

Giardia spp. İle Doğal İnfekte Buzağlarda Hipomagnezemi

Songül TOPLU^{1*}, Kerem URAL¹, Nuran AYSUL², Adnan AYAN², Mehmet GÜLTEKİN¹
Canberk BALIKÇI¹

¹Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Aydın/TURKEY

²Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın/TURKEY

Corresponding author e-mail: songultp.09@hotmail.com

ÖZ

Magnezyum enerji metabolizmasında birçok enzimin aktivasyonuna katılan makromineraldir. Diyetle alınımının ve absorpsiyonunun azalması veya konjenital metabolik hastalıklar sonucu Mg eksikliği şekillenebilmektedir. Bu olgu sunumunda 2 aylık yaştan küçük, doğal olarak giardiazisli 11 ishalleri buzağında Mg düzeyleri araştırıldı. Hasta başı hızlı test kitleriyle *Giardia duodenalis* pozitif saptananlarda, tanının kesinleştirilmesi amacıyla dışkı örnekleri çinko sülfat flotasyon/Giemsa boyama ile incelendi. Mg seviyeleri Vet Photometer 700 DP cihazı ile enzimatik-kolorimetrik yöntemle belirlendi. Hasta buzağlarda Mg seviyeleri (min-maks) 0.15-0.41 mmol/L arasında bulundu. Elde ettiğimiz bulgular literatürlerdeki sağlıklı referans grubu ve aynı yaştaki buzağlar (0,8-1,6 mmol/L) ile hipomagnezemili ancak giardiazisi bulunmayanlarda (0,4-0,5 mmol/L) saptanan referans aralıklarına göre daha düşük seviyelerde Mg tespit edildiğini göstermektedir. Sonuç olarak *Giardia spp.* ile doğal infekte buzağlarda, malabsorpsiyon ve diyarenin magnezyum emilimini bozarak hipomagnezemiye sebep olabileceği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Buzağı, Giardiazis, Magnezyum

Hypomagnesemia In Naturally Infected Calves With *Giardia spp.*

ABSTRACT

Magnesium is macro mineral contributed to activation of many enzymes in energy metabolism. Magnesium deficiency is formed as a result of inadequate diet intake, reduction of absorption or congenital metabolic disease. In the present report, Mg levels were analyzed in 11 diarrheic calves, less than 2 months of ages and naturally infected with giardiasis. Diagnosis was made on rapid test kits against *G. duodenalis*, and confirmed by zinc sulphate flotation or Giemsa staining. Mg levels determined by Vet Photometer 700 DP device with enzymatic-colorimetric method. Mg levels were found between the ranges of (min-max) 0.15-0.41 mmol/L in naturally infected calves. Our findings indicated lower Mg levels when compared with literaturally indicated healthy and age-matched calves (0,8-1,6 mmol/L) and hypomagnesemic calves without giardiasis (0,4-0,5 mmol/L). Consequently, it may be concluded that malabsorption and diarrhea might cause hypomagnesemia by blocking intestinal Mg absorption in naturally infected calves with *Giardia spp.*

Key Words: Calf, Giardiasis, Magnesium

To cite this article: Toplu S,Ural K,Aysul N,Ayan A,Gültekin M,Balıkçı C. *Giardia Spp.* İle Doğal İnfekte Buzağlarda Hipomagnezemi. *Kocatepe Vet J.* 2016; 9(4): 386-390.

GİRİŞ

Magnezyum (Mg) organizmada en önemli ikinci intraselüler katyon olup vücudun fonksiyon ve faaliyetlerini yerine getirmesinde sorumlu olan birçok enzimin aktivasyonunda, sinirsel ileti ve kas kontraksiyonlarında rol oynamaktadır (Lehninger 1950, Aikawa 1981, Ryan 1991, Shills 1997). Magnezyumun % 70' i kemik yapısında, % 29' u intraselüler alanda, % 1' i ise plazma ve ekstraselüler sıvıda bulunmaktadır (Rook ve Storry 1962, Hays ve Swenson 1993, Nadler 1995, Shills 1997). RKan ve ekstraselüler sıvıdaki Mg konsantrasyonu gıda ile alınan miktarın bağırsaklardan emiliminin yanı sıra süt üretimi ile doku kullanımı arasındaki dengeye bağlı olup, atılımı böbrekler tarafından kontrol edilmektedir (Radostits ve ark. 2008). Kanda Mg seviyesi arttığı zaman böbrekler tarafından atılımı artarken, organizmadaki kullanımı emiliminden fazla olduğunda hipomagnezemi gelişebilmektedir (Averill ve Heaton 1966, Dirks ve Quamme 1986, Martens ve Gäbel 1986, De Rouffignac ve Quamme 1994).

