

Levels of Serum 25 (OH) D3 in Naturally Infected Lambs With *Giardia duodenalis*

Güzin ÇAMKERTEN^{*1} Hasan ERDOĞAN², Deniz ALIÇ URAL³, İlker ÇAMKERTEN⁴,
Songül ERDOĞAN², Kerem URAL²

¹Aksaray University, Vocational School of Technical Sciences, Department of Veterinary Medicine, Aksaray, Turkey

²Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Aksaray, Turkey

³Adnan Menderes University, Veterinary Faculty Animal Farm, Aksaray, Turkey

⁴Aksaray University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Aksaray, Turkey

ABSTRACT

Giardia duodenalis is a binuclear flagellated protozoan that can infect birds, reptiles and many mammals. The pathogen is one of the most important causes of diarrhea in humans and farm animals. The aim of this study was to determine the changes in serum 25-hydroxyvitamin D3 levels in naturally infected lambs with *Giardia duodenalis*. The animal material of the study was used Sakız sheep which had naturally infected with *Giardia duodenalis* between 15-35 days of age from the Aydın region (n = 30), healthy lambs in the same age range (n = 15) and both sexes. Sterile stool samples with the method of rectal touching of fecal samples from infected and healthy animals, blood samples were obtained in a total of 5 ml of v.jugularis according to the technique in order to determine serum 25-hydroxyvitamin D3 levels. Giardia screening was performed by direct microscopic examination of stool samples. 25-OH-D levels were measured with Savant brand fluorescent immunoassay device from the obtained serum samples. Mann-Whitney U test was used in statistical analysis. Statistically significant changes were observed in 25-hydroxyvitamin D3 levels of healthy and natural infected animals (p <0.05).

Keywords: Giardiasis, Lamb, 25-hydroxy vitamin D3

Giardia duodenalis ile Doğal Enfekte Kuzularda Serum 25 (OH) D3 Seviyeleri

ÖZ

Giardia duodenalis kuşlar, reptiller ve bir çok memeli hayvanı enfekte edebilen binükleuslu flagellalı bir protozoondur. Söz konusu patojen insanlarda ve çiftlik hayvanlarında başta olmak üzere şekillenen ishali en önemli nedenleri arasında yer almaktadır. Çalışmada *Giardia duodenalis* ile doğal enfekte kuzularda serum 25-hidroksi vitamin D3 seviyelerindeki değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmanın hayvan materyalini Aydın bölgesinde bulunan yaşları 15-35 günlük arasında her iki cinsiyetten sakız ırkı *Giardia duodenalis* ile doğal enfekte (n=30), benzer yaş aralığındaki aynı ırktan (n=15) ve her iki cinsiyetten sağlıklı kuzular oluşturdu. Enfekte ve sağlıklı hayvanlardan dışkı örnekleri rektal tuşe yöntemi ile steril dışkı örnekleri, serum 25-hidroksi vitamin D3 seviyelerinin belirlenmesi amacı ile de tekniğine uygun olarak v.jugularisden toplamda 5 ml olacak şekilde kan örnekleri alındı. Dışkı örneklerinden direkt mikroskopik bakı yöntemi ile giardia taraması yapıldı. Elde edilen serum örneklerinden Savant marka flöresan immunoassay cihazı ile 25-OH-D seviyeleri ölçüldü. İstatistiksel analizde Mann-Whitney U testinden yararlanıldı. Sağlıklı ve doğal enfekte hayvanlara ait 25-hidroksi vitamin D3 seviyeleri arasında istatistiksel (p<0,05) anlamlı değişimlerin olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Giardiasis, kuzu, 25-hidroksi vitamin D3

To cite this article: Çamkerten G, Erdoğan H, Ural Aliç D, Çamkerten İ, Erdoğan S, Ural K. Levels of Serum 25 (OH) D3 in Naturally Infected Lambs With *Giardia duodenalis*. Kocatepe Vet J. (2019) 12(1):71-74

Submission: 06.12.2018 Accepted: 01.02.2019 Published Online: 18.02.2019

ORCID ID; GÇ: 0000-0003-2732-9490, HE: 0000-0001-8109-8537, DAU: 0000-0002-2659-3495, İÇ: 0000-0002-6952-7703, SE: 0000-0002-7833-5519, KU: 0000-0003-1867-7143

