

# Kars Yöresinde Buzağılarda *Cryptosporidium* Enfeksiyonları Prevalansının Asit Fast Boyama (mAF) ve ELISA Yöntemleriyle Belirlenmesi

Determining the Prevalence of *Cryptosporidium* Infections with Acid Fast Staining and ELISA in Calves at the Kars Province of Turkey

Neslihan Gündüz<sup>1</sup>, Mükremin Özkan Arslan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kafkas Üniversitesi Kars Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Kars, Türkiye

<sup>2</sup>Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

## Öz

**Amaç:** Çalışmada, Kars yöresinde sütçü işletmelerde bulunan buzağılarda *Cryptosporidium* enfeksiyonları prevalansının modifiye Asit Fast (mAF) boyama ve Enzim Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemleri ile karşılaştırmalı olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Araştırma materyali dışkı örnekleri; Mart-Haziran 2011 doğum sezonunda Kars çevresinde bulunan köy ve çiftlikler olmak üzere 22 odaktaki buzağuların rektumlarından alınmıştır. Buzağular 3-90 günlük (3 ayağa kadar) ve 91-180 günlük (3 aylıktan büyük) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Çalışma materyali 313 dışkı örneğinden (146'sı ishallerli buzağı, 167'si sağlıklı buzağı) oluşmuştur. Dışkı örnekleri önce mAF boyama yöntemiyle incelenmiştir. Daha sonra bu örneklerden 222'si *Cryptosporidium parvum* ELISA kiti (Bio-X Diagnostics), 91'i ise *Cryptosporidium* ticari ELISA kiti (Diagnostic Automation, Inc.; USA) ile değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Buzağılarda *Cryptosporidium* yaygınlığı; mAF boyama ile %3,8 (12/313), ELISA ile %5,1 (16/313) oranında bulunmuştur. mAF boyama ile *Cryptosporidium oocysti* görülen tüm örnekler ELISA ile de pozitif saptanmıştır. *Cryptosporidium* görülme oranı mAF ve ELISA yöntemlerine göre sırasıyla; ishallerli buzağılarda %5,5 (8/146), %7,5 (11/146); sağlıklılarda %2,4 (4/167), %3,0 (5/167); üç ayağa kadar olanlarda %4,0 (10/253), %5,5 (14/253); 3-6 aylıklarda ise her iki teknik ile %3,3 (2/60) olarak belirlenmiştir. *Cryptosporidium parvum* yaygınlığı %5,9 (13/222) bulunmuş olup, bu oran üç aylıktan küçük buzağılarda (%6,2; 12/194) 3-6 aylık gruba göre (%3,6; 1/28) daha yüksek saptanmıştır. *Cryptosporidium parvum* saptanan 13 pozitif olgunun 9'nun ishallerli, 4'nün sağlıklı olduğu gözlenmiştir. *Cryptosporidium parvum* koproantijenleri en yüksek oranda (%7,4; 8/108) üç aylıktan küçük ishallerli buzağılarda görülmüştür. Cins düzeyinde *Cryptosporidium* etkenlerinin belirlendiği ELISA testiyle buzağılarda *Cryptosporidium* koproantijenleri %3,3 (3/91) bulunmuş olup, bu oran üç ayağa kadar olanlarda %3,4 (2/59), 3-6 aylıklarda %3,1 (1/32) olarak belirlenmiştir.

**Sonuç:** Kars yöresinde buzağılarda *Cryptosporidium* enfeksiyonları prevalansının son yıllarda düştüğü tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Cryptosporidium parvum*, buzağı, asit fast boyama, ELISA, Kars

**Geliş Tarihi:** 15.04.2016

**Kabul Tarihi:** 25.01.2017

## ABSTRACT

**Objective:** This study aimed to comparatively determine the prevalence of *Cryptosporidium* infections in calves grown at dairies under farm or village conditions at the Kars Province using modified acid-fast (mAF) staining and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

**Methods:** Stool samples constituting the study material were collected between March and June 2011 from rectums of calves at 22 centers in the villages and farms of the Kars Province. Calves were divided into 2 groups: 3-90 days old (up to 3 months old) and 91-180 days old (older than 3 months). The study material comprised 313 stool samples (146 diarrheal samples and 167 healthy samples). Each of the samples was first examined using mAF staining; of these samples, 222 were examined using the *C. parvum* ELISA kit (Bio-X Diagnostics), whereas 91 were examined using the *Cryptosporidium* commercial ELISA kit (Diagnostic Automation, Inc., USA) for the presence of *Cryptosporidium* copro-antigens.