Hipomagnezematik tetanide, buzağılarda yaş ilerledikçe Mg' un bağırsaklardan emilimi azalmakta buna karşın idrarla atılımı artmaktadır. Sebepleri arasında uzun süreli sadece süt ile yapılan besleme (Duncan ve ark. 1935, Wise ve ark. 1939, Huffman ve ark. 1941), sütteki Mg yetersizliğiyle birlikte organizmadaki dengesinin sağlanamaması (Blaxter 1956) ve bunun yanı sıra sütteki Mg emilimini engelleyen durumlar (Huffman ve ark. 1941) yer almaktadır. Ayrıca ishal durumlarında da bağırsaklardan emiliminin azalmasına bağlı (Radostits ve ark. 2008) hipomagnezemi gelişebileceği belirtilmiştir (Groutides ve Michell 1990). Bu görüşün aksine ishalleri buzağılarda Mg seviyelerinin normal olduğunu belirten çalışmalar da mevcuttur (Michell ve ark. 1992, Tajik ve Nazifi 2013).

Giardia duodenalis buzağılarda yaygın olarak görülen ishal etmenleri arasında yer almakla (Radostits ve ark. 2008) ve buzağılarda ve diğer omurgalı canlılarda intestinal malabsorbsiyon ve hipersekresyon kombinasyonu ile ishale neden olmaktadır (Buret 2007, Troeger ve ark. 2007). Buzağılar 4 günlük yaştan itibaren giardiazisle enfekte olabilmelerine rağmen yaygın olarak 4-12 haftalık yaş en fazla dışkıda kist saçılımına rastlanıldığı zaman dilimidir (O'Handley ve ark. 1999, Ralston ve ark. 2003).

Tıp alanında yapılan çalışmalarda, giardiazisle enfekte 6-12 yaşlı çocuklarda serum Mg seviyelerinin sağlıklı çocuklara göre düşük olduğu belirtilmiştir (Çulha ve Sangün 2007, Arbabı ve ark. 2015). İnsan çalışmalarının aksine buzağılarda Mg seviyesine ilişkin güncel veriler kısıtlı olmakla birlikte giardiazisle doğal enfekte buzağılarda serum Mg seviyelerini belirten çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu olgu sunumu ile süt emen ve *Giardia spp.* ile doğal enfekte buzağılarda Mg seviyelerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Ayrıca elde edilen

sonuçların ilerleyen çalışmalarda önemli ekonomik kayıplara neden olan diyare tedavisinde oluşabilecek Mg yetersizliğinin de göz önünde bulundurulmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

OLGU ÖYKÜSÜ

Olgu materyalini Aydın ilinde yer alan süt sığırcılığı işletmelerinden temin edilen, 35-60 günlük ishal şikayeti bulunan 11 Holstein buzağı oluşturdu.

Tablo 1: Çalışmadaki Holstein ırkı buzağuların demografik bilgileri ile Mg seviyeleri.

Table 1: Demographic information of Holstein calves enrolled in this study along with Mg levels.

