

CRYPTOSPORİDİOSİS

M. Arda SEYİSOĞLU (*)

GİRİŞ

Cryptosporidium türleri, Coccidia grubu protozoonlardan olup, insanların, memeli hayvanların, kanatlıların, balıkların ve sürüngenlerin sindirim kanalı epitel hücreleri içinde çoğalıp gelişirler. Buna ilaveten kanatlılarda trachea, bursa fabricius ve conjunctivada, insan ve domuzlarda solunum sisteminde, Rhesus maymunlarında safra kesesi, safra yolları ve pankreasda lokalize olurlar. Bu etkenler özellikle buzağı ve insanlarda ishallere, bazı konakçılarda ise subklinik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Önceleri seyrek buldukları ve konakçıya özgü oldukları düşünülen bu protozoonların şimdi her yerde mevcut Dünya'nın her tarafında oldukları ve birçok konakçılarının bulunduğu ve normal konakçıların dışında immun yetersizliği olan bireylerde fırsatçı patojen olarak bilinmektedir. Özellikle kazanılmış immun yetersizlik sendromlularında bu protozoonun oluşturduğu enfeksiyon uzun süreli ve hayatı tehdit eden bir durumla sonuçlanır. İmmunolojik olarak yeterli bireylerde ise bu etkenler kısa süreli, kolera benzeri hastalık oluşturabilir. Cryptosporidium türlerinin gelişmeleri diğer enterik Coccidia türlerine benzer ve enfeksiyon oocystlerin oral yolla alınması ile oluşur. Extracellular olmaları ile diğer Coccidia türlerinden ayrıldığı bildirilmişse de, bunların konakçı hücrelerine ait membranlarla çevrili olarak buldukları, bu nedenle de gerçek anlamda extracellular olmadıkları ortaya konmuştur. (1,2,3,4,10,15,17).

TARİHÇE : Amerikan parazitoloğu E.E. Tyzzer'e göre farelerin mide epitelyumunda Cryptosporidium'a benzeyen bir parazitin ilk basılı tanımı, 1895 yılında Clark tarafından yapılmıştır. 1907 yılında Tyzzer, laboratuvar farelerinin mide bezlerinde sık sık rastladığı bir protozoonu açık olarak tanımlamıştır. Bu protozoonu Cryptosporidium muris adını önermiş fakat 1910 yılına kadar yeni bir cinsi tesis edebilmek için gerekli özellikleri sağlayamamıştır. Mikroskop kullanarak Tyzzer azimle çalışmalarını sürdürmüş, bu etkenlerin extracellular olduğunu yorumlamasını sağlayacak eşeysiz gelişme, eşeyli gelişme ve sporogoninin safhalarını gözlemiş ve oocystlerin vucudu dışı yoluyla terkettiğini belirtmiştir. 1910 yılında Tyzzer, C. murisi daha ayrıntılı olarak tanımlamış, konakçı sayısını çoğaltmış ve mide bezlerinde olgunlaşan Oocystlerden serbest bırakılan sporozoitler, otoenfeksiyonun kaynağı olabileceğini öne sürmüştür.

(*) Etlik Hay. Hast. Araşt. Enst. Vet. Hek

Daha sonra 1912 yılında Tyzzer laboratuvar farelerinin ince barsaklarında gördüğü etkeni *Cryptosporidium parvum* olarak tanımlamış ve isimlendirmiştir. Bunu takiben *Cryptosporidium* türlerinden ileri gelen enfeksiyonların taşvan, hindi, kobay, rhesus maymunu ve civcivlerde görüldüğü bildirilmiştir. Civcivlerin caecum epitellerinde *Cryptosporidium* türlerinin *C. parvum* ile özdeş olduğu bildirilmiş, fakat 1961 yılında Levine bu türün, konakçılarının civcivler olduğunu vurgulamak için *C. tyzzeri* olarak isimlendirmiştir ve 1984 yılında da *C. meleagridis* ile sinonimleştirmiştir. Kanatlı *Cryptosporidiosis*'inde morbidite ve mortalite 1955 yılında Slavın tarafından hindilerde tanımlanmış ve Slavın bu paraziti *C. meleagridis* olarak isimlendirmiştir (1,2,3,6,13).

Sığırlarda *Cryptosporidium* türlerine ilk kez Panciera ve ark. tarafından 1971 yılında raslanmış olup, Oklahoma'da klinik olarak zayıflama, dehidrasyon ve ishal gösteren 8 aylık dişi Santa Gertrudis ırkı dananın otopsisinde ince barsaklarda histolojik olarak villuslarda genel atrophie ve *Cryptosporidium* türlerinin çeşitli gelişme dönemleri gözlenmiştir (1). Sığır *Cryptosporidiosis*'ine ait ikinci olgu Meuten ve ark. tarafından 2 haftalık bir Holstein-Freisian buzağıda bildirilmiştir. Buna göre buzağıda 10 gün devam eden anoreksi, ağırlık kaybı ve ishal bulunmaktaydı. Oral yolla uygulanan Chloramphenicol ve neomycin tedavisine de cevap vermemişti. Yapılan otopside başlıca lezyonlara ileum ve colon mukozalarında rastlanmış, bu bölgelerin histolojik incelemelerinde *Cryptosporidium* türlerinin çeşitli gelişme safhaları gözlenmiştir. Histolojik olarak karakteristik bulguların, şiddetli olmayan bir Cryptitis ile karakterize enterocolitis, mucosa yüksekliğindeki düzensizlik ve azalma, villuslarda erime ve ileumun lamina propriasındaki aşırı plazma hücreleri, lenfositlerin, nadiren de nötrofil ve eozinofillerin infiltrasyonu olduğu bildirilmiştir (7). İnsanlarda *Cryptosporidium* türlerine ilk kez Nime ve ark. tarafından rastlanmış olup akut enterocolitis teşhisi ile hastaneye yatırılan 3 yaşındaki bir kız çocuğundan alınan rectalbiyopsi materyalinde etkenleri saptamışlardır. İnsanlardaki *Cryptosporidiosis* olayları önceleri intestinal biyopsiye dayanarak bildirilmiştir. Dışkı muayenelerinde bu etkenlerin varlığı ilk defa Tzipori ve ark. tarafından gösterilmiştir. Bu araştırmacılar Giemsa yöntemi ile boyanmış dışkı frotilerinde Oocystleri görmüşlerdir. Lasser ve ark. hypogammaglobinemia'lı 9 yaşındaki bir erkek çocukta sülfonamid tedavisine rağmen inatçı bir ishalin devam ettiğini ve 1 yıl süre ile jejunal biyopsilerde *Cryptosporidium* türlerinin gelişme dönemlerine rastladıklarını bildirmişlerdir. Mele ve ark. 42 yaşındaki AIDS'li bir erkek hastada *Cryptosporidium* türlerine solunum sisteminde rastladıklarını bildirerek, immunolojik bozukluk gösteren kişilerde etkenlerin vücudun değişik bölgelerinde lokalize olabileceğini dikkat çekmişlerdir (2).

1969 ile 1981 yılları arasında balıklar, sürüngenler kuşlar ve memelilerdeki diğer *Cryptosporidium* türleri, yerleştikleri konakçılara göre tasnif edilerek isimlendirilmiştir (6).