*Corresponding author e-mail: oguzalperen@hotmail.com

GİRİŞ

Giardia duodenalis kuşlar, reptiller ve bir çok memeli hayvanı enfekte edebilen binükleuslu flagellalı bir protozoondur. Söz konusu patojen insanlarda ve çiftlik hayvanlarında başta olmak üzere şekillenen ishalin en önemli nedenleri arasında yer almaktadır (Aytuğ ve ark. 1990). Özellikle dışkı ile yüksek miktarda kist saçılımına bağlı olarak gerek genç hayvanların gerekse de çevrenin önemli ölçüde kontamine olmasına neden olmaktadır (Gökçe ve ark. 2010). Özellikle çiftliklerde çalışan insanlar göz önüne alındığında hastalığın zoonotik önemi de göz ardı edilemez ölçüde olduğu görülmektedir (Radostits ve ark. 2007). Giardiasis' in sağaltımında dimetridazole, albendazol, nitazoxanide ve metronidazol gibi ajanların kullanımı beşeri ve veteriner hekimlikte bilinmektedir (Aytuğ ve ark. 1990, Baljer ve Wieler 1989, Hall ve ark. 1996, Bilal 2005).

Giardiasis'e bağlı hastalıkların şekillendiği vakalarda etkenin özellikle bağırsak lümenine zarar verdiği bu sebeple bozulan bağırsak lümeni mimarisinin malabsorbsiyon gibi olumsuz sonuçların da şekillenmesine neden olduğu bilinmektedir (Lunn ve Northrop 1992, Read ve ark. 2002). Hastalığa bağlı olarak gelişen villöz atrofi ve mukozal hasar ile giardianın neden olduğu sekrotorik değişimlere bağlı olarak glukoz, sodyum gibi önemli moleküllerin emiliminde eksiklikleri beraberinde getirmekte ve sıvı kayıplarına bağlı olarak da hastaların genel durumlarında önemli derecede bozulmalar görülmektedir (Buret 2008). Farklı helmint enfestasyonlarına bağlı ishal şekillenen çocuklarda yapılan bir araştırmada Giardiasis ile enfekte olan çocukların vitamin D düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılıkların olmadığı ancak söz konusu değişimler ele alındığında çocukların bir örnek yaş gruplarında bulunmaması ve coğrafî ve beslenme açısından farklılıklarına bağlı olarak söz konusu durumun şekillendiği bildirilmektedir (Voloc 2015). Okul yaşındaki çocuklarda ise *Giardia lamblia* infeksiyonlarının vitamin A emiliminde ve karaciğerdeki vitamin A depolarında da azalmalara neden olduğu ortaya konulmaktadır (Astiazaran-Garcia ve ark. 2010). Söz konusu çalışmada *Giardia duodenalis* ile doğal enfekte kuzularda serum 25-hidroksi vitamin D₃ seviyelerindeki değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL YÖNTEM

Hayvan materyali ve örneklerin alınması

Araştırmanın hayvan materyalini Aydın bölgesinde bulunan yaşları 15-35 günlük arasında her iki cinsiyetten sakız ırkı *Giardia duodenalis* ile doğal enfekte (n=30), komşu işletmede yer alan benzer yaş aralığındaki aynı ırktan (n=15) ve her iki cinsiyetten anamnez ve klinik bulgular ışığında sağlıklı olduğu belirlenen kuzulardan seçildi. Enfekte ve sağlıklı

hayvanlardan dışkı örnekleri rektal tuşe yöntemi ile steril dışkı kaplarının içerisine, serum 25-hidroksi vitamin D₃ seviyelerinin belirlenmesi amacı ile de tekniğine uygun olarak *v.jugularis* aracılığı ile toplamda 5 ml olacak şekilde kan örnekleri serum tüplerine alındı.

Dışkı analizleri ve serum 25-hidroksi vitamin D₃ seviyelerinin ölçümü

Hasta ve sağlıklı hayvanlardan toplanan dışkı örneklerinin giardia enfeksiyonunun varlığının belirlenmesinde direkt mikroskopik bakı yöntemi kullanılmıştır.

Kan örnekleri alım işleminin hemen akabinde laboratuvara taşınarak 15 dakika 3000 dv/dk olacak şekilde santrifüj edildikten sonra serum örnekleri ependorflara aktarıldı. Elde edilen serum örnekleri Savant marka flöresan immunoassay cihazı yardımı ile söz konusu cihazın 25-OH-D₃ test kitleri kullanılarak (Florasana immuno kromatografi, Beijing Savant Biotechnology Co., Ltd.) üretici firmanın belirttiği şekilde ölçümleri gerçekleştirildi.

İstatistiksel analiz

Araştırma sonucunda sağlıklı ve *Giardia duodenalis* ile doğal enfekte kuzuların serum 25-hidroksi vitamin D₃ seviyeleri tanımlayıcı istatistikleri gerçekleştirildikten sonra ortalama ve standart hata olacak şekilde belirtildi. Hasta ve sağlıklı kuzuların ortalama değerlerinin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testinden yararlanılarak p<0.05 değeri istatistiksel anlamlı kabul edildi. Tüm istatistiksel analizlerde SPSS 22.0 programı kullanıldı.

