

# Hayvancılıkla Uğraşanlarda ve Sığırlarda *Cryptosporidium* spp. Yaygınlığının ELISA ile Araştırılması <sup>[1]</sup>

Semra ÖZÇELİK \*  Ömer POYRAZ \*\* Kadir KALKAN \*\*\*  
Erdoğan MALATYALI \* Serpil DEĞERLİ \*

[1] Bu çalışma C.Ü.B.A.P. (Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri) tarafından (Proje No: T-393) desteklenmiştir

\* Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, TR-58140 Kampüs, Sivas - TÜRKİYE

\*\* Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TR-58140 Kampüs, Sivas - TÜRKİYE

\*\*\* Cumhuriyet Üniversitesi, Şarkışla Aşık Veysel MYO, TR-58400 Şarkışla, Sivas - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2011-5981

## Özet

*Cryptosporidium* spp. insanlarda ve hayvanlarda enterit oluşturan önemli bir etkidir. Çalışmada, zoonotik özelliği nedeniyle hayvancılıkla uğraşan kişilerde, şehir merkezinde yaşayan kontrol grubunda ve sığırlarda *Cryptosporidiosis* yaygınlığının araştırılması amaçlanmıştır. Eylül 2009- Eylül 2010 tarihleri arasında Sivas'a bağlı farklı köylerde yaşayan 50 çiftçiden, şehir merkezinde yaşayan, ishal v.b. yakınmaları olmayan 65 kişiden ve bu yörelerde yetiştirilen 200 sığır ve buzağıdan alınan dışkı örnekleri incelenmiştir. Toplanan örnekler çalışılncaya kadar %10'luk formalin içinde saklanmıştır. Deneylede *Cryptosporidium* Stool Antigen Microwell ELISA Kiti kullanılmış olup, çalışma sonucunda kontrol grubunda 4 (%6.2) kişide, hayvancılıkla uğraşan 9 (%18.0) kişide ( $\chi^2=3.95$ ,  $P<0.05$ ). ve sığır ve buzağuların ise 15 (%7.5)'inde *Cryptosporidium* spp. antijen pozitifliği saptanmıştır.

**Anahtar sözcükler:** *Cryptosporidium*, Prevalans, ELISA, Türkiye

## The Investigation of *Cryptosporidium* spp. Prevalence in Cattle and Farmers by ELISA

### Summary

*Cryptosporidium* spp. is an important cause of enteritis for animals and humans. As the parasite has zoonotic potential, it is aimed to investigate the prevalence in people who had close contact with livestock, in control group who lived in Centrum and cattle. Fecal samples collected from 50 farmers who lived in different villages of Sivas and 65 people to be control group lived in Sivas Center without gastrointestinal discomfort and 200 cattle and calf breeding different county during the period from September 2009 to September 2010. Fecal samples were stored in 10% formalin until examination and then studied with *Cryptosporidium* Stool Antigen Microwell ELISA Kit. As a result, positive rate were found 4 (6.2%) in control group and 9 (18%) in study group ( $\chi^2=3.95$ ,  $P<0.05$ ). On the other hand, 15 (7.5%) of the cattle and calve samples gave positive reaction with *Cryptosporidium* spp. ELISA.

**Keywords:** *Cryptosporidium*, Prevalence, ELISA, Turkey

## GİRİŞ

*Cryptosporidium* türleri insanlar da dahil olmak üzere birçok canlı türünde gastroenterit nedeni olabilen zoonotik protozoonlardır<sup>1</sup>. Parazitin ookistlerini içeren dışkıyla kontamine su ve besinlerin tüketilmesi ile canlılar arasında yayılmaktadır. *Cryptosporidium* türleri günümüzde konak özgüllüklerine göre gruplara ayrılmıştır. Örneğin: *C. baileyi* kuşlarda, *C. canis* köpeklerde, *C. cati* kedilerde görülme-

tedir. Bunun yanında konak özgüllüğü çok az olan türler de bulunmaktadır. Bunların başında da zoonotik özelliği olan *C. parvum* gelmektedir. *C. hominis* ise insana özgü bir tür olup konak özgüllüğü yüksektir. Ayrıca *C. canis* gibi bazı türlerin veya genotiplerin de insanı enfekte edebildiği bildirilmiştir<sup>2</sup>. Evcil hayvanlar ve çiftlik hayvanları da hastalığın insanlara bulaşmasında ve yayılmasında önemli rol oynar. İzole edil-