**Bu çalışma 17. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Kafkasya ve Ortadoğu Paraziter Hastalıklar Sempozyumu'nda sunulmuştur, 4-10 Eylül 2011, Kars, Türkiye.**

**This study was presented at the 17<sup>th</sup> National Congress on Parasitology and Caucasian and Middle East Symposium on Parasitic Diseases, 4-10 September 2011, Kars, Turkey.**

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Neslihan Gündüz E.posta: neslihan\_gunduz@hotmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2017.4833

©Telif hakkı 2017 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2017 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

**Results:** The incidence of the presence of *Cryptosporidium* among the calves was 3.8% (12/313) with mAF staining and 5.1% (16/313) with ELISA. All the samples in which the presence of *Cryptosporidium* oocysts was determined using mAF staining were determined to be positive using ELISA. *Cryptosporidium* was found to be present in 5.5% (8/146) and 7.5% (11/146) of diarrheal calves, 2.4% (4/167) and 3.0% (5/167) of healthy calves, 4.0% (10/253) and 5.5% (14/253) of calves aged up to 3 months, and 3.3% (2/60) (via both tests) of calves aged 3-6 months. *C. parvum* was present in 5.9% (13/222) of the calves; it was found at a higher concentration in calves aged up to 3 months (6.2%; 12/194) than in those aged 3-6 months (3.6%; 1/28). Of the *C. parvum*-positive cases, 9 cases were found to have diarrhea, whereas 4 were observed to be healthy. *C. parvum* copro antigens were observed at the highest level (7.4%; 8/108) in diarrheal calves aged up to 3 months. At the species level, the rate of incidence of *Cryptosporidium* copro-antigens in calves examined using ELISA for determining *Cryptosporidium* factors was found to be 3.3% (3/91), and the same rate was found 3.4% (2/59) in calves aged up to 3 months and 3.1% (1/32) in those aged 3-6 months.

**Conclusion:** The prevalence of *Cryptosporidium* infections among the calves was observed to decrease in recent years.

**Keywords:** *Cryptosporidium parvum*, calf, acid-fast staining, ELISA, Kars

**Received:** 15.04.2016

**Accepted:** 25.01.2017

## GİRİŞ

İnsan ve hayvanların intestinal protozoonlarından olan *cryptosporidiumların* zoonotik yönü, immün yetmezlik durumlarındaki önemi ve özellikle buzağılardaki ekonomik kayıpları dikkati çeker boyuttadır. *Cryptosporidium*'lar dünyada ve ülkemizde yaygın olarak görülmekte olup, buzağılar gibi genç hayvanlar dışkılarıyla daha fazla ookist atarak hastalığın bulaşmasında önemli rol oynarlar. Bugüne kadar sığırlarda *Cryptosporidium parvum*, *C. bovis*, *C. andersoni* ve *C. ryanae* türleri bildirilmiştir. Bunlardan *C. parvum* konak spektrumu daha geniş olup, buzağılarda yaygındır. Ayrıca *C. parvum* insan cryptosporidiosis etiyolojisinin %45 ini oluşturmaktadır (1-3).

*Cryptosporidium* türlerinin yaygınlığında işletmedeki hayvan sayısı, hayvanların yaşı, ishali veya sağlıklı olması, barınak tipi, süt emme durumu, altlık tipi, su kaynağı, sürü büyüklüğü, ahır veya çiftlikteki buzağı sayısı gibi risk faktörleri rol oynamaktadır (4-8).