TABLO - I : HAYVANLARDA GÖRÜLEN CRYPTOSPORIDIUM TÜRLERİ

| TURLER | YAZARLAR | KONAKÇILAR |
|-----------------------|------------------------------|--|
| <i>C. muris</i> | Tyzzler, 1907 | <i>Mus musculus</i> (Evcil fare) |
| <i>C. parvum</i> | Tyzzler, 1912 | <i>Mus musculus</i> (Evcil fare) |
| <i>C. crotali</i> | Triffit, 1925 | <i>Crotalus confluens</i> (Yılan) |
| <i>C. vulpis</i> | Wetzel, 1938 | <i>Vulpes vulpes</i> (Avrupa tilkisi) |
| <i>C. meleagridis</i> | Slavin, 1955 | <i>Meleagris gallopavo</i> (Hindi) |
| <i>C. garnhami</i> | Anderson ve ark. 1968 | <i>Lampropeltis calligaster</i> (Kertenkele) |
| <i>C. ameivare</i> | Arcay de Peraza ve ark. 1969 | <i>Ameiva ameiva</i> (Kertenkele) |
| <i>C. wrairi</i> | Vetterling ve ark. 1971 | <i>Cavia porcellus</i> (Kobay) |
| <i>C. ctenosouris</i> | Duszynski, 1969 | Costa Rican lizard (Kertenkele) |
| <i>C. agni</i> | Barker ve Carbonell, 1974 | <i>Ovis aries</i> (Evcil koyun) |
| <i>C. anserinum</i> | Proctor ve Kemp, 1974 | <i>Anser anser</i> (Evcil kaz) |
| <i>C. bovis</i> | Barker ve Carbonell, 1974 | <i>Bos taurus</i> (Öküz) |
| <i>C. felis</i> | Iseki, 1979 | <i>Felis catis</i> (Evcil kedi) |
| <i>C. cuniculus</i> | Inman ve Takeuchi, 1979 | <i>Oryctolagus cuniculus</i> (Evcil tavşan) |
| <i>C. garnhami</i> | Bird, 1981 | <i>Homo sapiens</i> (İnsan) |
| <i>C. rhesi</i> | Levine, 1981 | <i>Macaca mulatta</i> (Rhesus maymunu) |
| <i>C. serpentis</i> | Levine, 1981 | Culubrid, crotalid ve boid yılanları |
| <i>C. tyzzeri</i> | Levine, 1981 | <i>Gallus gallus</i> (Evcil tavuk) |
| <i>C. nasorum</i> | Hoover ve ark. 1981 | <i>Naso literatus</i> (Balık) |
| <i>C. baileyi</i> | Current, Upton ve ark. 1986 | <i>Gallus gallus</i> (Evcil tavuk) |

TAXOMONY (SINIFLANDIRMA)

Cryptosporidium cinsindeki protozoonlar apical complex yapıyı teşkil eden polar halkalara, rhobtrilere, micronemlere, conoide ve subpellicular microtubullere sahip bulunmalarından dolayı Apicomplexa anacında bulunurlar. Olgun organizmalar vücut bükülmesi, kayma ve dalgalanma yoluyla hareket etmeleri nedeniyle Sporozoasida sınıfında yer alırlar. Biyolojilerinde merogony, gametogony ve sporogony dönemlerinin bulunması nedeniyle Coccidiasina alt sınıfında, Merogony dönemlerinin omurgalı konakçılarda şekillenmesinden dolayı da Ecocidiorida dizisinde bulunurlar. Erkek ve dişi gametlerin birbirinden bağımsız olarak gelişmelerinden dolayı da bu protozoonlar Eimeriorina alt dizisinde yer alırlar. Homoxene (monoxene) yani ara konakçısız olarak konakçı hücrelerinin yüzey membranının hemen altında gelişmeleri, Oocystlerinde sporocystlerin bulunmaması, 4 sporozoit içermesi ve microgametlerinin flagellasız olması nedeniyle de Cryptosporidiidae ailesinde bulunurlar (2,3,6). Bu protozoonların bulunduğu konakçılara göre 20 adet Cryptosporidium türü isimlendirilmiştir. Bu türler son zamanlarda Levine, Upton ve Current tarafından tekrar gözden geçirilmiş, bir çok Cryptosporidium türü geçersiz sayılmıştır zira özel tür olarak belirlenme için temel oluşturan oocystler son zamanlarda Sarcocystis'in spocyst safhası olarak tanımlanmıştır. Geçersiz sayılan bu türler *C. ameivae*, *C. stenosauris*, *C. lampropeltis*, *C. crotali* ve *C. vulpis*'i kapsar. Çapraz-nakil üzerinde yapılan son çalışmalar konakçı-özelliği kriterinin geçersiz hale gelmesine yol açmış ve böylece *C. agni*, *C. bovis*, *C.*

cuniculus ve *C.felis* türleri geçersiz hale gelmiştir. Levine her omurgalı sınıfı için 1 adet olmak üzere geçerli 4 türün bulunduğu sonucuna varmıştır. Upton ve Current'e göre memelileri enfekte eden geçerli 2 tür vardır, bunlar da *C. muris* ve *C. parvum*'dur. Kanatlı hayvanları enfekte eden geçerli 2 tür de *C. meleagridis* ve *C. baileyi* olduğu düşünülmektedir. Balıkları, sürüngenleri, kanatlıları ve memelileri enfekte eden kaçtane ve hangi türlerin bulunduğu ile ilgili aydınlatıcı dökümantasyon çalışmalarına ihtiyaç olduğu açıkça görülmektedir (6).

KONAKÇI ÖZGÜLLÜĞÜ (SPESİFİTESİ)

Önceleri *Cryptosporidium* cinsinin konakçılara özel olduğu düşünülmekteydi. Bununla birlikte, Cross transmission (çapraz-nakil) üzerindeki çalışmalar *Cryptosporidium* türlerinin memelilerdeki izolatlarının genel olarak diğer memeliler için, kanatlılardaki izolatlarının diğer kanatlılar için enfektif olduğunu göstermiştir. Memelilerden izole edilen türlerin kanatlılara nakli üzerindeki çalışmalar gerçekleştirilmişse de iyi dökümantasyon edilmiştir. Kanatlılardan izole edilen türlerin memelilere nakli çalışmaları ise başarılı olmamıştır. Diğer omurgalı sınıfları arasında nakil henüz bildirilmemiştir. Bazı çapraz nakil (cross-transmission) çalışmalarında *Cryptosporidium* spp. nin bir konakçıdan diğerine naklindeki imkansızlık Lindsay, Blagburn ve Sunderman tarafından işaret edilmiş, fakat alıcı konakçının yaşı ve immunolojik durumu kadar, konakçının yaşı ve Oocystlerin vaziyeti dahil olmak üzere nakildeki başarı veya başarısızlığı etkileyen faktörler hakkındaki veriler iyi dökümantasyon edilmiştir (6).

MORFOLOJİ

Coccidia'lar arasında, *Cryptosporidium* cinsine bağlı türler en küçük Oocystlere sahiptirler. Bu Oocystler yuvarlakdan ovale kadar değişen şekilde olup tamamen sporlanmış 50 adet Oocystin ortalama büyüklüğü *C. muris* için $7.4 \times 5.6 \mu\text{m}$ ve *C. parvum* için $5.0 \times 4.5 \mu\text{m}$ dir. Sporlanmış Oocystlerden her biri 4 sporozoit ve çok sayıda küçük granüllerden ibaret bir kalıntı ile yuvarlağımsı ya da ovoid, membran ile sınırlı bir globül içerir. Çoğu yazarlar, oocyst içinde sporocyst duvarının bulunmadığını bildirmektedirler. Coccidi oocystlerinde gözlenen micropyle ve polar granüller gibi diğer morfolojik özellikler *Cryptosporidium* spp. Oocystlerinde bulunmamıştır. Oocyst duvarı düz ve renksiz olup ortalama 50nm kalınlıktadır. İnce bir elektron parlak aralık ile birbirinden ayrılmış 2 elektron yoğun tabakadan müteşekkildir. Işık mikroskopunda bazen Oocystin bir kutbunda kısmen duvarın etrafına uzayan soluk bir çizgi görülür; elektron mikroskopu ile yapılan incelemelerde bunun excystation (Oocyst duvarının açılması) boyunca eriyen bir dikiş olduğu anlaşılmıştır (6).

Sporozoitler genellikle yarım ay şeklinde olup anterior ucu hafif sivri ve posterior ucu yuvarlaktır. Oocyst içinde anterior ucu dikişle birlikte Oocyst kutbuna bitişik halde ve Oocyst duvarının karşısında biri diğerine paralel ola-

rak bulunurlar. *C. muris*'in sporozoitleri ortalama $11.1 \times 1.0 \mu\text{m}$, *C. parvum*'un Oocystleri ise ortalama $4.9 \times 12 \mu\text{m}$ büyüklüktedir. Her sporozoit vücudun posterior 1/3 ünde belirgin bir çekirdek içerir.

Trophozoitler yuvarlak veya oval intracellular formlar olup $2.0-2.5 \mu\text{m}$ çaptadırlar. Sporozoitlerin ve merozoitlerin merontlara geçiş safhaları formlarıdır. Trophozoitler ve bunu izleyen gelişme safhaları, bir konakçı hücre membranı tarafından çevrelenen bir parasitophorous vacuole içinde bulunurlar trophozoitler buna ilaveten geniş bir nukleolus içeren $10-1.3 \mu\text{m}$ çapındaki geniş bir nucleusla ve sporozoitlerle merozoitleri tanımlayan apical complex yapılarının olmaması ile karakterize edilir.