İletişim (Correspondence)



+90 346 2191010/1079



ozceliksemra@yahoo.com

en türlerin ayırt edilmesi ve genotiplerinin belirlenmesi için moleküler yöntemlerin (Örn. Restriction fragment length polymorphism vb.) kullanılması gerekir<sup>3</sup>. Bu yöntemler aynı zamanda mevcut epidemiyolojik durumu ve konak çeşitliliğini belirlemede de faydalı olabilir. Ayrıca çevresel örneklerde parazit araştırılırken çoklaştırma veya filtrasyon teknikleri uygulanmalıdır.

Tüm dünyada görülebilen bu parazit özellikle gelişmekte olan ülkelerde yaygındır. Bu yaygınlığın nedeni kötü hijyen koşulları ve nüfusun kalabalık olmasıdır<sup>4</sup>. Enfeksiyon sağlıklı kişilerde hafif seyrederken, immün sistemi baskılanmış kişilerde ölümlü sonuçlanabilen kolera benzeri ishale de neden olabilir<sup>5</sup>. *Cryptosporidium* türlerinin tanısı direkt, serolojik, moleküler ve histopatolojik yöntemler kullanılarak yapılabilir<sup>6</sup>. Dışkı, balgam ve safra örneklerinde parazitin oookistlerinin görülmesi doğru tanı için gereklidir. Bu materyallerin incelenmesinde çoklaştırma yöntemlerinin uygulanması tanıyı kolaylaştırır. Modifiye Asit-Fast, Safranin, Auramin, İyot gibi boyama yöntemleri de direkt tanıda sıklıkla kullanılır<sup>4-6</sup>.

1980'li yıllardan itibaren yaygın olarak kullanılmaya başlanan ELISA yöntemi birçok hastalıkta olduğu gibi *Cryptosporidium* spp. tanısında da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. ELISA yönteminin, uygulanması kolay olup ticari kitler halinde piyasada bulunabildiği için deneyimli personele gereksinim duyulmadan her laboratuvarında çalışılabilir. Ayrıca bir seferde çok sayıda örneğin çalışılabilmesi araştırmacıya büyük kolaylık sağlar<sup>7</sup>. *Cryptosporidium* spp. tanısında kullanıma sunulan çeşitli ticari ELISA kitleri bulunmaktadır<sup>8</sup>.

Bu çalışmada, hem hayvancılıkla uğraşmanın hem de kırsal kesimde yaşamının *Cryptosporidium* spp. görülme sıklığına ne oranda etki ettiği ve bu parazitin sığır ve buzağılardaki yaygınlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Örnek Toplanması

İnsan dışkı örnekleri Eylül 2009 - Eylül 2010 tarihleri arasında Sivas'a bağlı köylerden ve şehir merkezinde yaşayan kişilerden alındı. Dışkı alınacak kişiler yapılacak çalışma ile ilgili bilgilendirilerek onayları alındıktan sonra dışkıları toplandı. Deney grubu olarak köylerde yaşayan ve hayvancılıkla uğraşan 50 kişiden, kontrol grubu olarak ise şehir merkezinde yaşayan, ishal yakınması olmayan 65 kişiden dışkı örnekleri alındı. Sığır ve buzağılara ait ise VET-BİS'e kayıtlı, sahipleri ve işletme numaraları belli çiftliklerden veteriner hekim öğretim üyesi tarafından alındı. Dışkı alma işlemi sırasında hayvan sahipleri bilgilendirildi. Plastik kaplara konulan dışkı örnekleri kutu üzerindeki etikete gerekli bilgiler kaydedilerek (yaş, cins, köyü vb.) aynı ya da bir gün sonra Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD laboratuvarlarına getirildi ve test çalışılincaya kadar %10'luk formalinde saklandı.