Hayvan No	Cinsiyet	Yaş	Mg seviyesi (mmol/L)
1	Erkek	2 ay	0.15
2	Dişi	35 gün	0.32
3	Erkek	2 ay	0.33
4	Dişi	2 ay	0.30
5	Dişi	35 gün	0.33
6	Dişi	2 ay	0.33
7	Erkek	2 ay	0.29
8	Erkek	2 ay	0.36
9	Dişi	2 ay	0.41
10	Dişi	2 ay	0.28
11	Erkek	1.5 ay	0.39

Olgu materyali, hasta başı hızlı tanı test kitleri (Anigen Rapid BoviD-5 Ag Test Kit, Bionote lab.) aracılığıyla *G. duodenalis* antijen varlığı tespit edilen ve diğer yaygın neonatal ishal etkenlerinin (*Bovine Rotavirus*, *Coronavirus*, *E. coli* K99, *Cryptosporidium sp*) varlığı elimine edilen buzağılardan seçildi. Hasta başı hızlı tanı test kitleriyle *G. duodenalis* yönünden pozitiflik saptanan buzağılardan uygun kaplara dışkı örnekleri toplandı. Alınan dışkı örnekleri laboratuvar ortamında çinko sülfat flotasyon ile zenginleştirilerek ya da Giemsa boyama yöntemi ile $\times 40$ veya $\times 100$ büyütmede mikroskop altında incelenerek tanı doğrulandı. Bunun yanı sıra Mg seviyelerinin belirlenmesi amacıyla 8 ml' lik yeşil kapaklı heparinize tüplere *Vena jugularis*' ten alınan kan örnekleri uygun koşullarda ($+4^{\circ}\text{C}$) laboratuvar ortamına getirildikten sonra ependorflara ayrıştırılan plazma örnekleri Mg analizleri gerçekleştirilene kadar -20°C ' de saklandı. Mg seviyeleri Vet Photometer 700 DP (Diaglobal, Germany/distribitör Genartek, Turkey) cihazı ile enzimatik-kolorimetrik yöntemle belirlendi. Enzimatik-kolorimetrik yöntemin esası üretici firmanın belirttiği şekilde, Ksilidil mavi boyası ve Mg' un alkali ortamda renk veren bir şelat oluşturmasına ve bu renk kompleksinin 520 nm' da okunabilmesine dayandırıldı. Oluşabilecek yanlış okumalar ortamdaki kalsiyum iyonları renk reaktifinde yer alan EDTA (etilendiamin tetraasetik asit) ile bağlanarak şelat oluşumu engellendi. Ölçüm ise eklenen standart ile yapıldı (Mg^{+2} + Ksilidil mavi boyası \rightarrow Renk oluşumu).

Olgulara ait demografik bilgiler tablo 1’de gösterildi. Bu olgu sunumunda giardiazisli hasta buzağılarda Mg seviyeleri (min-maks) 0.15-0.41 mmol/L arasında bulundu. Kısıtlı sayıda olgu dahil edildiğinden ve karşılaştırmalı olarak sağlıklı kontrol grubu bulunmadığından ortalama/ortanca değerler ile istatistiksel analiz gerçekleştirilemedi. Elde ettiğimiz bulgular literatürde sözü edilen sağlıklı referans grubu ve aynı yaştaki buzağılar (0.8-1.6 mmol/L) (Duncan ve ark. 1935, Smith 1957, Sastry ve Rama 2001, Ryan ve Cacciò 2013) ile hipomagnezemili ancak giardiazisi bulunmayanlarda (0.4-0.5 mmol/L) (Cynthia ve Scott 2010, Soni ve Shukla 2012) saptanan referans aralıklarına göre daha düşük seviyelerde Mg tespit edildiğini göstermektedir.

Tablo 2: Buzağılarda Mg değerleri ve analiz yöntemleri

Table 2: Calves Mg levels and analysis methods

	Elde edilen değerler(mmol/L)	Yöntem
Çalışmamızdaki giardiazisli buzağılar	0.15-0.41	Enzimatik-kolorimetrik
Literatürlerde hipomagnezemisi bulunan ancak giardiazisi bulunmayan buzağılar	0,4-0,5	Atomik absorpsiyon spektrofotometrik
Literatürde sözü edilen sağlıklı buzağı referans grubu	0,8-1,6	Atomik absorpsiyon spektrofotometrik

