminasyonları önlemede bunların fumigasyon tarzında kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Boch ve ark. (6) buzağılarda enfeksiyon tehlikesini azaltmak için her boksun kaynamış su ile temizlenmesini ve her buzağı için ayrı sulama kovası kullanımını önermişlerdir.

Cryptosporidiosis'e karşı 40 m üzerinde madde (çeşitli antiprotozoal bileşikler, geniş spektrumlu antibiyotik ve antelmantikler) profilaktik ve küratif amaçlarla denenmiş ve etkisiz bulunmuştur. (10, 40). Moon ve ark. (17) Lasalosid'in etkili bulunduğunu ancak etkideği dozun buzağular için toksik olduğunu kaydetmişlerdir. Buna karşın Snodgrass ve ark. (32) sulphadimidine, Nagy ve Pohlenz (9) oxytetracyclin veya

sulfaquinoxallin kullanımının buzağılarda klinik iyileşme sağladığını bildirmişlerdir.

Cryptosporidiosis'e diğer gevişgetiren hayvanlardan kuzu (2, 4, 37) ve oğlaklarda da (15) doğal olarak rastlanmıştır.

Bu çalışmada amaç, buzağılarda Cryptosporidium'ların varlığının dışkı yoklamaları ile araştırılması ve teşhiste kullanılan bazı yöntemleri karşılaştırmaktır. Ayrıca, ilk yayın olması bakımından bu etkenlerle ve buzağılarda meydana getirdiği hastalıkla ilgili nispeten kapsamlı bilgi verilmiştir.

Materyal ve Metot

Karacabey Harasında yaşları 1-28 gün arasında değişen 56 buzağıdan Ocak 1984 te alınan dışkılar muayene materyalini teşkil etmiştir. Her buzağıdan dışkı doğrudan rektumdan el yardımı ile plastik kap içerisine alınarak, üstlerine kulak numaraları yazılmış, muayene öncesi dışkılara koruyucu bir madde ilave edilmemiştir. Laboratuvar da dışkı kıvamı ve rengi kaydedilmiş, kontroller sırasında bir örnekliği sağlama açısından yalnızca normal kıvam gösteren 5 dışkı örneği aynı miktarda distile su ilave edilerek süspansiyon haline getirilmiştir. Mütakiben bütün dışkıların aşağıda bildirilen 2 yöntemle kontrolü yapılmıştır. (A) Heine'inin (11) carbol-fuchsin metodu: Uygulanan bu yöntemde, eter-alkol karışımında temizlenmiş, yağı giderilmiş lam üzerine bir bağıet yardımı ile 1 damla dışkı süspansiyonundan alınmış, aynı miktar carbol-fuchsin (Merck 9215) dışkı damlası yanına konularak bir lâmelin köşesi yardımı ile karıştırıldıktan sonra ince bir dışkı frotisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu frotinin 1-2 dakika içinde kuruması beklenmiş, hemen immersiyon yağı damlatılıp lâmelle örtülerek mikroskopta 40×10 büyütmede bakışı yapılmıştır. Mikroskobun bu büyütmesinde 20 sahadaki oocyst sayılarak ortalaması alınmış ve 20 den fazla oocyst (+ + + +), 6-20 oocyst (+ + +), 1-5 oocyst (+ +) 1 den az oocyst (+) olarak değerlendirilmiştir. B) $ZnCl_2 + NaCl$ santrifüj flotasyon tekniği: Heine ve Boch'un (12) bildirdiği teknik modifiye edilerek uygulanmıştır. Bunun için 3 cc. dışkı süspansiyonu boncuklu cam şişeye aktarılmış 25 cc. doymuş $ZnCl_2 + NaCl$ (Özgül ağırlığı 1.3 gr / cc) ilave edilip kapağı kapandıktan sonra iyice çalkalanmıştır. Boncuklu şişedeki dışkı süspansiyonu önce gözlerinin büyüklüğü 150 mikron, daha sonra 53 mikron olan süzgeçlerden bir tabağa süzülmiştir. Tabaktaki süzüntüden puarlı bir pipetle 15 cc.lik santrifüj