### Antijen Aranması

Çalışmada, toplanan dışkı örneklerinde antijen araştırılması ticari kit *Cryptosporidium* antigen mikropalak ELISA kiti [*Cryptosporidium* (fecal), Diagnostic Automation, Inc.] kullanıldı. Bu kit, anti-*Cryptosporidium* poliklonal antikorları kullanılarak sandwich ELISA tekniğine göre hazırlanmış olup dışkı süpernatantından antijen yakalama özelliğine sahiptir. ELISA deneyleri kit içerisinde çıkan çalışma kılavuzuna uygun olarak çalışılmış olup, sonuçlar ELISA okuyucusunda (Rayto RT) 450 nm de okutulmuş değerlendirilmiştir. Yapılan deneylerde deney kitinin kontrollerine ek olarak daha önce pozitifliği kanıtlanmış olan dışkı örnekleri de çalışılmıştır (Sığır dışkıları Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesinden Prof.Dr. Ferda SEVİNÇ, PCR ile pozitifliği saptanmış insan dışkıları GATA'dan Prof. Dr. Mehmet TANYÜKSEL'den elde edilmiştir). Sonuçların değerlendirilmesi, çalışma kılavuzuna uygun olarak, absorbans değeri 0.150 ve üzeri olanlar pozitif, altında olanlar ise negatif olarak belirlendi.

### İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde "SPSS 15.0 for Windows" paket programı kullanılmıştır. Araştırmada elde edilen verilerin analizi "Ki-Kare" testi ile yapılmış, P<0.05 olması anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Çalışma sonucunda köylerde yaşayıp hayvancılık yapan 50 kişinin 9'unda (%18), ve şehirde yaşayan 65 kişinin 4'ünde (%6.2) *Cryptosporidium* spp. antijeni saptanmıştır (Tablo 1). Hayvancılıkla uğraşanlarda parazitin görülme oranı daha yüksek olup, istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $\chi^2=3.95$ , P<0.05). Cinsiyet açısından sonuçlar değerlendirildiğinde, kadınlar ve erkekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı görülmüştür ( $\chi^2=1.01$ , P>0.05). Ayrıca *Cryptosporidium* antijen pozitifliği yaş gruplarına göre değerlendirilmiş ve 0-20 yaş arası bireylerde daha yaygın olduğu saptanmış olup (Tablo2) farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $\chi^2=2.12$ , P>0.05). Sığırlardan toplanan 200 dışkı örneğinin toplam 15 (%7.5)'inde *Cryptosporidium* pozitifliği saptanmıştır (Tablo 3). İnceleme yapılan 68 buzağının %5.8'inde ve 132 sığırın %8.3'ünde pozitiflik saptanmış olup farklılık istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ( $\chi^2=0.38$ , P>0.05).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

*Cryptosporidium* türleri dünya genelinde oldukça yaygın görülen başta sığırlar olmak üzere birçok hayvan türünde ağır ishal ve su kaybıyla seyreden bir enfeksiyona neden olur. Günümüzde 18s rRNA ve ısı şok proteinleri üzerinde yapılan çalışmalarla *Cryptosporidium* spp. türleri iki gruba ayrılmıştır. Bunlardan *C. muris* ve *C. serpentis* bir grupta, *C. hominis*, *C. parvum*, *C. baileyi*, *C. felis*, *C. canis* ve *C. meleagridis* diğer

**Tablo 1.** *Cryptosporidium* spp. görülme sıklığının bölgelere göre dağılımı  
**Table 1.** The regional differences in the distribution of *Cryptosporidium* spp. in humans

Yerleşim Yeri	ELISA (+)		ELISA (-)		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Kırsal Kesim	9	18	41	82	50	43.4
Şehir Merkezi	4	6.2	61	93.8	65	56.6
Toplam	13	11.3	102	88.7	115	100

**Tablo 2.** İnsanlarda *Cryptosporidium* spp.'nin yaş gruplarına göre dağılımı.  
**Table 2.** The distribution of *Cryptosporidium* spp. positivity according to age groups in humans

Test Sonuçları	Yaş Grupları						Toplam	
	0-20		21-40		41-60		Sayı	%
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%		
ELISA (+)	12	13.2	-	-	1	10	13	11.3
ELISA (-)	79	86.8	14	100	9	90	102	88.7
Toplam	91	79.1	14	12.2	10	8.8	115	100

**Tablo 3.** Sığırlarda *Cryptosporidium* spp.'nin yaş gruplarına göre dağılımı  
**Table 3.** The distribution of *Cryptosporidium* spp. positivity according to age groups in cattle