*Cryptosporidium* enfeksiyonlarının tanısında boyama yöntemleri (Auramin Fenol, Modifiye Ziehl-Neelsen, Kinyoun Asit-fast, Modifiye Asit-fast), immunolojik yöntemler, antijen tanı yöntemleri (direkt floresan antikor, immunofloresan, enzim immunoassay, immunokromatografik) ve moleküler tanı yöntemleri (PCR) kullanılmaktadır. Bunlardan rutin boyama yöntemleri, direkt floresan antikor (DFA), enzim immunoassay (EIA, ELISA) ve hızlı tanı testleri, parazit prevalansını belirleme çalışmalarında kullanılmaktadır. Boyama yöntemlerine göre immunolojik metotların daha duyarlı olduğu belirtilmiştir (9-12). Boyama yöntemlerinde ise hazırlanan preparatlarda görülen *Cryptosporidium* ookistleri sayılarak, ookist atılım yoğunluğu ve hayvandaki enfeksiyon şiddeti belirlenmektedir (5, 13).

## YÖNTEMLER

Bu çalışma için Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 15.12.2009 tarihinde etik kurul onayı alınmıştır.

### Hayvan materyali:

Kars ve çevresindeki modern çiftlik ve köy ahırlarındaki sığır işletmelerinde bulunan buzağılardan oluşmuştur. Yöredeki sığır yetiştirme tarzı sütçü işletme tarzında olduğundan her işletmede buzağı bulunmaktadır.

### Dışkı örnekleri:

Dışkı örnekleri; Mart-Haziran 2011 doğum sezonunda Kars çevresindeki köy ve çiftlikler olmak üzere 22 odaktaki (Kümbetli, Büyük Aküzüm Kars-Merkez, Boğazköy, Ağadeve, Esenyazı, Kocabahçe, Çağlayan, Cumhuriyet, Başgedikler, Dikme, Karakaş, Esenkent,

Halefoğlu, Söğütlü, Oğuzlu, Büyük Boğatepe, Ataköy, Azat köyleri, KAÜ Veteriner Fakültesi Çiftliği, Nadiroğlu Çiftliği, kliniklere gelen hastalar) buzağuların rektumundan alınmıştır. Buzağılar 3-90 günlük (3 ayağa kadar) ve 91-180 günlük (3 aylıktan büyük) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Çalışma materyali 313 dışkı örneğinden (146'sı ishali, 167'si sağlıklı) oluşmuştur. Buzağuların 253'ü 3 ayağa kadar, 60'ı ise 3 aylıktan büyük buzağılardan oluşmuştur.

ELISA metodu ile incelenen dışkı örnekleri sodyum asetat-asetik asit-formalin solüsyonu (SAF; 1,5 gr sodyum asetat, 2 mL glisyal asetik asit, 4 mL %37-40 lık formaldehit, 92,5 mL distile su) içinde +4°C de saklanmıştır.

### Boyama yöntemi:

Dışkı örneklerinden ishali olanlar direkt olarak, normal kıvamlı olanlar ise sulandırılarak parçalandıktan sonra 15 mL'lik santrifüj tüplerine 5-10 mL alınarak üzerine su eklenip santrifüj sedimantasyon yapılmıştır. Santrifüj sonrası üst kısım atılıp ve dipteki pellet-vorteklenmiştir. Pelletten yayma preparatları hazırlanmış ve örneklenerek -20°C de ELISA da kullanılmak üzere saklanmıştır. Ayrıca bir kısım örnekte ileride moleküler çalışmalarda kullanılmak üzere %2,5' lik potasyum dikromat içinde +4°C de saklanmıştır. Hazırlanan dışkı yaymaları modifiye asit fast (mAF) boyama yöntemiyle boyanarak mikroskopta 40'luk objektifte incelenmiştir (10).

Mikroskopik olarak X40'luk büyütmede 10 farklı sahadaki ookist sayısı dikkate alınarak ookist yoğunluğu ve enfeksiyon şiddeti belirlenmiştir. Bu değerlendirmede laboratuvar çalışmalarımız ve ilgili literatürlerden (5, 13-15) modifiye edilerek hazırlanan Tablo 1'deki kriterler dikkate alınmıştır.

### ELISA metodu (enzim linked immunosorbent assay):

Her dışkı örneği önce mAF boyama yöntemiyle incelenmiş olup, bu örneklerden 222'si *Cryptosporidium parvum* ELISA kiti (Bio-X Diagnostics, Veterinary, cattle), 91'i ise *Cryptosporidium* ELISA kiti (DiagnosticAutomation, Inc.; USA, Veterinarycattle) ile *Cryptosporidium* koproantijenleri yönünden incelenmiştir. Hazırlanan mikroyaymalar ELISA okuyucusunda 450 nm'de okutulmuştur.