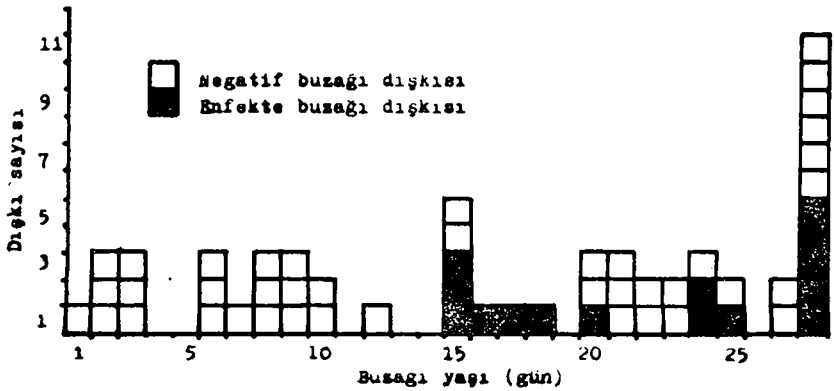
tüpüne üstten 1 cm. mesafe kalacak şekilde alınmış ve 10 dakika 1000 devirde santrifüje edilmiştir. Santrifüj işlemi sonunda üstten 2 öze dolusu miktar temiz lâm üzerine alınıp lâmcl kapatılarak mikroskopta 40×10 büyütmede kontrol edilmiştir. C) Carbol-fuchsin boyama ve $ZnCl_2 + NaCl$ santrifüj flotasyon yöntemlerinde *Cryptosporidium oocyst*'leri yönünden pozitif bulunan dışkılarından ince frotiler hazırlanmış, havada kurutulduktan sonra üzerlerine metil alkol dökülerek 3 dakika tespit edilmiş, daha sonra da 30 dakika giemsa ile boyanmışlardır. Giemsa ile boyanmış dışkı frotilerinde *Cryptosporidium oocyst*'lerinin incelenmesi ve değerlendirilmesi (A) yöntemindeki gibi yapılmıştır.

Bulgular

Kontrol edilen 5 i normal, 51 i sulu kıvamda olan toplam 56 buzağı dışkısından 15 inde (% 26.7) *Cryptosporidium oocyst*'lerine rastlanmıştır.

Cryptosporidium oocyst'lerine rastlanan 15 dışkıdan 14 ünün (% 93.3) sulu, 1 inin ise (% 6.6) normal kıvamda olduğu görülmüştür. Bakısı yapılan tüm dışkılara göre genelleme yapıldığında, sulu dışkılarının % 27.4 inde, normal kıvamdaki dışkılarının % 20 sinde *Cryptosporidium oocyst*'leri saptanmıştır. Enfekte dışkılarının 3 ünün sarımsı, 5 inin boz-gri ,geri kalan 7 sinin ise kahverenginde oldukları kaydedilmiştir.

Enfekte dışkılarının 15-28 günlük buzağılara ait olduğu saptanmış olup Grafik 1'de dışkı bakıları yapılan buzağılarda *Cryptosporidium*'ların yaşa göre dağılımları gösterilmiştir.



Grafik 1. Dışkı bakısı yapılan buzağılarda *Cryptosporidium*'ların yaşa göre dağılımı.

Grafik 1. in incelenmesinden anlaşılacağı üzere yaşları 1-14 gün arasında değişen 20 buzağıya ait dışkılar *Cryptosporidium* yönünden negatif bulunmuştur. Yaşları 15-21 gün olan 14 buzağının 7 sinde (% 50), 22-28 gün olan 22 buzağının 9 unda (% 50.9) *Cryptosporidium* oocyst'lerine rastlanmıştır.

Carbol-fuchsin metodu ile 15 dışkıda, $ZnCl_2 + NaCl$ santrifüj flotasyon tekniği ile 12 dışkıda bu oocyst'leri görmek ve tanımlamak mümkün olmuştur. Tablo 1'de bu iki yöntemin sonuçları gösterilmiştir.