Test Sonuçları	Buzağı (0-6 ay)		Sığır		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
ELISA (+)	4	5.9	11	8.3	15	7.5
ELISA (-)	64	94.1	121	91.7	185	92.5
Toplam	68	34.0	132	66.0	200	100

bir grupta yer almaktadır<sup>2</sup>. İnsandan saptanan *C. hominis*'in konak özgülüğü daha belirgin iken *C. parvum*'un zoonotik bulaş döngüsünde rolü bulunduğu bilinmektedir. Bu hastalık enfekte sığır, koyun, kedi ve köpeklerden de insanlara bulaşabilen zoonotik bir karaktere sahiptir<sup>9,10</sup>.

Parazitin tanısında *Cryptosporidium* ELISA kitlerinin duyarlılık ve seçiciliği %93 ile %100 arasında değişmekte olup, test çalışılırken yalancı pozitifliklerin olabileceğine dikkat edilmesi gerekmektedir<sup>11</sup>. Nair ve ark. insanlarda yapılan çalışmalarda yöntemin duyarlılığını %50, özgülüğünü %100 olarak bildirmiştir<sup>12</sup>. Parazitin zoonotik özelliği nedeniyle hayvancılığın yaygın olduğu yerleşim alanlarında enfekte olma riski daha fazladır<sup>13</sup>. Çalışmamızda da kırsal kesimde yaşayanlarda ELISA ile pozitiflik oranı %18 olup, şehir merkezinde yaşayanların pozitiflik oranının (%6.2) yaklaşık üç katıdır.

Ayrıca hastalığın kliniği göz önüne alındığında yaygınlığı ishalleri gruplarda daha yüksektir. Tamer ve ark. Kocaeli'nde ishal şikayeti olan 80 hastanın 5'inde (%6.25) *Cryptosporidium* spp. spesifik antijenleri saptamışlardır<sup>14</sup>. Adana'da yapılan çalışmada hastaneye başvuran ishalleri hastalar arasında ise, ELISA ile %24 oranında pozitiflik bildirilmiştir<sup>15</sup>. Yine aynı ilde ELISA yöntemiyle ishalleri çocuklar arasında parazitin görülme sıklığı %8.2 iken diğerlerinde %4.1 olarak bildirilmiştir<sup>16</sup>.

Boyama yöntemleri kullanılarak yapılan araştırmalardan; Elazığ'da ishalleri olguların 19'unda (%4.55), Mersin'de ilköğretim çağındaki 72 öğrencinin 4'ünde (%5.5) parazitin ookistlerine rastlanmıştır<sup>17</sup>. Diyarbakır'da ise ishalleri 450 çocuğun %2.2'sinde *Cryptosporidium* spp. bulunduğu bildirilmiştir. Araştırma sonuçları arasındaki farklılıkların nedenleri olarak; çalışma gruplarının farklı olması, kullanılan yöntemlerin farklı olması, bölgelerin coğrafi özellikleri ve en önemlisi çalışma yapılan yerlerdeki alt yapı yetersizliği ve hijyenik içme suyunun durumu gibi sebepler etkili olabilir<sup>18</sup>. Çalışmamızda 0-20 yaş arasında pozitiflik daha yüksek saptanmış olup bu yaş grubunun parazite daha duyarlı olduğu söylenebilir. Benzer şekilde Mirzaei, parazite 15 yaşından küçüklerde %21.9 oranında rastlandığını ve yaş arttıkça parazitin görülme oranının azaldığını gözlemlemiştir<sup>19</sup>.

Çalışmada sığırlarda *Cryptosporidium* spp. yaygınlığı %7.5 olarak tespit edilmiştir. Buzağı dışkılarında görülme sıklığı %5.9 iken sığır dışkılarında %8.3 olarak saptanmıştır. Her ne kadar sığırlarda daha yüksek saptanmış olsa da aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Bu oran ülkemizin doğusundaki çalışmalara göre daha düşüktür. ELISA ile Van yöresinde yapılan araştırmada altı aylıktan küçük 182 süt buzağısının 24'ünde (%13.1) *Cryptosporidium* spp. ookistleri saptanmıştır<sup>20</sup>.