Cryptosporidium türleri içinde nucleus çoğaldıkça, tek bir çekirdekli trophozoit safhasından, çok çekirdekli meront (schizont) safhasına geçer. Bunu takiben yaklaşık $4-5 \mu\text{m}$ çapında, fiziksel olarak farklı 2 tip meront gelişimi görülür. Tip I merontlar birinci eşeysiz nesil olarak tip I merontu terkeden ve yeni konakçı hücresine giren trophozoitlerden veya merozoitlerden gelişirler. Tip I merontlardan "Bağlama bölgesi" yada "Besleyici organel" olarak belirtilen özel bir bölgeden tomurcuklanan 6 - 8 merozoit gelişir, bu özel bölgede konakçı hücresi ile karşılaşır. Tip II merontlar tip I merozoitlerden gelişirler, 4 adet merozoit oluştururlar aksi taktirde tip I merontlara benzer görünüştedirler (6).

Tip I ve II merozoitler morfolojik olarak birbirlerinin aynısı görünüştedirler. Yarım ay şeklinde, anterior ve posteor uçları yuvarlak ve yaklaşık olarak $5 \times 1 \mu$ büyüklükte dirler. Tek bir veziküler çekirdek, endoplazmik retikulum ve henüz ne olduğu belirlenememiş çeşitli granüller içerirler. Diğer birçok coccidi merozoitleri gibi anterior uçta conoid, polar halka, rhotiler ve micronem'ler gibi organeller bulunur, fakat ışığı kıran cisimcikler, mitochondria, microporlar veya polisakkarit granülleri bulunmaz (6).

Microgamontlar nadir olarak bulunmakta, belirgin şekilde kısa ömürlü erkek safhadır. Ultrastrüktürel olarak gözleendiği üzere, erken bir safhada microgamont nucleusa ait birçok yoğun kısımları, ribozomları, endoplazmik retikulum ve membranla sınırlı vacuollerini içerir. Yoğunlaşmış veya koyu haldeki yuvarlağımsı çekirdekler sadece granüler sitoplazmik kütleinin periferinde bulunup, yapışma bölgesinde bulunmazlar. Microgametlerin çekirdekleri gelişimin sonunda, microgametocyte sitoplazmasından çıkarak parasitophorous vacuole içine girerler. Bir microgametocyte'den 14 - 16 adet kamçısız microgamet gelişir, bunlar $4-5 \mu\text{m}$ çaptadırlar. Olgun *Cryptosporidium* microgametleri kama şeklinde, apical kutbu şişkin ve apical kutbun iç membranını örten 2 katlı bir dış membranların altında paralel olarak uzanan microtubullerden ibaret bir polar halka vardır. Uzunlamasına şekildeki vücudun çoğunu kesif bir çekirdek doldurur ve vücudun ortasında büyük bir mitochondrion çekirdeğe bitişik halde bulunur (6).

Macrogamontun (dişi safha) çok geniş formları trophozoitlerden zor ayırđedilir. Macrogamontlar hemen hemen yuvarlak şekilde olup, tek bir büyük çekirdek ve endoplazmik retikulum içerirler ve pellicül adı verilen çift katlı bir membran ile çevrelenmişlerdir. Macrogamont sitoplazmasının altında besleyici bir organel bulunur. Yaşlı macrogamontlar $3.2-5 \mu\text{m}$ çaptadır ve

birçok granüllere sahip olmaları ile kolayca ayırdedilebilirler. Polisakkarit granülleri eimeria türlerindekiyelerine benzer, yoğun granüller ise Scholtyseck tarafından bildirildiği üzere "wall forming body tip I" adı verilen formlara benzer. Bu oluşumlar macrogametlerde bulunan ve Oocyst duvarının yapısına katılan lipoprotein yapısındaki plastidlerdir. Ayrıca macrogametlerde amilopectin granülleri ve geniş bir lipid granülü bulunmaktadır. Yukarıda sözü edilen polisakkarit granülleri ve "wall forming body tip I" macrogamont olgunlaştıkça toplanarak yığın haline geçerler (6).

BİYOLOJİLERİ

Buzağı ve insan izolatlarının farelerde, tavuk embriolarında ve hücre kültürlerinde geliştirilmesi üzerindeki çalışmalar diğer hakiki Coccidialar (Eimeria alt dizisi) gibi Cryptosporidium türlerinin biyolojilerinin,

- a) Excystation (Enfektif sporozoitlerin serbest kalması)
- b) Merogony (Asexuel (eşeysiz) çoğalma)
- c) Gametogony (Gametlerin şekillenmesi)
- d) Döllenme
- e) Oocyst duvarının oluşumu

f) Sporogony (Sporozoitlerin oluşması) olmak üzere 6 önemli gelişme safhasına ayrılabilceğini meydana çıkarmıştır (3). Cryptosporidiumların insan ve buzağı izolatlarının biyolojileri Eimeria spp. ve Isospora spp. gibi insan ve evcil hayvanları enfekte eden diğer monoxen Coccidia'ların biyolojilerinden çeşitli hususlar bakımından farklılık gösterir. Cryptosporidium türlerinin hücre içi safhaları, konakçı hücrelerinin microvillussal bölgesi ile sınırlandırılmış bir parasitiphorous vacuole içinde bulunurlar, buna karşılık eimeria spp. ve Isospora spp'nin mukabil formları, genellikle konakçı hücreleri içinde derin olarak (Perinuclear olarak) bir parasitiphorous vacuole'de yer alırlar. Cryptosporidium Oocystleri konakçı hücreleri içinde sporlanır ve dışkıya geçtiklerinde enfektif olurlar. Buna karşın Eimeria ve Isospora türlerinin Oocystleri konakçıdan dışkıya geçmelerine ve oksijen ile 37°C'nin üzerindeki ısıya maruz kalmalarına dek sporlanmazlar. Konakçı enterocytleri (barsak epitel hücreleri) içindeki Cryptosporidium Oocystlerinin yaklaşık olarak %20'si çevresel koşullara dirençli olan ve 2 katlı Oocyst duvarı oluşturmaz ve bunların Sporozoitleri tek bir ünit membran ile çevrelenmiştir. Konakçı hücrelerini terketmelerinden hemen sonra, 4 adet sporozoiti çevreleyen bu unit membran kopar ve hastalık oluşturma yeteneğinde olan bu formlar yeni konakçı hücrelerinin içine girerler ve gelişme siklusunu yeniden başlatırlar. Eimeria ve Isospora türlerine benzer şekilde Cryptosporidium Oocystleri'nin büyük çoğunluğunda (yaklaşık olarak %80'inde) çevre koşullarına dirençli olan çok katlı katdan meydana gelmiş kalın bir duvar gelişir ve dışkıya geçerler. Bu kalın duvarlı yapı Cryptosporidium enfeksiyonunu duyarlı bir konaçya bulaştırır. Otoenfektif Oocystlerin ve tip I merontların varlığı (ki bunlar tekrar devir yapabilirler) oral yolla alınan az sayıdaki Oocystlerin neden şiddetli bir enfeksiyon oluşturduğunu ve immunolojik yetersizlik bulunan kişilerde çevresel koşullara dirençli, kalın duvarlı Oocystlere tekrar maruz kalmanın olmadığı durumlarda neden inatçı ve

hayatı tehdit eden enfeksiyonların şekillenebileceğini açıklayabilir (3).