Tablo 1. Carbol-fuchsin boyama ve $ZnCl_2 + NaCl$ santrifüj flotasyon yöntemlerinin sonuçları

Yöntem	Kontrol edilen dışkı sayısı	Enfekte dışkı sayısı	% si	Enfekte buzağı No.ları
A) Carbol-fuchsin boyama	56	15	26.78	2, 7, 8, 9, 10, 22, 23, 25, 37, 38, 40, 41, 43, 45, 46/ 84
B) $ZnCl_2 + NaCl$ santrifüj flotasyon	56	12	21.42	2, 7, 8, 9, 10, 22, 25, 38, 40, 43, 45, 46/ 84

(-) Giemsa ile boyalı preparatlarda *Cryptosporidium* oocyst'lerine rastlanmamıştır.

Tablo 1. de görüldüğü üzere 23, 37, 41/ 84 nolu buzağı dışkıları hariç, her iki yöntemde aynı dışkılarda oocyst'ler saptanmıştır. Pozitif bulunan bu dışkılardan hazırlanan ve giemsa ile boyanan dışkı frotilerinde ise 41, 46/ 84 nolu buzağı dışkılarında oocyst'leri tanımlamak mümkün olmamış, bu dışkılardan aynı zamanda az oocyst içerdikleri kaydedilmiştir. Bu nedenle, carbol-fuchsin metodunun daha duyarlı olduğu görülmüştür.

Carbol-fuchsin ve giemsa ile boyanarak hazırlanmış dışkı frotilerinde 40 x 10 büyütmede *Cryptosporidium* oocyst'lerinin sayısal sonuçları Tablo 2. de özetlenmiştir.

Tablo 2. de görüldüğü gibi preparatlardaki *Cryptosporidium* oocyst'lerinin sayıları carbol-fuchsin metodunda giemsa ile boyamaya oranla daha yüksek bulunmuştur.

Giemsa ile boyalı preparatlarda *Cryptosporidium* oocyst'leri yuvarlak veya çok hafif ovalimsi 4-4.5 mikron çapında açık maviye boyanmış ve 3-4 adet kırmızı granül içeren yapılar olarak izlenmiştir.

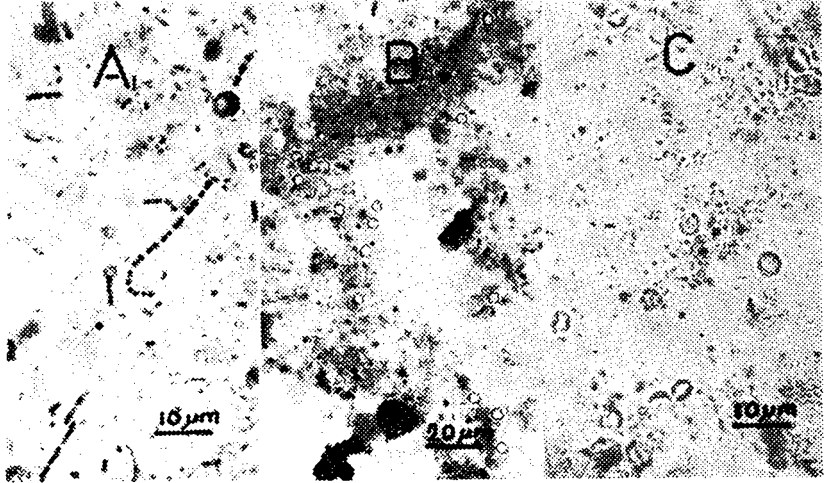
Tablo 2. Carbol-fuchsin ve Giemsa ile boyanan preparatlarda *Cryptosporidium oocyst* sayıları

Yöntem		<i>Cryptosporidium oocyst</i> sayıları				Toplam enfekte dışkı sayısı
		x	xx	xxx	xxxx	
A) Carbol-fuchsin boyama	Dışkı sayısı	4	9	1	1	15
	% si	26.6	60.0	6.6	6.6	
B) Giemsa boyama	Dışkı sayısı	6	6	1		13
	% si	46.1	46.1	7.6		

(x) 1 den az, (xx) 1-5, (xxx) 6-20, (xxxx) 20 den fazla oocyst.