## BULGULAR

Buzağılarda *Cryptosporidium* yaygınlığı; mAF boyama yöntemi ile %3,8 (12/313), ELISA ile %5,1 (16/313) bulunmuştur. mAF boyama ile *Cryptosporidium* ookisti görülen tüm örnekler ELISA yöntemiyle de pozitif saptanmıştır (Tablo 2).

*Cryptosporidium* görülme oranı mAF ve ELISA yöntemlerine göre sırasıyla; ishali buzağılarda %5,5 (8/146), %7,5 (11/146);

sağlıklılarda %2,4 (4/167), %3,0 (5/167); üç aylığa kadar olanlarda %4,0 (10/253), %5,5 (14/253); 3-6 aylıklarda ise her iki test ile de %3,3 (2/60) olarak belirlenmiştir (Tablo 3).

*Cryptosporidium parvum* ELISA kitiyle (Bio-X Diagnostics, Veterinary, cattle) koproantijenler yönünden incelenen 222 örneğin sonuçları Tablo 4'te gösterilmiştir. Bu tablodan görüleceği üzere *Cryptosporidium parvum* yaygınlığı %5,9 (13/222) bulunmuş olup, bu oran üç aylıktan küçük buzağılarda (%6,2; 12/194) 3-6 aylık gruba göre (%3,6; 1/28) daha yüksek saptanmıştır. *Cryptosporidium parvum* saptanan 13 pozitif olgunun 9'nun ishali, 4'nün sağlıklı olduğu gözlenmiştir. *Cryptosporidium parvum* koproantijenleri en yüksek oranda (%7,4; 8/108) üç aylıktan küçük ishali buzağılarda görülmüştür. *Cryptosporidium*'ları cins düzeyinde belirleyen *Cryptosporidium* ELISA kitiyle (Diagnostic Automation, Inc.; USA, Veterinary cattle) *Cryptosporidium* koproantijenleri yönünden incelenen 91 örneğe ait sonuçlar ise Tablo 4'te sunulmuştur. Bu tabloda görüldüğü gibi cins düzeyinde *Cryptosporidium*'ların belirlendiği ELISA testiyle buzağılarda *Cryptosporidium* koproantijenlerinin görülme oranı %3,3 (3/91) bulunmuş olup, bu oran üç aylığa kadar olanlarda %3,4 (2/59), 3-6 aylıklarda %3,1 (1/32) olarak belirlenmiştir.

## TARTIŞMA

Buzağılarda zoonotik ve ekonomik yönden önemli olan *Cryptosporidium* enfeksiyonlarının prevalansı; rutin muayenede sıklıkla kullanılan mAF boyama ve dışkıda koproantijenlerin saptandığı ELISA testleriyle karşılaştırmalı olarak belirlenebilmektedir. *Cryptosporidium*'ların laboratuvar tanısında dışkıda koproantijenlerin belirlendiği ELISA testlerinin mAF boyama yöntemlerine göre daha duyarlı olduğu gözlenmiştir (16, 17). Karşılaştırmalı olarak yapılan bu çalışmada da mAF boyama yöntemiyle %3,8 (12/313), ELISA ile %5,1 (16/313) oranında pozitiflik saptanmıştır. Modifiye asit-fast boyama ile pozitif olan örnekler ELISA ile de pozitif bulunmuştur. Ancak Kars yöresindeki daha önce yapılan araştırma sonuçları (14, 18, 19) ile kıyaslandığında bu araştırma da buzağılarda, *Cryptosporidium* enfeksiyon oranının oldukça düşüğü dikkati çekmiştir. *Cryptosporidium* yaygınlığının bu kadar düşmesinde birçok faktörün etkili olabileceği ancak bunların başında yetiştirme tarzlarındaki iyileştirmelerin etkili olabileceği düşünülmüştür.