Sporlanmış Oocystler enfekte konakçının dışkı ile atılarak etrafa yayılırlar. Çevrenin, gıdaların veya suların bulaşmasından dolayı Oocystler diğer uygun konakçılar tarafından oral yolla alınır. Bu gibi konakçıların gastrointestinal veya solunum yollarında, sporozoitler Oocystlerden çıkarak epitel hücrelerinde yerleşirler. Bu sporozoitler ve müteakip gelişme safhaları epitel-yumun hemen yüzeyinde bulunurlar. Bu organizmalar çoğu kez bir hücreye yüzeysel olarak bağlanmış görümlerine rağmen, tüm safhalar extracytoplasmic, konakçı hücre membranı tarafından çevrelenmiş, intracelluler olarak bulunurlar. Sporozoitler daha sonra tek bir belirgin çekirdekli küre şeklinde trophozoitlere farklılaşırlar. Çekirdek bölünmesi sonucu asexual (eşeysiz) çoğalma (merogony veya schizogony) oluşur. Bunu plazmanın dışarı doğru tomurcuklanması yani ectomerogony izler. Eşeysiz olarak 2 tip meront (schizont) gelişir. Tip I merontlar, meront olgunlaştığında 6-8 adet merozoit haline dönüşen 6-8 adet çekirdek içerir. Her merozoit içeren diğer bir tip I meront veya bir tip II merontlara dönüşür. Tip II merontlardan şekillenen merozoitler yeni konakçı hücrelerine girerek buralarda ya erkek (microgametocyte) veya dişi (macrogamontlar) safhalara farklılaşarak eşeyli üremeyi yani gamogony'yi başlatırlar. Olgunlaştıklarında microgametocyte macrogamontları döleyecek olan sperm benzeri microgametocyte içerirler. Döllenmiş macrogamont Oocystlere doğru gelişirler, tabii vaziyette sporlanırlar. Sporogony tamamlandığında potansiyel olarak enfektif 4 adet sporozoit içerirler. Bazı Oocystler vücuttan dışkı yoluyla veya solunum salgıları yoluyla atılırlar, buna karşın diğer bir kısım Oocystlerden merogony, gamogony ve sprogony siklusunu tekrarlayabilen sporozoitler serbest kalırlar. Bazı araştırmacılar Oocystler arası morfolojik farklılıkları inceleyerek kalın duvarlı Oocystleri enfeksiyonu diğer duyarlı konakçılara naklettiklerini ve içlerindeki sporozoitlerinin serbest kaldığı ince duvarlı Oocystleri enfeksiyonu diğer duyarlı konakçılara naklettiklerini ve içlerindeki sporozoitlerinin serbest kaldığı ince duvarlı Oocystlerin de otoenfeksiyonu başlattıklarını bildirmişlerdir.

Besnoitia, Eimeria, Hammondia, Isospora ve Toxoplasma dahil olmak üzere Coccidia cinslerinin çoğu sporogony dönemlerini vücut dışında geçirirler. Frenkelia ve Sarcocystis gibi diğer cinsler endogen olarak sporlanırlar fakat konakçıda otoenfeksiyon oluşturmazlar. Caryospora ise endogen olarak sporlanan ve otoenfeksiyonu başlatan Cryptosporidium'dan başka tek cinstir.

Cryptosporidiosis'de prepatent süre (Oocystlerin alınmasından oocystlerin atılmasına kadar geçen süre) sığırdaki 2-7 gün, kedide 5-15 gün, köpekte 2-14 gün, domuzda 3-6 gün, kuzuda 2-5 gün, kanatlılarda 3-5 gün, insanlarda 5-20 gün arasındadır. Patent süre (oocyst atılımının başlangıcından bitimine kadar olan süre) sığırdaki 12 gün, köpekte 33 gün, domuzda 15 gün, kanatlılarda 25 gün, insanlarda 30 gündür.

EPİZOOTİYOLOJİ

Hayvanlardaki deneysel enfeksiyon çalışmaları, Cryptosporidium'ların dışkıya geçtiğinde tamamen sporlanmış ve enfektif hale gelmiş Oocystler ile

nakledildiğini göstermiştir. Bu kalın-duvarlı Oocystler; hastane ve laboratuvarlarda kullanılan dezenfektanların çoğuna karşı dirençli olup, serin ve nemli ortamlarda tutulduklarında aylarca canlılıklarını muhafaza ederler. Oocystlerin enfektivitelerinin amonyak, formalin, liyofilizasyon işlemi ile 0°C altında 65°C üzerindeki ısılarda 30 dakika tutulmakla tahrib olduğu bildirilmiştir (3).

Yapılan çalışmalar buzağuların ve refakat hayvanlarının, insanlardaki enfeksiyonlar için potansiyel bir kaynak oluşturduğunu ortaya koymuştur. Bu durum buzağı, kuzu, keçi, yavru kedi ve köpek, rakun ve kemirgenler gibi potansiyel rezervuar durumundaki konakçılarla birlikte yaşayan kimseler için geçerli olmasına karşın, kırsal toplumlardaki bireylerin çoğu için pek geçerli olmamaktadır (3). Cryptosporidiosis'in insandan insana bulaşması oldukça yaygın olabilmektedir. Bir araştırmacıda görülen rastlansal enfeksiyon, Cryptosporidium'un insan izolatının bir insandan diğerine kolaylıkla nakledilebilirliğini göstermiştir.

Veteriner hekimler; özellikle zoonozlar olmak üzere enfeksiyöz hastalıkların bulaşması ile ilgili risk faktörleri hakkında toplumun eğitilmesinde rol almaktadır. Toplum sağlığı ile ilgili olan bu rol, Cryptosporidiosisi de içerecek şekilde genişletilmeli ve insanlardaki enfeksiyonlar için potansiyel rezervuar durumundaki çok sayıda hayvan türü bulunması nedeniyle uygulamaya önemi gereğince yaklaşım gösterilmelidir (3).

ÇEŞİTLİ KONAKÇI TÜRLERİNDEKİ ENFEKSİYONLAR

Balık ve Yılanlarındaki Enfeksiyon : Soğuk kanlı omurgalıları enfekte eden 6 adet Cryptosporidium türü isimlendirilmiştir. Bunlardan *C. amei-vae*, *C. lampropelti*, *C. stenosauris* ve *C. crotali*, şimdilerde *sarcocystis* spp. sporozoitleri olarak tanınmaktadırlar (6). Geriye kalan 2 türden birisi olan *C. nasorum* balıklar için isimlendirilen tek türdür. *C. serpentis* ise yılanlarda bulunan geçerli tek tür olmaktadır (6). Cryptosporidium sp., Illinois'de temin edilen bir evde karışık türlerle birlikte akvaryumda tutulan bir tropik deniz balığı ile bir nasoro yosunu olan *Naso lituratus*'da bildirilmiştir. Cryptosporidium sp. balığın intestinal epitelyumunda histolojik tespit edilmişti ve balık rengini muhafaza etmiş fakat çok zayıflamıştır. Cryptosporidium sp. Güney Bohemia'da 35 sazan balığının 5'inde tespit edilmişti (6). 3 soy ve 5 türe ait yaklaşık 15 adet yılanın Cryptosporidium spp. ile enfekte olduğu bildirilmiştir. Bu yılanlar arasında siyah rat yılanı, mısır yılanı, madagaskar boa yılanı ve kereste çingiraklı yılanı bulunmaktaydı. Bunların enfeksiyonu aldığı doğal kaynaklar bilinmemekteydi (6).

Kanatlılarda Enfeksiyon : Cryptosporidium türleri; Asya, Avrupa, Avustralya ve Kuzey Amerika'daki kanatlı türlerinde bulunmuştur. Tavuk, hindi, tavuskuşu, sülün, kara boyunlu ispinoz gibi kanatlı türlerindeki doğal enfeksiyonlardaki mortalite ve morbidite ortaya konmuştur (6). Semptomların görülmediği doğal enfeksiyonlar kırmızı gagalı papağanlar, tavuklar ve evcil bir kazda histolojik olarak teşhis edilmiştir. İskoçya'da 25 adet tavuk kan serumunun 22'si Cryptosporidium spp. ye karşı antikor içermiştir (6). Deneysel olarak tavuktan tavuğa Oocystler vasıtasıyla enfeksiyonlar meydana getiril-

miştir. Lindsay ve ark. memelilerden izofe edilen Oocystlerle tavukları enfekte etmişlerdir. Tavuklardan izole edilen Oocystler ile 7 memeli türünü enfekte etme çalışmalarının başarısızlıkla sonuçlanması, Cryptosporidium Sp.nin avian izolatlarının insanlar için zoonotik bir tehlike teşkil etmediğini kuvvetle ortaya koymuştur (6).