Bu granüllerin oocyst çeperine yakın olarak yer aldığı dikkati çekmiştir. (Şekil 1.A). Ancak bu özelliklerin iyi boyanmış oocyst'lerde görüldüğü, preparatlardaki oocyst'lerin hepsinin aynı derecede boya almadığı, hatta bir kısmının hiç boya almadığı da gözlenmiştir.

Carbol-fuchsin ile boyanmış preparatlarda ise oocyst'ler aynı biçim ve büyüklükte ancak kırmızıya boyanmış zemin üzerinde gayet belirgin, ışığı kıran parlak yapılar olarak dikkati çekmiştir (Şekil 1.B). İç yapı belli olmamakta, mikrometre ile ayarlandığında bir noktanın belirginlik kazandığı gözlenmektedir.



Şekil 1. *Cryptosporidium oocyst*'leri A) Giemsa B) Carbol-fuchsin C) $ZnCl_2$ -NaCl santrifüj flotasyonda

Figure 1. *Cryptosporidium oocysts* in A) Giemsa B) Carbol-fuchsin C) $ZnCl_2$ -NaCl centrifuge floatation.

ZnCl₂ + NaCl santrifuj flotasyon yöntemi ile hazırlanan dışkı-larda Cryptosporidium oocyst'lerinin bazıları büzüşmüş veya daha de-ğişik formlarda (Şekil 1.C), pek çoğu da bozulmadan gözlenmiş, mua-yene sırasında öze ile alınan sıvı miktarının ve mikroskop ayarının (de-rinlik) önemli olabileceği kaydedilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Buzağılarda cryptosporidiosis olayları Amerika (5, 16, 18, 20, 27, 31), Avusturalya (3, 14) ve Avrupa'nın bazı ülkelerinden (8, 9, 12, 21, 23) bildirilmiştir. Bu çalışma ile Türkiye'de ilk kez buzağılarda Cryptosporidium'ların varlığı ortaya konmuştur.

Cryptosporidiosisin buzağılarda orta veya şiddetli ishallerle yol açtığı, genelde morbiditenin yüksek, mortalitenin ise düşük olduğu belirtilmiştir (32, 34, 35, 36). Heine ve Boch (12) Almanya'da Cryptosporidium oranını sağlıklı buzağılarda % 13.7, diyareli olanlarda % 39.6 olarak kaydetmişlerdir. Bu çalışmada, kontrol edilen toplam 56 buzağı dışkısından 15 inde (% 26.7) Cryptosporidium oocyst'le-rine rastlanmıştır. Enfekte bulunan dışkıların 14 ünün (% 93.3) sulu, yalnızca 1 inin (% 6.6) normal kıvamda olması etkenlerin diyareye neden olduğunu kanıtlar niteliktedir. Ancak genel bir değerlendirme yapıldığında sulu dışkıların % 27.4 ünün, normal dışkıların ise % 20 sinin Cryptosporidium'larla enfekte olduğu anlaşılmakta, dolayısıyla başka etkenlerin de bu diyarik dışkılarda rolü olabileceği akla gelmek-tedir.

Hastalığın klinik şiddeti ile mukozal değişikliklerin derecesi ve yaygınlığı arasında çok kuvvetli bir ilişki bulunmakta oocyst'lerin dışkı ile atılmasının hastalığın klinik süresi ile uyumlu olduğu bildirilmek-tedir (1, 6, 20, 23, 25, 29, 35, 40). Bu çalışmada buzağıların % 26.7 sinin dışkısında Cryptosporidium oocyst'lerine rastlamakla beraber, dışkı örneklerinin alımı sırasında buzağıların hiçbirinde ağır klinik tablo gözlenmemiştir. Bunu, bulgular bölümünde Tablo 2. de de görü-lebileceği gibi oocyst sayımı yapılmamış olmakla beraber etkenlerin dışkıda bulunuş miktarlarının genelde düşük olması ve bu nedenle de ağır klinik bir tablo ile karşılaşmadığı şeklinde açıklamak mümkündür.