Kars yöresinde 1999-2005 yılları arasındaki doğum sezonlarında *Cryptosporidium* prevalansım AF boyama yöntemiyle üç aylığa kadar olan ishali buzağılarda %34,2 (171/500) olarak bulunmuştur (18, 19). Bu yörede *Cryptosporidium*'lara yine mAF boyama yöntemiyle, neonatal ishali buzağılarda %37,7 (40/106) ve neonatal sağlıklı buzağılarda %20,9 (9/43) oranında rastlanmıştır (14).

**Tablo 1.** Asit fast boyama yönteminde ookist yoğunluğu ve enfeksiyon şiddeti kriterleri

Ookist sayısı	Ookist yoğunluğu	Enfeksiyon şiddeti
Ookist yok	-	-
1-10 Ookist	+	Hafif
11-25 Ookist	++	Orta
>25 Ookist	+++	Şiddetli

Aştı ve ark. (20) yaptıkları bir çalışmada, Türkiye'de 17 farklı il-den aldıkları ishali 267 buzağı dışkı örneğini karbol-fuksin boyama yöntemi ile *Cryptosporidium spp.* yönünden incelemiş ve 54'ünde (%20,22) etken tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Erzurum yöresinde 2013 yılında yapılan bir çalışmada bir aydan küçük 307 buzağı dışkısında Nested PCR yöntemiyle cryptosporidiosis prevalansı %3,8 olarak bulunmuştur (21).

Elazığ yöresinde yapılan bir çalışmada, 1-28 günlük 30 buzağı dışkı örneği (ishali) ticari in vitro Rapid Diagnostic Test ile içinde *Cryptosporidium*'un da bulunduğu dört farklı enteropatojen yönünden incelenmiş ve hiçbir örnekte *Cryptosporidium* etkenine rastlanmamıştır (22).

Yapılan bu çalışmada, 6 aylığa kadar olan hem ishali hem sağlıklı buzağı dışkı örnekleri mAF boyama yöntemine göre değerlendirildiğinde oranın %3,8'e kadar düşüğü saptanmıştır. Bu düşüşün sebepleri arasında ilk olarak iklimsel değişiklikler akla gelmiştir. İklimsel değişikliğin yanı sıra hayvan sahiplerinin yetiştiricilik adına bilinçlenmesi, bilinçli ilaç kullanımı gibi faktörler sayılabilmektedir.

*Cryptosporidiosis* ile ilgili yapılan çalışmalar ile Kars yöresinde tespit edilen sonuçlar kıyaslandığında pozitiflik oranının hem mAF boyama yöntemine göre hem de ELISA metoduna göre daha düşük olduğu görülmektedir (3-9, 12-15, 17-20). Diğer çalışmalarda cryptosporidiosis prevalansının daha yüksek çıkmasında, hem semptomlu hem de risk faktörü daha yüksek olan neonatal buzağılar üzerinde araştırma yapılmış olmasının etkili olabileceği düşünülmektedir.

Araştırmada amaçlanan rutin muayene tekniği olan mAF boyama yönteminin yanında ELISA testi ile de enfeksiyonun yaygınlığının

**Tablo 2.** Kars Yöresinde Buzağılarda *Cryptosporidium* yaygınlığı

	Yöntem	x/n (%)
mAF Boyama	12/313	(%3,8)
ELISA*	16/313	(%5,1)

\*Dışkıda *Cryptosporidium* koproantijeni arama  
x/n: *Cryptosporidium* pozitif örnek sayısı / İncelenen örnek sayısı

**Tablo 3.** Kars'ta buzağılarda klinik ve yaş grubuna göre *Cryptosporidium* görülme oranı

Yöntem	< 3 aylık		3 - 6 aylık	
	İshal	Normal	İshal	Normal
mAF Boyama	7/138 (%5)	3/115 (%2,6)	1/8 (%12,5)	1/52 (%1,9)
ELISA	10/138 (%7,2)	4/115 (%3,4)	1/8 (%12,5)	1/52 (%1,9)
Toplam	14/253 (%5,5)		2/60 (%3,3)	