Kanatlılardaki Cryptosporidiosis enfeksiyonlarında, etkenlerin en sık olarak görülebildiği yerler barsak ve solunum yollarıdır. Tavuklarda deneysel enfeksiyonlarda bursa fabricius'daki Oocystlerin cloaca, bursa fabricius, terminal colon, caecum, trachea, bronşlar, hava keseleri, tükrük bezi ve kanalını enfekte ettiği bulunmuştur. Klinik bulgular, değişkendir. İshalli bıldırcın ve hindi-lerde ince barsak enfektedir. Klinik bulguların bulunmadığı tavuklarda bursa fabricius ve coecum enfektedir. Mide-barsak sisteminin etkilendiği enfeksiyonlarda kaçınılmaz tür C. meleagridistir. Daha virulent bir tür olan C. baileyi kanatlıların solunum sistemi enfeksiyonlarında birlikte bulunan türdür. Depresyon, hırıltılı solunum, solunum güçlüğü, öksürük, aksırık, oculonasal akıntıları, infraorbital sinusların bilateral şişkinliği ve gözkapaklarının köpüklü renk alması tavuklarda, tavuskuşu, bıldırcın, hindi ve sülünlerindeki solunum sistemi ve gözlerdeki enfeksiyonlarda bulunan bulgulardır (6). Bu gibi enfeksiyonlarda mortalite morbiditeden daha azdır. Postmortem bulgu olarak kanatlılardaki Cryptosporidiosis olgularında burun deliklerinde, infraorbital sinuslarda ve tracheada aşırı mucus varlığı, sinuslarda şişkinlik ve büyüme, hava keselerinin matlaşması, akciğerlerde gri beneklerin bulunması, ventral oral mucosanın nekrozu gibi bulgular gözlenir (6).

San Diego Hayvanat bahçesinde ölü halde bulunan 4 aylık bir karaboyunlu ispinozun böbreklerinde Cryptosporidium sp. gözlenmiştir. Böbrekler tamamen büyümüş, solgun halde olup histolojik kesitinde sağlam ve dökülen tubular epitel hücrelerinde çok sayıda Cryptosporidiumun yapışık halde bulunduğu gözlenmiştir (6).

Küçük Memelilerdeki Enfeksiyon

Farelerde : Farelerde 2 Cryptosporidium türü isimlendirilmişti. Bunlar sadece midede bulunan C. muris ve yalnızca ince barsaklarda bulunan C. parvum'dur. Daha sonraları C. parvum farelerin caecum ve colonunda bulunmuştur (4,6,11). Bu etkenlerin, buzağılardan izole edilen C. parvum ile deneysel olarak enfekte edilen farelerin karaciğer, akciğer ve kalbinde bulunduğu dair rapor bildirilmiştir (6). Buzağı yetiştiriciliği yapılan işletmelerde yakalanan 115 adet vahşi farenin %30'u Cryptosporidium sp. ile enfekte idi ve bu farelerce çıkarılan Oocystler 7 buzağı için enfektif idi. Bu durum buzağı fare-buzağı siklusunun tabiatıta şekillenebileceği düşüncesini ileri sürmüştür (4,6).

Tavşanlarda : Sağlıklı olduğu tahmin edilen ergin tavşanlar Cryptosporidium sp. ile doğal enfeksiyonlara yakalanır ve etkenler jejunum ile ileum'da bulunur. Sığırlar tarafından çıkarılan Oocystler tavşanlara inokule edildiğinde, enfeksiyona yakalanırlar, fakat kobaylarca çıkarılan Oocystler inokule edildiğinde enfeksiyon şekillenmez (6). Tavşanlarca çıkarılan Oocystlerin insanlardaki enfeksiyon için bir kaynak teşkil ettiği ileri sürülmektedir.

Kobaylarda : Kobayların Cryptosporidium sp. ile doğal olarak enfekte

olduğu bulunmuştur. Enfeksiyonda klinik bulgular yoktur, fakat mikroskobik değişiklikler kronik bir enteritisin oluşabildiğini göstermektedir (6).

Ratlarda : Yeni doğmuş ratlar da yeni doğmuş fareler gibi Cryptosporidiosis'e duyarlıdır. Ratlar; sığır, insan, fare ve koyunlarca çıkarılan Oocystler ile enfekte olabildikleri halde tavuklarca çıkarılan Oocystler ratları enfekte etmez (6).

Kedilerde : Fayer ve Dubey Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'da doğal olarak enfekte olmuş 10 adet evcil kedinin dışkılarında Cryptosporidium sp. bulmuşlardır. İskoçya'da serumları incelenen 23 kediden 20'sinin Cryptosporidium sp. ye karşı antikor taşıdığı gözlenmiştir. Buzağı veya kedilerce çıkarılan Oocystler ile deneysel olarak enfekte edilen kedilerde prepatent period 2-11 gün, patent period ise 2-25 gün arasında bulunmuştur (6).

Köpeklerde : B. Almanya'da muayene edilen 200 evcil köpeğin ve Finlandiya'da muayene edilen 57 köpeğin dışkılarında hiçbir Cryptosporidium sp. Oocysti bulunamamıştır. Buna karşın Kuzey Amerika'da doğal olarak enfekte 4 yavru köpeğin dışkısında Oocystlar saptanmıştır. İskoçya'da yürütülmüş olan serolojik bir çalışmada 20 köpeğe ait serum örneklerinde 16 tanesinin Cryptosporidium sp. ye karşı antikor içerdiği bildirilmiştir (6).

Atlarda : Fransa'da klinik hiçbir belirti göstermeyen 23 tayın dışkı muayenesi ve histolojik bakı esasına dayanan muayenesinde hiçbirinde Oocyst görülmemiştir. Kanada'da ishali 2 tayın 2'sinin gaitasında Oocystler görülmüştür. İskoçya'da 22 at serumunun 20'sinde Cryptosporidium sp'ye karşı antikorlar gözlenmiştir (6).

Domuzlarda : Domuzlar, sığır , koyun ve fareler tarafından dışarı çıkarılan Oocystler ile enfekte olabildikleri gibi diğer domuzlarca çıkarılan Oocystlerle de enfekte olurlar (6,13). Bu hayvanlardaki enfeksiyonlarda yaşın oldukça fazla önemi vardır. Saf cryptosporidium Oocystlerinin inokulasyonu ile yapılan bir deneysel çalışmada 1-3 günlük domuz yavrularında şiddetli şekilde etkilenirken, 7 günlük havyanlarda orta şiddette bir enfeksiyon şekillenir (6).

Cryptosporidiosis ile ilgili hastalık belirtilerinin domuzlarda pek yaygın olmamasına rağmen, deneysel enfeksiyonlarda subklinikde şiddetli enfeksiyona kadar değişen klinik belirtiler görülür (13). Histopatolojik değişiklikler incebarsağın arka kısmında en fazlasıyla gözlenebilir. Aşırı mucosa harabiyeti kısa, erimiş ve köprü şeklini almış villilerin bulunuşu ile karakterizedir (13).

Koyunlarda : Avustralya'da, İskoçya'da, Batı Almanya'da ve Belçika'da Cryptosporidium doğal olarak enfekte olmuş koyunlarda yüksek morbidite ve mortalite ile seyrettiği bildirilmiştir. İskoçya'da Cryptosporidium sp. nin 1981 yılında doğan 1064 kuzunun %40'ını etkileyen ishali en önemli etkeni olarak bildirilmiştir (6). Yeni doğmuş kuzular doğal enfeksiyonlara en duyarlı olanlardır (6,13,15). Deneysel çalışmalar yaşlı kuzuların da enfeksiyona duyarlı olduğunu göstermiştir. Koyunlardaki Cryptosporidiosis olgularında 2-12 gün devam eden ishal en belirgin semptom olup bazen iştahsızlık, gelişmede zayıflık, hyperpnea depresyon, bacak kaslarında fasikülasyonlar da ishale eşlik edebilir (6). Vakaların çoğu dışkıda Oocystlerin görülmesi ile teşhis edilir. Otopside kan ve mucoid içerikli sarımsı sulu dışkı ile dolu olan

colon ile ince ve kalın barsaklarda orta şiddette hiperemi gözlenir (6,13).