Buzağılarda cryptosporidiosis genellikle 1-4 haftalık olanlarda gö-rülmekle birlikte en çok 2 ve 3 haftalık olanlarda saptanmakta, has-

talık ortalama 7 gün sürmekte ve birçok olguda geçici iyileşme görüldükten sonra enfeksiyon tekrarlıyabilmektedir (5, 12, 32, 34, 36, 40). Bu çalışmada 1-2 haftalık buzağı dışkıları *Cryptosporidium oocyst*'leri yönünden negatif bulunmuş, üç haftalıklarda % 50, dört haftalıklerde % 40.9 oranında oocyst'lere rastlanmıştır. Bu, kontakla olan enfeksiyonlarda prepatent sürenin daha uzun olması ve birçok olguda iyileşme görüldükten sonra enfeksiyonun tekrarlıyabilmesi ile ilgili olabilir.

Küçüklükleri dolayısıyla uzun süre gerek hayvan otopsilerinde, gerekse dışkı bakılarında gözden kaçırılan *Cryptosporidium*'ların genç buzağılarda patojeniteleri artık bilinmekte olup pratik olarak dışkıda oocyst'lerin saptanmasına yönelik çeşitli yöntemler bildirilmiştir (5, 6, 9, 11, 12, 13, 19, 22, 24). Bu çalışmada, çok kullanıldığı belirtilen 3 yöntem uygulanmış ve bunlardan Heine'nin (11) bildirdiği carbol-fuchsin metodu Tablo 1. ve Tablo 2. de gösterildiği şekilde daha duyarlı bulunmuş, materyal ve metod bölümünde belirtildiği gibi de uygulanması daha kolay olmuş ve çabuk sonuç vermiştir. Bu sonucumuz Peeters ve ark.nın (24) bulgularıyla da uyum sağlamaktadır. Diğer taraftan, giemsa ile boyanmış dışkı frotilerinde *Cryptosporidium oocyst*'lerinin mayalarla karıştırılma olasılığını kaydetmek yerinde olacaktır. Her ne kadar büyüklük, morfolojik yapı ve bazı boyanma özellikleri ile bu oocyst'leri mayalardan ayırmanın mümkün olduğu bildirilmekte ise de (24), ishalleri olan buzağılarda barsak florasındaki değişimlere ilgili olarak mayalara sıklıkla rastlanabileceğinden, bazen laboratuvar pratiği fazla olmıyan kişilerde yanlışlara neden olabilecektir. $ZnCl_2 + NaCl$ santrifüj flotasyon yönteminde ise, alınan sıvı miktarı ve mikroskop ayarı bakılarda önem taşımakta ayrıca oocyst'lerin bazen büzüşmüş bazen daha değişik formlarda gözükmesi, özellikle dışkıda az sayıda oocyst bulunan hafif enfeksiyonların teşhisini güçleştirebilecektir.

Sonuç olarak; Türkiye'de buzağı ishallerinde *Cryptosporidium*'ların diğer enteropatojenler arasında yeri olduğunun gözden uzak tutulmaması ve bunların aranmasına yönelik çalışmalarla diyare olaylarındaki rol veya paylarının belirlenmesi gereklidir. Dışkıda *Cryptosporidium oocyst*'lerinin aranmasında bu çalışmada kullanılan 3 yöntemden ileride yapılacak çalışmalarda da faydalanılabileceği ancak carbol - fuchsin metodunun diğerlerine oranla daha kolay, çabuk uygulanabilir ve daha duyarlı olduğu belirtilmiştir.

Teşekkür

Referens preparat, materyal ve bazı literatürlerin temininde yardımcı olan Münih Üniversitesinden Dr J. Heine'c teşekkür ederim.

Acknowledgement: I am grateful to Dr. J. Heine from Münich University for providing reference slides, material and some reprints.