**Tablo 4.** Kars yöresindeki buzağılarda *Cryptosporidium parvum* ve *Cryptosporidium* koproantijenleri yaygınlığı

Test Adı	<3 aylık	3 - 6 aylık	Toplam
<i>C.parvum</i> ELISA kiti	12/194 %6,2	1/28 %3,6	13/222 %5,9
<i>Cryptosporidium</i> ELISA kiti	2/59 %3,4	1/32 %3,1	3/91 %3,3

belirlenmesidir. Yapılan bu çalışmada, enfeksiyon oranının çok düşük çıkması nedeniyle istatistiki karşılaştırmalar da yapılamamıştır. Bu nedenle ileriki dönemlerde bu tip araştırmaların belirli çiftliklerde moleküler tanı metodlarının da eklenerek yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Yapılacak bu araştırmalar ile cryptosporidiosisin yöredeki risk durumu daha ayrıntılı olarak ortaya konulabilecektir.

## SONUÇ

Kars yöresindeki sütçü işletmelerde bulunan ishali ve sağlıklı buzağlarda *Cryptosporidium* cinsi protozoonların görülme oranını rutin teşhis metodu olan modifiye asit-fast boyama tekniği ve ELISA ile saptanmıştır. Sütçü buzağlarda *Cryptosporidium* prevalansın AF ile %3,8, ELISA ile %5,1 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar bölgede buzağlarda *Cryptosporidium* enfeksiyon oranlarının yıllara göre değiştiğini göstermiştir. Çalışmada ayrıca dışkıda koproantijenlerin arandığı ELISA yöntemiyle cins ve tür düzeyinde *Cryptosporidium* görülme durumu belirlenmiştir. Her iki ELISA kiti sonuçları da birbirine yakın bulunmuştur. Ayrıca modifiye asit fast boyama ile pozitiflik saptanan örneklerin ELISA ile de pozitif bulunması önemli bir bulgu olmuştur. Çünkü dışkı muayenelerinde mAF ile mikroskopik incelemede ookist olmayan yapılar yanlışlıkla ookist olarak değerlendirilebilmektedir. Ayrıca boyama tekniklerinin yapılmasında laboratuvar uzun zaman harcanmaktadır. Bu nedenle hazırlanacak yerli üretim koproantijen arama kitleri ile bu protozoonun ve diğer intestinal protozoonların laboratuvar teşhisleri kolaylıkla yapılabilecektir. Ayrıca kliniklerde kesin tanı için pratik olarak bu testler kullanılabilir.

**Etik Komite Onayı:** Bu çalışma için etik komite onayı Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır (15.12.2009).

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - M.Ö.A., N.G.; Tasarım - N.G., M.Ö.A.; Denetleme - M.Ö.A.; Kaynaklar - N.G.; Malzemeler - N.G.; Veri Toplanması ve/veya işlemesi - N.G.; Analiz ve/veya Yorum - N.G., M.Ö.A.; Literatür taraması - N.G.; Yazıyı Yazan - N.G.; Eleştirel İnceleme - M.Ö.A.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 2010-VF-05 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

**Ethics Committee Approval:** Ethics committee approval was received for this study from the Kafkas University Local Ethics Committee for Animal Experiments (15.12.2009).

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author contributions:** Concept - M.Ö.A., N.G.; Design - N.G., M.Ö.A.; Supervision - M.Ö.A.; Funding - N.G., M.Ö.A.; Materials - N.G.; Data Collection and/or Processing - N.G.; Analysis and/or Interpretation - N.G., M.Ö.A.; Literature Review - N.G.; Writer - N.G.; Critical Review - M.Ö.A.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Financial Disclosure:** This study was financially supported by Kafkas University Scientific Research Programs (Project No: 2010-VF-05).