TARTIŞMA ve SONUÇ

Magnezyumu ile kardiyovasküler sistem, hipertansiyon, santral sinir sistemi, iskelete kas sistemi ve gebelik arasında halihazırda bilinen bir ilişki söz konusudur (Efstratiadis ve ark. 2006). Esansiyel bir mineral olmasının yanı sıra, birçok fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonda rol oynamaktadır. İlginç bir şekilde magnezyum homeostazisi hormonal geri dönüşüm mekanizmalarıyla değil de, basit şekilde gastrointestinal kanalda giriş (emilim) ve çıkış (endojen sekresyon, süt üretimi için gereksinim, dokular tarafından alınım) yolu ile düzenlenmektedir. Bu denge (giriş ve çıkış) bozulduğunda idrarla atılımı sağlanmaktadır. Ayrıca şayet atılımı (süt sekresyonu ve endojen kayıp) fazlaştığında, homeostazisi sağlayan hormonal mekanizmaların eksikliği/bulunmaması nedeniyle hipomagnezemi meydana gelmektedir. Ruminantlarda bunun önde gelen sebebi ön midelerde Mg emiliminin azalması sonrası yetersiz alımın meydana gelişidir (Martens ve Schweigel 2000). Ruminantlarda fermentasyon ürünleri (NH₄⁺ ve benzeri) Mg emilimini

etkilemekte, rumende ani NH₄⁺ artışı geçici olarak Mg emilimini azaltmaktadır. Bu bağlamda hipomagnezeminin en baskın klinik bulguları ekzitasyon ve kas kramplarıdır (serebrospinal sıvıdaki Mg konsantrasyonu ile yakından ilişkide). İlavenen meydana gelen klinik bulguların hipomagnezemiye ilişkin santral sinir sistemindeki nöronların spontan aktivasyonu ile yakından ilişkide olduğu ve tetani ile sonuçlandığı bildirilmektedir. Buzağı, inek ve koyunlarda (Martens ve Schweigel 2000), protein kayıplı enteropatisi mevcut köpeklerde (Gaschen 2013), okul çağındaki çocuklarda (Tsau ve ark. 1998, Çulha ve Sangün 2007) hipomagnezemi görülebilmektedir. Çalışmamızın dayanak noktalarından birisini oluşturan önceki bir çalışmada okul çağındaki giardiazisli çocuklarda hipomagnezemi belirlenmiştir. Aynı çalışmada kobalt-magnezyum, kobalt-çinko ile magnezyum-çinko seviyeleri arasında istatistiksel olarak belirgin bir ilişki saptanmıştır (Çulha ve Sangün 2007). Sunduğumuz olguda yalnızca Mg analizleri gerçekleştirilmiş ve giardiazis ile ilişkilendirilmiştir.

Buzağılar 3 aylık yaşa gelene kadar bağırsak mukozasından Mg emilimi kademeli olarak azalmaktadır (Cynthia ve Scott 2010). Özellikle 2-4 aylık yaştaki süt ile beslenen buzağılarda hipomagnezemi daha fazla görülebilmektedir. Fazla miktarda süt ile beslenen ve hızlı gelişen buzağılarda dokuların Mg ihtiyacının artış göstermesine bağlı olarak hipomagnezemi daha sıklıkla bildirilmektedir (Soni ve Shukla 2012). Bu olgu sunumunda ifade edilen yaş aralığından farklı olarak 2 aylık yaştan daha küçük buzağılarda hipomagnezemi geliştiği görüldü.

Yapılan farklı çalışmalarda sağlıklı buzağılarda Mg seviyesi 0,8-1,6 mmol/L olarak değişkenlik göstermektedir (Duncan ve ark. 1935, Smith 1957, Sastry ve Rama 2001, Ryan ve Cacciò 2013). Buzağılarda Mg seviyesinin 0.4 mmol/L’ nin altına düşmesi hipomagnezemi ya da süt tetanisi olarak adlandırılan ve canlıyı ölüme kadar götürebilen, yaygın olarak kas fonksiyon yetersizliği ve tetanik spazm, nörolojik bozukluk ile seyreden klinik tabloya neden olmaktadır (Huffman ve ark. 1941, Haggard ve ark. 1978). Gerçekleştirilen bu olgu sunumunda elde edilen Mg seviyeleri literatür referans aralıklarına ve hipomagnezemili buzağılardan elde edilen verilere göre oldukça düşük olmasına rağmen klinik konvüzyonlar gözlemlenmemiştir.