Keçilerde : Doğal olarak Cryptosporidiosis enfeksiyonuna yakalanmış keçiler Avustralya, Belçika ve Tanzanya'da bildirilmiştir. Histolojik olarak ishalden ölmüş 2 haftalık bir Ankara keçisinde ve fasılalı ishalden muzdarip 10 başlık 6 aylık bir sürüde tespit edilmiştir. Yetersiz sağlık koşullarının bulunuşu suni tohumlama yoluyla doğmuş bir oğlağdaki çok sayıdaki Oocystlerin bulunmasında önemli bir rol oynamıştır (6). Özkul ve ark. (11) 1987-1988 yılları arasında Ankara ve Denizli yöresinde yeni doğmuş oğlaklar üzerinde yaptıkları çalışmada ishalle seyreden ve yüksek oranda ölümle seyreden hastalıktan ölen 2-7 günlük 11 oğlağın incelemelerinde Cryptosporidium sp. 'nin çeşitli gelişme şekillerini, barsak kazıntısı ve gaitanın muayenesinde ise etkenin Oocystlerini görmüşlerdir. Histopatolojik yönden yaptıkları incelemelerinde Cryptosporidium sp.'nin çeşitli gelişme şekillerini, barsak kazıntısı ve gaitanın muayenesinde ise etkenin Oocystlerini görmüşlerdir. Histopatolojik incelemede ise villuslarda atrophie, füzyon ile villus epitellerinde dejenerasyon ve propria mucosada ödem gibi patolojik bulgular gözlenmiştir. Bu araştırma ile oğlakların neonatal enteristislerin Cryptosporidium sp.nin de rol oynadığı gerçeği ortaya çıkarılmıştır.

Sığırlarda : Bireysel enfeksiyonlar, sürü salgınları ve sığırlar üzerinde yapılan bölgesel tetkikler sığır Cryptosporidiosisinin dünyanın her bölgesinde yaygın olduğunu göstermiştir. Cryptosporidiumların sığırlardaki prevalansı değişkendir. Zeybek ve ark. (19) Nisan 1989-Ağustos1989 ayları arasında Ankara iline bağlı 7 ilçe ile Bala ve Polatlı Tarım İşletmelerindeki sığırlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada 280 buzağıya ait gaitaların protozoolojik yönden yaptıkları incelenmesinde %20.3 ünde Cryptosporidium sp. Oocystlerini tesbit etmişlerdir. Bu gaitaların 12 tanesi ishali, 7 tanesi ise normal kıvamlı idi, Meuten ve ark. (9) 2 haftalık bir holtein-freisian buzağının otopsisinde en belirgin lezyonları ileum ve colon'da gözlemişlerdir. İleumun lamina propriasında çok fazla plazma hücreleri ve lenfositlerden ibaret infiltrasyon tespit edilmiştir (8,9). Sabieh ve ark. (14) California eyaleti San Bernardino'daki ishali ve ishalsiz buzağılarda Cryptosporidiumların prevalansının saptanması amacıyla yürüttükleri bir çalışmada 500 dışkı numunesi toplamışlardır. Dışkılarının toplanmasında 2 yöntem uygulamışlardır. İlk yöntem rectal swap-kullanılarak toplama olup 1-20 günlük 80 buzağıdan gaita bu yolla toplanmıştır. İkinci yöntem ise buzağı pensi kullanılarak toplama şekli idi. Toplanan dışkılarının yapılan muayenesi soucu incelenen tüm alandaki buzağı popülasyonunun % 5-6 sında Oocystler gözlenmiştir (14). Tzipori ve ark. (16) S.P.F halde plastik izolatorlerde veya S.P.F. izolasyon ünitelerinde beslenen ve doğumdan 36 saat sonra analarından Colostrum emen 18 buzağı üzerinde yaptıkları deneysel cryptosporidiosis çalışmasında klinik bulguları ve patolojik değişiklikleri gözlemişlerdir. Bu çalışma 2 kısım halinde yürütülmüştür. Birinci kısımda 11 adet buzağı diğer mikroorganizmaları da içeren Cryptosporidium preparasyonları ile beslenmiştir. İkinci kısımda 11 adet buzağıya bakterilerden air cryptosporidium Oocystler verilmiştir. Tüm buzağular inokulasyon öncesi sağlıklıydılar. Oral inokulasyondan sonra her buzağı klinik hastalık belirtileri bakımından gözlenmiş, süt alım miktarları kaydedilmiş ve mikrobiyolojik

muayene için günlük dışkı swap yardımı ile toplanmıştır. Klinik hastalık depresyon ve anorexia, dışkının renginin turuncudan beyazımsı griye dönüşmesi, dışkılama sıklığındaki artış ve dışkıdaki sıvı içeriğindeki artış temeline göre değerlendirilmiştir (16). Bakteri içeren ve içermeyen Cryptosporidium Oocystleri ile inokule edilen buzağılardaki klinik bulgular arasında belirgin hiçbir fark görülmemiştir. Colostrum alan buzağılarda inkubasyon süresi S.P.F. buzağılar oranla biraz daha uzun olmuştur, fakat direkt temas ile enfekte olanlarda ise inkubasyon süresi en uzun olarak gözlenmiştir. Gözlenen ilk ve en değişmez klinik bulgular depresyon ve anorexia olmuştur (16).

Türkiye'de sığırlarda Cryptosporidium'ların bulunuşu ile ilk çalışma 1984 yılında Burgu ve ark. tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmacılar Karacabey harasındaki 1-28 günlük 56 buzağıdan alınan dışkıların (5'i normal, 51'i sulu kıvamda) % 26.7sinde cryptosporidium oocystlerine rastlamışlardır. Bu dışkıların muayenesinde Carbol-fuchsin ve ZnCl₂+NaCl santrifuj flotasyon yöntemleri uygulanmıştır. (özellikle 14-28 günlük buzağılarda)

İnsanlardaki enfeksiyon : İnsanlardaki Cryptosporidiosis enfeksiyonu gelişmiş ve gelişmemiş ülkeler, kentsel ve kırsal alanlarda olmak üzere 6 kıtada bildirilmiştir (6). İnsanlardaki Cryptosporidiumlara ilk kez Nime ve ark. tarafından rastlanılmış olup akut enterocolitis teşhisi ile hastaneye yatırılan 3 yaşındaki bir kız çocuğundan alınan rectal biyopsi materyalinde etkenleri saptamışlardır (2). İnsanlardaki Cryptosporidiosis olguları önceleri intestinal biyopsilere dayanılarak bildirilmiştir. Dışkı yoklamalarında Cryptosporidiumların varlığı ilk defa Tzipori tarafından gösterilmiştir (2,15). İnsanlardaki Cryptosporidiosis olgularının bir kısmının doğuştan veya sonradan immüno-lojik yetersizlik gösteren kişilerden bildirildiği dikkat çekicidir (2). Değişik ülkelerde AIDS'li hastalarda cryptosporidiosis'e rastlandığı bildirilmiştir (2,6,15,17) Mele ve ark. 42 yaşındaki AIDS'li erkek eşcinsel bir hastada etkenlere solunum sisteminde rastlamışlar ve immüno-lojik yetmezlik ve bozukluk gösteren bireylerde etkenlerin vücudun değişik bölgelerinde de lokalize olabileceklerini bildirmişlerdir (2,17). Cryptosporidiosis'in insanlardaki prevalansı kısmi olarak bilinmemektedir. Bunun nedeni olarak da Cryptosporidium'ların insanlarda oluşturduğu enfeksiyonlar üzerinde yeterince araştırılmamış olması söylenebilir (2).

TEŞHİS : Hayvanlardaki ve insanlardaki Cryptosporidiosisin teşhisi için öncelikle postmortem muayene sırasında veya biopsi ile elde edilen intestinal mucosa'nın histolojik veya elektron mikroskopik preparatlarında Cryptosporidium'un gelişme safhalarının identifiye edilmesi gerekir (3). Bununla birlikte, dışkıdaki Oocystlerin belirlenmesi için geliştirilmesi ile bu gibi zaman alan veya tehlikeli işlemlere artık pek gereksinim kalmamıştır. Dışkı örneklerindeki Cryptosporidium Oocystlerinin aranmasında yaygın olarak kullanılan teknikler arasında Sheater şekerlisuda floatation, modifiye çabuk asit boyama ve negatif boyama (Carbol-fuchsin ile boyama) gibi yöntemler bulunur (3). İnsan ve hayvan dışkılarında Cryptosporidium Oocystlerinin aranmasında Heine'nin Carbol-fuchsin ile boyama metodu emin bir teknik olarak belirtilmektedir (2,19). Bu metodun uygulanmasında eter-alkol karışımında temizlenerek yağı gide-