## KAYNAKLAR

- Fayer R. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Exp Parasitol* 2010; 124: 90-7. [CrossRef]
- Nichols G. Epidemiology. Fayer R, Xiao L, editors. *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*. Boca Raton FL: CRC Press; 2008 pp. 79-118.
- Thompson RC, Olson ME, Zhu G, Enomoto S, Abrahamsen MS, Hijawi NS. *Cryptosporidium* and *Cryptosporidiosis*. *Adv Parasitol* 2005; 59: 77-158. [CrossRef]
- Brook E, Hart CA, French N, Christley R. Prevalence and risk factors for *Cryptosporidium* spp. infection in young calves. *Vet Parasitol* 2008; 152: 46-52. [CrossRef]
- Castro-Hermida JA, González-Losada YA, Ares-Mazás E. Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NW Spain). *Vet Parasitol* 2002; 106:1-10. [CrossRef]
- 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. *Vet Parasitol* 2006; 137: 50-61. [CrossRef]
- Silverlås C, Emanuelson U, de Verdier K, Björkman C. Prevalence and associated management factors of *Cryptosporidium* shedding in 50 Swedish dairy herds. *Prev Vet Med* 2009; 90: 242-53. [CrossRef]
- Trotz-Williams LA, Martin SW, Leslie KE, Duffield T, Nydam DV, Peregrine AS. Association between management practice and within-herd prevalence of *Cryptosporidium parvum* shedding on dairy farms in southern Ontario. *Prev Vet Med* 2008; 83: 11-23. [CrossRef]
- Geurden T, Claerebout E, Vercruyse J, Berkvens D. A Bayesian evaluation of four immunological assays for the diagnosis of clinical cryptosporidiosis in calves. *Vet J* 2008; 176: 400-2. [CrossRef]
- Ok ÜZ, Girginkardeşler N, Kilimcioğlu A, Limoncu E. Dışkı İnceleme Yöntemleri. Özcel MA ve Altıntaş N. (Edit.), *Parazit Hastalıklarında Tanı*, Türkiye Parazit Derg., Yay. No. 15, 1997. s. 1-61.
- Smith H. Diagnostics. In: Fayer R, Xiao L (Eds.): *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*. Boca Raton FL, CRC Press; 2008; pp. 173-207.
- Uyar Y, Taylan Ozkan A. Antigen detection methods in diagnosis of amebiasis, giardiasis and cryptosporidiosis. *Türkiye Parazit Derg* 2009; 33: 140-50.
- Burgu A. Preliminary studies on the occurrence of *Cryptosporidia* in calves in Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1984; 31: 573-85.
- Çitil M, Arslan MÖ, Güneş V, Erdoğan HM. The prevalence of *Escherichia coli* O157 serotype and *Clostridium Perfringens* type A<sub>1</sub> Toxin in neonatal diarrhoeic calves in Kars district. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2004; 10: 59-64.
- Sarı B, Arslan MO, Gıcık Y, Kara M, Taşçı GT. The prevalence of *Cryptosporidium* species in diarrhoeic lambs in Kars province and potential risk factors. *Trop Anim Health Prod* 2009; 41: 819-26. [CrossRef]
- Starling CR, Arrowood MJ. *Cryptosporidia*. In: *Inparasitic protozoa*. Academic Press 1993; 65: 159-224.
- Özçelik S, Poyraz Ö, Kalkan K, Malatyalı E, Değerli S. The investigation of *Cryptosporidium* spp. prevalence in cattle and farmers by ELISA. *Kafkas Üniv Vet Derg* 2012; 18 (Suppl-A): A61-A64.
- Arslan MÖ. Kars yöresindeki buzağlarda cryptosporidiosis sorunu. VI. Ulusal Veteriner İç Hastalıkları Kongresi; 4-7 Temmuz; Kars, 2005, s: 16.
- Arslan MÖ, Gıcık Y, Erdoğan HM, Sarı B. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. oocysts in diarrhoeic calves in Kars Province, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2001; 25: 161-4.
- Aştı C, Özbakiş G, Azrug AF, Orkun Ö, Nalbantoğlu S, Çakmak A, Burgu A. Results of calf stool examination of the different provinces. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2012; 18: A209-A214.
- Güven E, Avcıoğlu H, Balkaya I, Hayirli A, Kar S, Karaer Z. Prevalence of *Cryptosporidium* and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in calves in Erzurum. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2013; 19: 969-74.
- Murat AL, Balıkçı E. Detection of Rotavirus, Coronavirus, *E. coli* K99, *Cryptosporidium parvum* in neonatal calves with diarrhoea by rapid diagnostic test kits and relationship between these enteropathogens and maternal immunity. *Firat Üniv Sağlık Bil Vet Derg* 2012; 26: 73-8.