Klinik olarak hipomagnezemiye ilişkin bulgular gösteren 3 aylık yaşta 6 buzağıda ortalama serum Mg seviyesi <0.5 mmol/L bulunurken (Soni ve Shukla 2012) yapılan farklı çalışmalar da 0.4-0.5 mmol/L (Cynthia ve Scott 2010, Soni ve Shukla 2012) aralığında tespit edilmiştir. Bu olgu sunumunda hasta buzağılarda Mg seviyeleri (min-maks) 0.15-0.41 mmol/L arasında bulunmuştur. Elde ettiğimiz bulgular literatürlerdeki sağlıklı referans grubu ve aynı yaştaki buzağılar (0.8-1.6 mmol/L) (Duncan ve

ark. 1935, Smith 1957, Sastry ve Rama 2001, Ryan ve Cacciò 2013) ile hipomagnezemili ancak giardiazisi bulunmayanlarda (0.4-0.5 mmol/L) (Cynthia ve Scott 2010, Soni ve Shukla 2012) saptanan referans aralıklarına göre daha düşük seviyelerde Mg tespit edildiğini göstermektedir (Tablo 2).

Sonuç olarak *Giardia spp.* ile doğal olarak infekte buzağılarda, malabsorpsiyon ve diyarenin Mg emilimini bozarak hipomagnezemiye sebep olabileceği söylenebilir. Bu konuda daha detaylı ve kapsamlı, fazla sayıda buzağı popülasyonu ile yapılacak çalışmalar elde edilen bulguları destekleyebilir.

KAYNAKLAR

- Aikawa JK.** Magnesium: its biologic significance. CRC Press, Boca Raton, Florida. 1981; pp. 185.
- Arbabi M, Esmaili N, Parastouei K.** levels of zinc, copper, magnesium elements, and vitamin b12, in sera of schoolchildren with giardiasis and entrobiosis in Kashan, Iran. Zahedan J Res Med Sci. 2015; 17 (11): 47-53.
- Averill CM, Heaton FW.** The renal handling of magnesium. Clin Sci. 1966; 31: 353-360.
- Blaxter KI.** The Magnesium Content of Bone in Hypomagnesaemic Disorders of Livestock. In: Bone Structure and Metabolism, Ed., Wolstenholme WEB, O'Connor C, John Wiley & Sons, Ltd, England. 1956; pp. 117-134.
- Buret AG.** Mechanisms of epithelial dysfunction in giardiasis. Gut. 2007; 56: 328-335.
- Cynthia MK, Scott L.** The Merck Veterinary Manual. 10th Ed., Merck & Co., Inc., Whitehouse station, NJ, USA. 2010; pp. 1331-1333.
- Çulha G, Sangün MK.** Serum levels of zinc, copper, iron, cobalt, magnesium, and selenium elements in children diagnosed with Giardia intestinalis and Enterobiosis vermicularis in Hatay, Turkey. Biol Trace Elem Res. 2007; 118(1): 21-26.
- De Rouffignac C, Quamme GA.** Renal magnesium handling and its hormonal control. Physiol Rev. 1994; 74: 305-322.
- Dirks JH, Quamme GA.** Renal handling of magnesium. Adv Exp Med Biol. 1978; 103: 51-64.
- Duncan CW, Huffman CF, Robinson CS.** Magnesium studies in calves. I. Tetany produced by ration of milk or milk with various supplements. Biol. Chem. 1935; 108: 35-44.
- Efstratiadis G, Sarigianni M, Gougourelas I.** Hypomagnesemia and cardiovascular system. Hippokratia. 2006; 10: 147.
- Gaschen F.** Protein-Losing Enteropathy: The Beginning of the End? Critical GI Updates 2013 NAVC/WVC Proceedings, 2013; pp. 1-8.
- Groutides CP, Michell R.** Changes in plasma composition in calves surviving or dying from diarrhea. Br Vet J. 1990; 146: 205-210.
- Haggard DL, Whitehair CK, Langham RF.** Tetany associated with magnesium deficiency in suckling beef calves. AVMA. 1978; 172(4): 495-497.
- Hays VW, Swenson MJ.** Minerals and bones. In: Physiology of domestic animals, Ed; Swenson MJ, Reece WO, 11th Ed., Cornell University Press, Ithaca, NY. 1993; pp. 449-466.
- Huffman CF, Conley CL, Lightfoot CC.** Magnesium studies in calves. II. Effect of magnesium salts and various natural feeds upon the magnesium content of the blood plasma. J Nutr. 1941; 22: 609-620.
- Lehninger A.** Role of metal ions in enzyme systems. Physiol Rev. 1950; 30: 393-429.
- Martens H, Gäbel G.** Physiological aspects of the pathogenesis and prophylaxis of grass tetany. DTW. 1986; 93: 170-177.
- Martens H, Schwigel M.** Pathophysiology of gross tetany and other hypomagnesiumias Implication for clinical management. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 1988; 16(2): 339-368.
- Martens H, Schweigel M.** Pathophysiology of grass tetany and other hypomagnesiumias: implications for clinical management. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2000; 16: 339-368.
- Michell AR, Brooks HW, White DG.** The comparative effectiveness of three commercial oral solutions in correcting fluid, electrolyte and acid-base disturbances caused by calf diarrhoea. Brit Vet J. 1992; 148(6): 507-522.
- Nadler JL, Rude RK.** Disorders of magnesium metabolism. Endocrinol Metab Clin N Am. 1995; 24: pp. 623-641.
- O'Handley R, Cockwill C, McAllister TA.** Duration of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhoea. J Am Vet Med Assoc. 1999; 214: 391-396.
- Quamme GA, Cole DEC.** Physiology and pathophysiology of renal magnesium handling. In: Advances in magnesium research: nutrition and health, Ed., Rayssiguier Y, Mazur A, Durlach J, John Libbey & Company Ltd, Eastleigh, England. 2001; pp. 155-156.
- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW.** Diseases associated with protozoa. In: Veterinary Medicine: A Textbook of Diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats, Ed, Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD,