Literatürler

1. **Anderson, B.C.** (1984): *Location of Cryptosporidia: Review of the literature and experimental infections in calves.* Am. J. Vet. Res., 45: 1474-1477.
2. **Angus, K.W., Appleyard, W.T., Menzies, J.D., Campbell, I. and Sherwood, D.** (1982): *An outbreak of diarrhoea associated with cryptosporidiosis in naturally reared lambs.* Vet. Rec., 110: 129-130.
3. **Barker, I.K. and Carbonell, P.L.** (1974): *Cryptosporidium agni sp. n. from lambs and Cryptosporidium bovis sp.n. from a calf, with observations on the oocyst.* Z. Parasitenk., 44: 289-298.
4. **Berg, I.E., Peterson, A.C. and Freeman, T.P.** (1978): *Ovine cryptosporidiosis.* JAV-MA., 173: 1586-1587.
5. **Bergeland, M.E., Johnson, D.D. and Shave, H.** (1979): *Bovine cryptosporidiosis in the North Central United States.* Amer. Assn. Veterinary Diagnosticians, 22 nd Annual Proceedings, 131-138.
6. **Boch, J., Göbel, E., Heine, J., Brandler, U. und Schloemer, L.** (1982): *Kryptosporidien - Infektion bei Haustieren.* Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 95: 361-367.
7. **Campbell, I., Tzipori, S., Hutchison, G. and Angus, K.W.** (1982): *Effect of disinfectants on survival of Cryptosporidium oocysts.* Vet. Rec., 111: 414-415.
8. **Fiedler, H.H., Bähr, K.H. und Hirschert, R.** (1982): *Beitrag zur Kryptosporidien invasion bei Kälbern.* Tierärztl. Umschau., 7, 497-500.
9. **Fischer, O.** (1982): *Cryptosporidiosis of calves during the period of milk nutrition.* Vet. Med. (Praha), 27: 465-471.
10. **Fischer, O.** (1983): *Attempted therapy and prophylaxis of cryptosporidiosis in calves by administration of sulphadimidine.* Acta Vet. Brno., 52: 183-190.
11. **Heine, J.** (1982): *Eine einfache Nachweismethode für Kryptosporidien im Kot.* Zbl. Vet. Med. B, 29: 324-327.
12. **Heine, J. und Boch, J.** (1981): *Kryptosporidien-Infektionen beim Kalb. Nachweis, Vorkommen und experimentelle Übertragung.* Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 94: 289-292.
13. **Henriksen, S.A.** (1981): *Differential staining of Cryptosporidia in smears* (Proc. 10 th Scand. Symp. Parasitol). Information 16, 16-17, Inst. Parasitol. Abo Akademi, Finland.