BULGULAR

Klinik olarak ishal semptomu gösteren tüm kuzuların dışkı analizleri sonucunda *Giardia duodenalis* ile enfekte olduğu belirlendi. Örneklem işleminin ardından hastalara yapılan ve etkinliği kuzularda *Giardia* enfeksiyonlarında ortaya konulan (Ural ve ark. 2014) seknidazol kullanılarak tedavi başarılı bir şekilde sağlandı. Sağlıklı ve doğal enfekte hayvanlara ait 25-hidroksi vitamin D₃ seviyeleri arasında istatistiksel anlamlı değişimlerin olduğu belirlendi (Tablo 1).

Tablo 1. Sağlıklı ve doğal enfekte hayvanlara ait 25-hidroksi vitamin D₃ seviyeleri

Table 1. 25-hydroxy vitamin D₃ levels of healthy and natural infected animals

	X ± SD	P değeri
Sağlıklı kontrol (n=15)	54.72 ± 17,40	p<0.05
<i>Giardia duodenalis</i> (n=30)	20.64 ± 5.94	

TARTIŞMA

Giardia duodenalis hayvan ve insanlar arasında çapraz enfeksiyona yol açabilir. Bu bağlamda evcil ve çiftlik hayvanlarının dışkı ve su kaynaklı bulaş temelden ziyade insanları enfekte edebilme potansiyelinin de bulunduğu bilinmektedir (Gaydos 1998, Robertson 2009). Özellikle koyun çiftliklerinin su kaynaklarını enfekte etmesine bağlı olarak giardiosis salgınları açısından potansiyel tehlikesinin bulunduğu bilinmekte ve insanlarda görülen enfeksiyonlar açısından rezervuar olabilecekleri görüşü de bulunmaktadır (Geurden ve ark. 2011, Robertson 2009). Bu sebeple hastalığın subklinik yada klinik olarak seyir ettiği hemen tüm hayvanlarda bulaş kaynağının ortadan kaldırılması amacı ile hastaların sağaltımlarının yapılması önerilmektedir (Geurden ve ark. 2011). Çalışmamızda yer alan ve *Giardia duodenalis* ile doğal enfekte kuzuların tamamı seknidazol 10 mg/kg dozunda iki doz olacak şekilde sağaltılmış ve olası klinik iyileşmenin yanında hastaların insan sağlığı açısından da rezervuar teşkil etmemesi sağlanmıştır.

Giardia duodenalis ile birlikte şekillenen ishalin aralıklı ve mukoz bir karakterde olduğu bu durumun malbabsorbsiyonu da tetiklediği villöz atrofinin de işin içerisine karışması ile hastalardaki klinik tablonun ağırlaştığı bildirilmektedir (Lunn ve Northrop 1992, Read ve ark. 2002, Ruest ve ark. 1997). Söz konusu bu patolojik değişimlerin özellikle genç hayvanlarda canlı ağırlık artışında meydana gelen azalmalar ve yemden yararlanma oranının düşmesi ile ekonomik yansımalarının da olduğu görülmektedir (Olson ve ark. 1995, Sweeney ve ark. 2010). Gastrointestinal bariyerin hastalıklara bağlı olarak bozulması ve özellikle insanlardaki enflamatorik bağırsak hastalığında olduğu gibi değişmesinin Vitamin D seviyelerinde azalmalara neden olduğunu (Dignass 2001), vitamin D yetmezliği oluşabilecek coğrafyalarda yaşayan insanların Vitamin D seviyelerindeki azlığa paralel olarak enflamatorik bağırsak hastalığına yatkınlığının arttığını bildiren araştırmalar mevcuttur (Lim ve ark. 2005, Loftus 2004). *Giardia* enfeksiyonlarının benzer şekilde vitamin B12 seviyelerinde de azalmalara neden olduğu Giardiosis geçiren hastalarda Vitamin B12 düzeylerinin sağlıklı insanlara göre de düşük olduğu bildirilmektedir (Cordingley ve Crawford 1986). Çalışmamızda *Giardia duodenalis* ile doğal enfekte olan hayvanlarda 25-hidroksi vitamin D₃ seviyelerinin sağlıklı hayvanlara göre istatistiksel anlamlı düşük olduğu belirlendi. Benzer şekilde akut ishallerde çocuklarda vitamin A, D ve çinko seviyelerinin azaldığı araştırma (Talachian ve ark. 2015) ile benzerlik göstermektedir. Özellikle gastrointestinal mukozal bariyerin sağlamlığının kontrol altında tutulması için önemli bir role sahip olan vitamin D seviyelerinin geçirgenliği bozulmuş olan bağırsak segmentlerinde de onarıcı etkilerinin bulunduğu bilinmektedir (Kong ve ark. 2008). Söz konusu araştırmada vitamin D ve giardiosis arasındaki ilişkinin