10th Ed., WB. Saunders, Philadelphia. 2008; pp. 1483-1540.

- Ralston BJ, McAllister TA, Olson ME.** Prevalence and infection pattern of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in range beef calves and their dams. *Vet Parasitol.* 2003; 114: 113–122.
- Rook JAF, Storry JE.** Magnesium in the nutrition of farm animals. *Nutr Abstr Rev.* 1962; 32: 1055–1077.
- Ryan MF.** The role of magnesium in clinical biochemistry: an overview. *Annal Clin Biochem.* 1991; 28: 19–26.
- Ryan U, Cacciò SM.** Zoonotic potential of Giardia. *Int J Parasitol.* 2013; 43 (12): 943-956.
- Sastry GA, Rama RP.** *Veterinary Pathology.* 7th Ed., CBS Publishers and Distributors, New Delhi. 2001; pp. 120.
- Shills ME.** Magnesium. In: *Handbook of nutritionally essential mineral elements*, Ed; O'Dell BL, Sunde RA, 1st Ed., CRC press, Marcel Dekker; NY. 1997; pp. 121-152.
- Smith RH.** Calcium and magnesium metabolism in calves. Plasma levels and retention in milk-fed calves. *Biochem J.* 1957; 67 (3): 472-481.
- Soni AK, Shukla PC.** Hypomagnesemic tetany in cow calves: a case study. *Envol Ecol.* 2012; 30 (4): 1601-1602.
- Tajik J, Nazifi S.** A Preliminary study of the correlations of serum concentrations of electrolytes and trace elements with clinical signs in diarrheic dairy calves. *Pak Vet J.* 2013; 33 (1): 5-8.
- Troeger H, Epple HJ, Schneider T.** Effect of chronic Giardia lamblia infection on epithelial transport and barrier function in human duodenum. *Gut.* 2007; 56: 316–317.
- Tsau YK, Tsai WY, Lu FL, Tsai WS, Chen CH.** Symptomatic hypomagnesemia in children. *Zhonghua Minguo xiao er ke yi xue hui.* 1997; 39: 393-397.
- Wise GH, Petersen, WE, Gullickson TW.** Inadequacy of a whole-milk ration for dairy calves as manifested in changes of blood composition and in other physiological disorders. *J Dairy Sci.* 1939; 22: 559-572.