14. **Jerrett, I.V. and Snodgrass, D.R.** (1981): *Cryptosporidia associated with outbreaks of neonatal calf diarrhoea*. Aust. Vet. J., 57: 434-435.
15. **Mason, R.W., Hartley, W.J. and Tilt, L.** (1981): *Intestinal cryptosporidiosis in a kid goat*. Aust. Vet. J., 57: 386-388.
16. **Meuten, D.J., Van Kruiningen, H.J. and Lein D.H.** (1974): *Cryptosporidiosis in a calf*. JAVMA., 165: 914-917.
17. **Moon, H.W., Woode, G.N. and Ahrens, F.A.** (1983): *Attempted chemoprophylaxis of cryptosporidiosis in calves*. Vet. Rec., 110:181.
18. **Morin, M., Lariyiviere, S. and Lallier, R.** (1976): *Pathological and microbiological observations made on spontaneous cases of acute neonatal calf diarrhea*. Can. J. comp. Med., 40:228-240.
19. **Nagy, B. und Pohlenz, J.** (1982): *Die bovine Kryptosporidiose. Diagnose und therapie*. Tierarztl. prax., 10: 163-172.
20. **Pancier, R.J., Thomassen, R.W. and Garner, F.M.** (1971): *Cryptosporidial infection in a calf*. Vet. Pathol., 8: 479-484.
21. **Pavlásek, I.** (1981): *First record of Cryptosporidium sp. in calves in Czechoslovakia*. Folia Parasit. (Praha), 28: 187-189.
22. **Pavlásek, I.** (1982): *First detection of Cryptosporidium sp. oocysts in calf faeces by floatation method*. Folia Parasit. (Praha), 29: 115-118.
23. **Pearson, G.R., Logan, E.F. and McNulty, M.S.** (1982): *Distribution of Cryptosporidia within the gastrointestinal tract of young calves*. Res. Vet. Sci., 33: 228-231.
24. **Pecters, J.E., Van Opendenbosch, E. and Glorieux, B.** (1982): *Demonstration of Cryptosporidia in calf faeces: A comparative study*. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, 51: 513-523.
25. **Pohlenz, J., Bemrick, W.J., Moon, H.W. and Cheville, N.F.** (1978): *Bovine cryptosporidiosis: A transmission and scanning electron microscopic study of some stages in the life cycle and of the host-parasite relationship*. Vet. Pathol., 15: 417-427.
26. **Pohlenz, J., Moon, H.W., Cheville, N.F. and Bemrick, W.J.** (1978): *Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves*. JAVMA., 172: 452-457.
27. **Powell, H.S., Holscher, M.A., Heath, J.E. and Beasley, F.F.** (1976): *Bovine cryptosporidiosis (a case report)*. Vet. Med. / Small Animal Clin., 71: 205-207.
28. **Reese, N.C., Current, W.L., Ernst, J.V. and Bailey, W.S.** (1982): *Cryptosporidiosis of man and calf: A casereport and results of experimental infections in mice and rats*. Am. J. Trop. Med. Hyg., 31: 226-229.
29. **Sanford, S.E. and Josephson, G.K.A.** (1982): *Bovine cryptosporidiosis: Clinical and pathological findings in forty - two scouring neonatal calves*. Can. vet. J., 23: 343-347.
30. **Schloemer, L.** (1982): *Die Übertragung von Cryptosporidium spec. des Kalbes auf Mäuse, Hamster und Meerschweinchen sowie Schweine, Schafe und Ziegen*. Diss., München.

31. **Schmitz, J.A. and Smith, D.H.** (1975): *Cryptosporidium* infection in a calf. JAVMA, 167: 731-732.
32. **Snodgrass, D. R., Angus K.W., Gray, E.W. and Keir, W.A.** (1980): *Cryptosporidia* associated with rotavirus and an *Escherichia coli* in an outbreak of calf scour. Vet. Rec., 106: 458-459.
33. **Snodgrass, D.R., Angus, K.W. and Gray, E.W.** (1984): *Experimental cryptosporidiosis in germfree lambs.* J. Comp. Path., 94: 141-152.
34. **Stein, E., Boch, J., Heine, J. und Henkel, G.** (1983): *Der Verlauf natürlicher Cryptosporidium-Infektionen in vier Rinderzuchtbetrieben.* Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 96: 222-225.
35. **Tzipori, S.** (1983): *Cryptosporidiosis in animals and humans.* Microbiol. Rev., 47: 84-96.
36. **Tzipori, S., Campbell, I., Sherwood, D., Snodgrass, D.R. and Whitelaw, A.** (1980): *An outbreak of calf diarrhoea attributed to cryptosporidial infection.* Vet. Rec., 107: 579-580.
37. **Tzipori, S., Angus, K.W., Campbell, I. and Gray, E.W.** (1980): *Cryptosporidium: Evidence for a single-species genus.* Infect. Immun., 30: 884-886.
38. **Tzipori, S., Angus, K.W., Campbell, I. and Clerihew, L.W.** (1981): *Diarrhea due to Cryptosporidium infection in artificially reared lambs.* J. Clin. Microbiol., 14: 100-105.
39. **Tzipori, S., Smith, M., Makin, T. and Halpin, C.** (1982): *Enterocolitis in piglets caused by Cryptosporidium sp. purified from calf faeces.* Vet. Parasit., 11: 121-126.
40. **Tzipori, S., Smith, M., Halpin, C., Angus, K.W., Sherwood, D. and Campbell, I.** (1983): *Experimental cryptosporidiosis in calves: Clinical manifestations and pathological findings.* Vet. Rec., 112: 116-120.