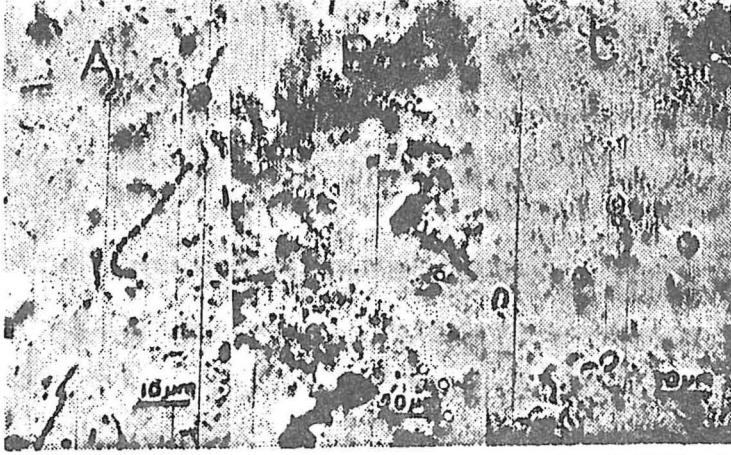
rilmiş lam üzerine bir baget ile 1 damla dışkı süspansiyonundan konularak 1 damla Carbol-fuchsin (Merck 9215) boyasından alınarak dışkı süspansiyonu damlası yanına konarak bir lâmelin köşesi ile karıştırılarak ince bir dışkı frotisi hazırlanır. Hazırlanan froti 1-2 dakika havada kurutulur. Daha sonra üzerine 1 damla immersiyon yağı damlatılır, üzerine lamel kapatılarak 40x10 büyütmede incelenir. Dışkıda Oocystlerin aranmasında kullanılan diğer bir metod da $ZnCl_2+NaCl$ santrifüj flotasyon tekniğidir. Bu teknik Heine ve Boch'un bildirdikleri tekniğin modifiye edilmesi ile uygulanır. Bu teknikde 3cc. dışkı süspansiyonu boncuklu cam şişeye aktarılır, 25cc. doymuş $ZnCl_2+NaCl$ ilave edilir, kapağı kapanarak iyice çalkalanır. Boncuklu şişedeki dışkı süspansiyonu ilk önce 150 u luk daha sonra 53 u'luk süzgeçlerden süzülür. Süzütüden puarlı bir pipet vasıtasıyla 15 cc. lik bir santrifüj tüpüne alınır ve 1000 rpm.'de 10 dakika santrifüj edilir. Süpernatanttan 2 öze dolusu alınarak temiz bir lam üzerine alınır, üzerine lamel kapatılarak mikroskopta 40x10 büyütmede incelenir (2).

$ZnCl_2+NaCl$ santrifüj flotasyon yöntemi ile hazırlanan dışkılarda *Cryptosporidium* oocystlerinin bazıları büzüşmüş veya daha değişik formlarda, pekçoğuda bozulmadan gözlenmiştir.

Gaitadaki *Cryptosporidium* Oocystlerinin aranmasında kullanılan diğer bir metod da giemsa yöntemidir. Her ne kadar bu yöntem mayalardan Oocystleri ayıramasa da etkenlerinin az miktarlarını ve morfolojik ayrıntılarını göstermesi bakımından asitle hızlı boyama tekniği kadar iyidir (6). Diğer boyama metodları ise; Safranin-Metilen mavisi metodu, Methamine gümüş boyama metodu, Nigrosin metodu, Periodik Acid-Schiff metodu, Metilen mavisi-eozin metodu, Trichrome metodu, gram boyama metodu, tartrazine'i takiben analizin, carbol-methyl violet metodu fluorescen boyama, auramine-rhodamine boyama metodlarıdır. Willson ve Acres (18) buzağılardaki *Cryptosporidiosis*'in teşhisinde dışkı frotisi ve dikromat solusyon flotasyon yöntemlerinin mukayesesine yönelik çalışmalarda dikromant solusyon flotasyon tekniğinin hem klinik veteriner pratikte, teşhiste ve araştırma çalışmalarına uyarlanabilen, dışkı örneklerinden *cryptosporidium* enfeksiyonlarının teşhisinde basit, çabuk ve duyarlı bir metod olarak bildirmişlerdir.

Giemsa ile boyalı preparatlarda *Cryptosporidium* oocystleri yuvarlak veya hafif ovalimsi, açık maviye boyanmış, 3-4 kırmızı granül içeren yapılar olarak görülür. Carbol fuchsin ile boyanmış preparatlarda ise oocystler kırmızıya boyanmış zemin üzerinde gayet belirgin ışığı kıran parlak yapılar olarak dikkati çeker. İç yapı belli olmamakta, mikrometre ile ayarlandığında bir noktanın belirginlik kazandığı görülür.

Yine *Cryptosporidium* enfeksiyonlarının teşhisinde son yıllarda yoğun olarak kullanılmaya başlanılan yöntemlerden biri de serolojik testlerdir. Temel prensibi kanda bulunan humoral antikorların saptanması olan bu testler arasında Indirect fluorescent antibody technique (IFAT), ELISA gibi tekniklerdir. Spesifik anti-*cryptosporidium* serumu ile IgM, IgG yada herikisi de *cryptosporidiosis*li hastaların ilk medikal işlemleri esnasında % 95'inde, 2 hafta içinde ise ELISA tekniği ile hastalık %100'ünde saptanmıştır (6).



Cryptosporidium oocyst'leri A) Giemsa B) Carbol-fuchsin C) $ZnCl_2 + NaCl$ santrifuj flotasyonda

TEDAVİ VE KONTROL :

İnsan ve hayvanlardaki cryptosporidiosis'in tedavisinde oral yada intravenöz sıvı tedavisi ile birlikte destekleyici bakım terapötik müdahalenin temelini oluşturur. *Cryptosporidium* sp.ler tarafından oluşturulan hastalık immunolojik olarak yeterli kişilerde kendiliğinden iyileşebilir fakat şekillenen dehydration bulunan iyi iyileşme görülmeyen bireylerin hastaneye yatırılarak tedavilerine burada devam edilmesi gerekir (6). Bugüne kadar hayvanlardaki enfeksiyonların önlenmesine yönelik bir çok girişimler yürütülmüştür. 15 adet anticoccidial proflatik ilacın etkinliği, inokulasyon öncesi ve sonrasında çeşitli dozlarda süt emen farelere verilerek test edilmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda bile hiçbiri enfeksiyonu önleyememiştir (6). Amprolium, aprinocin, dinitolmide, salinomycin ve sulphaquinoxalin'in oocyst çıkarılmasını azalttığı bildirilmiştir (10). Diğer bir konakçı türünde (kuzularda) yapılan diğer bir denemede bu ilaçlar içinde en etkili olan aprinocin cryptosporidiosisi kontrolde başarısız olmuştur. Buzağılarda 9 ilaç test edilmiş ve bunlar içinde lasalocid etkili bulunmuştur, fakat bir maddenin terapötik indeksi çokdardır. Lasalocid Na'un 8 mg/kg lık dozu etkisiz kalırken 15 mg/kg dozu 3 gün süreyle oral verildiğinde deneysel ve doğal enfeksiyonlara etkili olduğu görülmüştür (6).

KONTROL:

*Cryptosporidium*un etrafa yayılmasının kontrolünde, çevredeki oocystlerin azaltılması veya tamamen elimine edilmesi şarttır. Bununla birlikte uygun koşullar altında Oocystler nispeten uzun süre enfektif kalırlar. 4°C'deki sulu suspansiyonlarda muhafaza edilen *cryptosporidium* oocystleri enfektivitelerini 2-6 ay muhafaza ederler fakat 6-9 ay süreyle canlı kalırlar ve hücre kültürlerinde 12 ay süreyle enfektivitelerini devam ettirirler (6). Oocystler % 2,5 luk sulu potasyum dikromat içinde suspanse edildiklerinde muhafazaya en iyi şekilde dayanırlar. Oocystlerin canlılıkları üzerine ısının çok büyük etkisi vardır. 30 dakika süreyle 65°C de ısıtma ve dondurma *cryptosporidium* oocystlerini daha fazla enfeksiyöz kılar (6). *Cryptosporidium* sp. nin, buzağı