Kars'ta yapılan bir çalışmada ishalleri 140 sığırın 36'sında

(%25.7) *Cryptosporidium* spp. bulunduğu bildirilmiştir<sup>21</sup>. Bu ilde yapılan bir başka çalışmada ise parazite neonatal buzağılarda %32.9 oranında rastlanmıştır<sup>22</sup>. Ankara'da yapılan bir çalışmada ise PCR ile 130 dışkı Cryptosporidiosis yönünden incelenmiş olup bunlardan 98i ishali insan, 32'si ishali buzağı dışkılarından oluşmaktadır. PCR ile 0-6 aylık ishali buzağılarda %37.5, ishali insanlarda ise %1.02 oranında *Cryptosporidium* spp. saptandığı bildirilmiştir<sup>23</sup>. Sivas'ta 2005 yılında yapılan çalışmada sığırlarda parazitini yaygınlığı %70.3 ve buzağılarda %31.6 olarak bildirilmiştir<sup>24</sup>. Çalışmaya alınan 6 aydan küçük buzağılarda parazitini görülme oranı %5.9 iken, sığırlarda %8.3 bulunmuştur. Türkiye'de yapılan diğer çalışmalara baktığımız zaman buzağılarda %25.7-70.3, sığırlarda ise %4.5-31.4 oranlarında parazitizasyon tespit edilmiştir<sup>21-25</sup>. ELISA yöntemiyle *Cryptosporidium* görülme sıklığını araştırdığımız bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar ELISA yönteminin yüksek oranda görülen yalnızca pozitifliklerine karşın çok yüksek saptanmamıştır. Ancak atfta bulunulan çalışmaların önemli bir bölümünde tamamen semptomlu hayvanlar araştırılmıştır. Bu çalışmada ise bir prevalans çalışması olarak köylerde beslenen 200 sığır ve buzağı ele alınmıştır.

*Cryptosporidium* spp. dünya genelinde de sığırlar arasında yaygın görülebilen bir parazittir. Örneğin gelişmiş ülkelerden Fransa'da parazite %17.9 oranında, Kanada'da %13 ve İsveç'te %11 oranında rastlandığı bildirilmiştir<sup>26-28</sup>. Bu oranların ülkemiz prevalansından çok farklı olmadığı söylenebilir. Parazitin zoonotik özelliği insanlara bulaşma riskini ortaya koymaktadır. Bu nedenle hem hayvancılıkla uğraşmak hem de kırsal kesimde yaşamak bu parazitin insanlarda daha yaygın görülmesini etkilemektedir.

Sonuç olarak, hayvancılık yapılan bölgelerde yaşayan insanlar, hem parazitin zoonotik özelliği hem de bu bölgelerdeki alt yapı yetersizliklerine bağlı olarak *Cryptosporidium* spp. açısından daha fazla risk altındadır.