dışkısı ve barsak içeriğinin nemli ısı ile muamelesi 45°C'de 5-20 dakika tutmakla veya 9°C'den 55°C'ye 15-20 dakika süreyle ısıtmakla enfektivite kaybına yolaçar (6). Veteriner, tıbbi ve laboratuvar personelinin enfekte materyal ile temasının önlenmesi fevkalade önemlidir. Toprakta, sudan, kontamine su ile yıkanan gıdalardan olduğu kadar insan ve hayvanlardan da oocyst alınması potansiyelini azaltma sayesinde bulaşma azaltılır veya önlenir (6). Potansiyel olarak bulaşık malzemeler otoklavda sterilize edilmelidir. Diğer coccidi oocystleri gibi çok az ticari dezenfektanlardan olan ve setilkonyum klorür, benzalkonyum klorür glutaraldehit ve formaldehit içeren TEGODOR ile tri-n butilbenzoat, formaldehit ve izopropil alkol içeren FORMULA-H ve ne de % 3 kresilik asit % 2,5 hipoklorit solüsyonu, % 5 benzalkonyumklorür, %2,5 hipoklorit solüsyonu, % 5 benzalkonyumklorür, 0,02M sodyum hidroksit ve % 1-4 iyodofor içeren diğer 5 dezenfektandan hiçbiri yenidoğmuş S.P.F farelerindeki oocyst enfektivitesini tahribedememiştir. % 3 dikonit, % 5 formaldehit, % 3 kloramin B, % 3 joctonel-A, % 0,2 lastanox Q ve % 0,2 mycolastanox kullanılarak yürütülen müteakip girişimler de yine neonatal farelerdeki oocyst enfektivitesini tahrib edememiştir (6). Sadece % 10 luk formol ve % 5 lik amonyak muameleden 18 saat sonra oocystlerinin fareler için enfeksiyöz olamamasını sağlamıştır. Formaldehit veya amonyak ile fumigasyon ortamın Oocystlerden arındırılması için en uygun şekil olarak tavsiye edilmektedir (6).

PROFİLAKSİ : Diğer coccidia türlerinde olduğu gibi cryptosporidium oocystlerinin yok edilmesi veya azaltılması ile sağlanabilir. Oocystler+4°C'deki su içinde canlılıklarını 9 aya kadar sürdürebilirler. Oocystler en iyi şekilde % 2,5 luk K₂CrO₄'de saklanabilir. Hayvanların altlıkları haftada en az 3 kere kaynamış suyla temizlenmeli, yemlik ve suluklar her hayvan için ayrı olmalı, sık sık temizlenmelidir (6,9,15). Fayer ve ark. (7) hiperimmün sığır colostrumunun profllaksi üzerinde etkisi hakkında yaptıkları çalışmada hiperummun colostrum verilen buzağuların, normal colostrum alanlara oranla kan serumlarında daha yüksek kontrasyona anti-C.parvum antikorlarına sahip olduklarını ve daha az sayıda Oocyst çıkararak bunlardaki ishalin oldukça kısa sürdüğünü gözlemişlerdir.

KAYNAKLAR

- 1- Burgu, A. (1984) : Türkiye'de buzağularda cryptosporidiumların bulunuşu ile ilgili ilk çalışmalar. A.Ü. Vet. Fak. Derg. 31 (3) : 573 - 585.
- 2- Burgu, A. (1984) : İnsanlarda cryptosporidiosis ve zoonoz önemi A.Ü. Vet. Fak. Derg. 31 (3) : 586-593.
- 3- Current, W.L. (1985) cryptosporidiosis. JAVMA. 187 (12) : 1334 - 1338.
- 4- Current, W.L. and Reuse, N.C. (1986). A comparison of endogeneous development of three isolates of cryptosporidium in suckling mice J. Protozool. 33 (1): 98-108.

- 5- Current, W.L., Upton, S.J and Haynes, T.B. (1986) : The life cycle of cryptosporidium baileyi sp. (Apicomplexa, cryptosporidiidae) infecting chickens. J. Protozool. 33 (2) : 289-296.
- 6- Fayer, F. and Ungar, B.L.P. (1986) : Cryptosporidium spp. and cryptosporidiosis. Microbiological Reviews. 50 (4) : 458-438.
- 7- Fayer, R., Andrews, C., Ungar, B.L.P. and Blagburn, B. (1989) : Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves. J. Protozool. 75 (3) : 393-397.
- 8- Heine, J., Pholens, J.F.L., Moon, H.W. et al. (1984) : Enteric lesions and diarrhoea in gnotobiotic calves monoinfected with cryptosporidiosis species. J. Infect. Dis. 150 : 768-775.
- 9- Mouten, D.J., Van Kruiningen, H.J. and Lein, D.H. (1974) : cryptosporidiosis in a calf. JAVMA. 165 (10) 914-917.
- 10- Moon, H. Woode, G.N. and Ahrens F.A. (1982) : attempted chemoprophylaxis of cryptosporidiosis in calves. Vet. Rec. 110 : 181.
- 11- Özkul, İ.A., Alçığır, G. ve Karaer, Z. (1989) : Oğlaklarda cryptosporidiosis. 6. ulusal parazitoloji kongresi, 26-29 Eylül, İstanbul.
- 12- Özkul, İ.A., Alçığır, G., Karaer, Z. ve Kutsal, O. (1989) : Piliçlerde cryptosporidiosis. 6. ulusal parazitoloji kongresi, 26-29 Eylül, İstanbul.
- 13- Sandford, S.E. (1987) : Enteric cryptosporidial infection in pigs. 184 cases (1981-1985). JAVMA. 190 (6) : 695-698.
- 14- Sobieh, M., Tacal, J.V., Wilcke, B.W., Lawrence, W. and El-ahraf, A. (1987). Investigation of cryptosporidial infection in calves in San Bernardino County, California JAVMA. 191 (7) : 816-818
- 15- Tzipori, S. (1983), cryptosporidiosis in animals and humans. Microbiol. Dev. 47. 84-96.
- 16- Tzipori, S., Smith, M., Halpin, C., Angus, K.W., Sherwood, D. and Campbell, T. (1983), Experimental cryptosporidiosis in calves : clinical manifestations and pathological findings. Microbiol. Rev. 112. 116-120.
- 17- Tzipori, S. (1979) : Cryptosporidiosis in perspective. J. parasitol. 75 (1) : 179.
- 18- Willson, P.J. and acres, S-D. (1982). A comparison of dichromate solution floatation and fecal smears for diagnosis of cryptosporidiosis in calves. Can. Vet. J. 23 : 240-246

19- Zeybek, H., Gültek, A., seyisoğlu, M.A. (1989) : Ankara yöresi sağlıklı ve ishali buzağılarda paraziter hastalık etkenlerinin saptanması. I. Uluslararası önemli buzağı hastalıkları sempozyumu, 26-29 eylöl, Etlik-Ankara

TABLO II- Cryptosporidium'un Lokalize Olduğu Yerler

| Yerler | Buzağı | Kuzu | Keçi ve Geyik | Tay | Kedi | Lab.1 Hay. | Maymun | İnsan | Kuş | Sürüngen 2 | Balık |
|---------------|--------|------|---------------|-----|------|------------|--------|-------|-----|------------|-------|
| Konjonktiva | | | | | | | | + | | | |
| Tonsilla | | | | | | | + | | | | |
| Burun Dok. | | | | | | | | + | | | |
| Trachea | | | | | | | | + | | | |
| Bronş | | | | | | | + | + | | | |
| Mide | | | | + | | + | | | | + | |
| İnce Bar. 3 | | + | | | + | + | + | | | | + |
| Duodenum | | + | | + | | | + | | | | |
| İejunum | + | + | + | + | + | + | + | + | | | |
| Yuk. Kıs. | | | | | + | + | | | | | |
| Or. Kıs. | + | + | | | + | + | | | | | |
| Aş. Kıs. | + | + | + | | + | + | | | | | |
| İleum | + | + | + | + | | | + | + | | | |
| Sekum | | + | + | | + | + | | + | | | |
| Barsak | + | + | | + | | + | + | + | | | |
| Sp. Kolon | + | + | + | | | | | | | | |
| Düz. Kolon | | + | | | | | | | | | |
| Rektum | | + | | | | | + | | | | |
| Kloaka | | | | | | | | + | | | |
| Bursa | | | | | | | | + | | | |
| Pankreas Kan. | | | | + | | + | | | | | |
| Safra Kan. | | | | + | | + | | | | | |
| Safra Kesesi | | | | | | + | + | | | | |
| Gaita | + | | | + | + | + | + | + | | + | |

1- Ratt, fare, kobay ve tavşanlar. 2- Kingnakos ve Costa Rican Lizard'daki etkenler Cryptosporidium'dir.
3- Bazı yazarlara göre Cryptosporidium'ın gösterilen diğer bölgelerine göre daha az spesifiktir.