## KAYNAKLAR

- Guerrant RL:** Cryptosporidiosis: An emerging, highly infectious threat. *Emerg Infect Dis*, 3, 51-57, 1997.
- Xiao L, Bern C, Limor J, Sulaiman I, Roberts J, Checkley W, Cabrera L, Gilman RH, Lal AA:** Identification of five types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Peru. *J Infect Dis*, 183, 492-497, 2001.
- Kolören Z, Dinçer S:** Farklı restriksiyon enzimleriyle kesilen *Cryptosporidium parvum* genomik DNA'sının Green Fluorescent Protein Reporter (GFP) vektörüne transformasyonu. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (3): 365-370, 2010.
- Soave R, Ruiz J, Garcia-Saucedo V, Garrocho C, Kean BH:** Cryptosporidiosis in a rural community in central Mexico. *J Infect Dis*, 159, 1160-1162, 1989.
- Ramratnam B, Flanigan TP:** Cryptosporidiosis in persons with HIV infection. *Postgrad Med J*, 73, 713-716, 1997.
- Casemore DP, Armstrong M, Sands RL:** Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. *J Clin Pathol*, 38 (12): 1337-1341, 1985.
- Tanyuksel M, Petri WA:** Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clin Microbiol Rev*, 16, 713-729, 2003.
- Garcia LS, Shimizu RY:** Detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* antigens in human fecal specimens using the ColorPAC combination Rapid Solid-Phase Qualitative Immunochromatographic Assay. *J Clin Microbiol*, 38 (3): 1267-1268, 2000.
- Egger M, Nguyen XM, Schaad UB, Krech T:** Intestinal cryptosporidiosis acquired from a cat. *Infection*, 18, 177-188, 1998.
- Xiao L, Feng Y:** Zoonotic cryptosporidiosis. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 52 (3): 309-323, 2008.
- Garcia LS, Shimizu RY, Bernard CN:** Detection of *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, and *Cryptosporidium parvum* antigens in human fecal specimens using the Triage Parasite Panel Enzyme Immunoassay. *J Clin Microbiol*, 38, 3337-3340, 2000.
- Nair P, Mohamed JA, DuPont HL, Figueroa JF, Carlin LG, Jiang ZD, Belkind-Gerson J, Martinez-Sandoval FG, Okhuysen PC:** Epidemiology of Cryptosporidiosis in North American travelers to Mexico. *Am J Trop Med Hyg*, 79 (2): 210-214, 2008.
- Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ:** *Cryptosporidium* taxonomy; recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev*, 17, 72-97, 2004.
- Tamer GS, Gülenç S:** Dışkıda *Cryptosporidium* spp. antijenlerinin ELISA ile araştırılması. *Türkiye Parazit Derg*, 32 (3): 198-201, 2008.
- Elgün G, Koltas IS:** Investigation of *Cryptosporidium* spp. antigen by ELISA method in stool specimens obtained from patients with diarrhea. *Parasitol Res*, 108 (2): 395-397, 2011.
- Elgün G:** Ishalli dışkı örneklerinde *Cryptosporidium* sp. antijeninin ELISA yöntemi ile araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniv. Sağlık Bil. Enst., 2009.
- Otağ F, Aslan G, Emekdaş G, Aydın E, Özkan AT, Ceber K:** Investigation of *Cryptosporidium* oocysts in elementary school students in Mersin. *Türkiye Parazit Derg*, 31 (1): 17-19, 2007.
- Çiçek M, Yılmaz H:** Ishalli çocuklarda *Cryptosporidium* spp. ve diğer barsak parazitlerinin yaygınlığı. *Dicle Tıp Derg*, 38 (1): 70-75, 2011.
- Mirzaei M:** Prevalence of *Cryptosporidium* sp. infection in diarrheic and non-diarrheic humans in Iran. *Korean J Parasitol*, 45 (2): 133-137, 2007.
- Gül A, Çiçek M, Kılınç Ö:** Prevalence of *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in calves in the Van province. *Türkiye Parazit Derg*, 32 (3): 202-204, 2008.
- 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*, 25, 161-164, 2001.
- Çitil M, Arslan MÖ, Güneş V, Erdoğan HM:** Neonatal buzağı ishallerinde *Cryptosporidium* ve *Eimeria* enfeksiyonlarının rolü. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 10 (1): 59-64, 2004.
- Sakarya Y, Kar S, Tanyüksel M, Karaer Z, Babür C, Vatanserver Z:** Detection of *Cryptosporidium* spp. in humans and calves through nested PCR and Carbolfuchsin Staining methods in Ankara, Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (6): 977-980, 2010.
- Değerli S, Çeliksöz A, Kalkan K, Özçelik S:** Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in cows and calves in Sivas. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 995-999, 2005.
- Mamak N, Özçelik S, Değerli S, Oğuztürk H, Akın Z:** Zara (Sivas) yöresi sığırlarında *Cryptosporidium* enfeksiyonunun prevalansı. *Türkiye Parasitol Derg*, 24 (4): 401-404, 2000.
- Lefay D, Nairi M, Pairier P, Chermette R:** Prevalence of *Cryptosporidium* infection in calves in France. *Vet Parasitol*, 8, 1-9, 2001.
- Björkman C, Svensson C, Christensson B, de Verdier K:** *Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in calf diarrhoea in Sweden. *Acta Vet Scand*, 44 (3-4): 145-152, 2003.
- McAllister TA, Olson ME, Fletch A, Wetzstein M, Entz T:** Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in beef cows in southern Ontario and in beef calves in southern British Columbia. *Can Vet J*, 46 (1): 47-55, 2005.