tam olarak belirlenebilmesi için vitamin D seviyelerinin takibinin ishal oluşmadan (mukozal bariyer hasarı) önce oluştuğunda ishal süresince ve sağaltım sonrası gibi zamanlarda da gerçekleştirilmesi gerektiği ve araştırmanın bu yönü ile kısıtlandığı kanaatindeyiz. Beşerideki araştırmalarda göz önüne alındığında özellikle çocuklarda ishal klinik semptomu ve ishale neden olan etiyolojik nedenlerin ayrımlarının da yapıldığı ve vitamin D seviyelerinin ölçüldüğü araştırmaların sınırlı sayıda olduğu görülmektedir. Vitamin D seviyelerindeki değişimlerin birçok hastalık ile ilişkisinin olabileceği özellikle de enflamasyonla ilişkili olduğu söylenmektedir. Vitamin D reseptörlerinin periferik kandaki enflamatorik hücrelerde de bulunması bu ilişkiyi doğrulamaktadır. Özellikle T hücrelerinin cevabının azalma eğilimine girmesi Vitamin D seviyelerindeki azalmalar ile ilişkilendirilmekte ve T hücre yanıtını doğrudan etkilediği ifade edilmektedir (Nicholson ve ark. 2012, Ulitsky ve ark. 2011). Söz konusu etkiyi vitamin D'nin interferon gama ve interlökin-2 salınımını baskılayarak Th1 hücrelerinin çoğalmasını durdurarak gerçekleştirdiği bilinmektedir (Lim ve ark. 2005, Nerich ve ark. 2011). Vitamin D seviyelerinde meydana gelen değişimlere bağlı olarak proinflatuar sitokinlerin sentezindeki azalmaların vitamin D ile enfeksiyonlar arasındaki ilişkiyi açıklar niteliktedir (Hassan ve ark. 2013). Çalışmamızda bulunan *Giardia duodenalis* ile enfekte hayvanların serum vitamin D seviyelerinin sağlıklı hayvanlara göre düşüklüğü göz önüne alındığında söz konusu enfeksiyonun oluştuğu inflamatuvar cevap üzerinden vitamin D seviyelerinde azalmaların olabileceği söylenebilir.

Araştırmanın sonucunda *Giardia duodenalis* ile doğal enfekte kuzularda vitamin D seviyelerindeki azalmaların intestinal mukozal bariyerdeki hasardan etkilenebileceği düşünüldü. *Giardia duodenalis* ile enfekte olan hayvanların değerlendirildiği longitudinal araştırmalar ile Vitamin D ile hastalık arasındaki ilişkinin ortaya konulabileceği daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Astiazaran-Garcia H, Lopez-Teros V, Valencia ME, Vazquez-Ortiz F, Sotelo-Cruz N, Quihui-Cota L.** Giardia lamblia infection and its implications for vitamin A liver stores in school children. *Annals of Nutrition and Metabolism.* 2010;57(3-4): 228-233.
- Aytuğ CN, Alaçam E, Özkoç Ü, Yalçın BC.** Koyun-Keçi Hastalıkları ve Yetiştiriciliği, İstanbul: Teknografik Matbaası, 1990; 212-213.
- Baljer G, Wieler L. Ätiologie.** Pathogenese und Immunprophylaxe der neonatalen Durchfallerkrankungen der Kälber. *Vet* 1989; 5: 18-26.
- Bilal T.** Koyun-Keçilerin İç Hastalıkları ve Beslenmesi. İstanbul Üniversitesi Yayın No: 4593, İstanbul: Veteriner Fakültesi Yayın No: 24, 2005.

- Buret AG.** Pathophysiology of enteric infections with *Giardia duodenalis*. *Parasite*. 2008; 15(3):261-265.
- Cordingley FT, Crawford GPM.** *Giardia* infection causes vitamin B12 deficiency. *Australian and New Zealand journal of medicine*. 1986; 16(1): 78-79.
- Dignass AU.** Mechanisms and modulation of intestinal epithelial repair. *Inflamm Bowel Dis*. 2001;7: 68 –77.
- Gaydos J.** *Giardia* and Wildlife South Coop Wild Dis St Br 1998; 14: 2.
- Geurden T, Pohleb H, Sarrea C, Dreesena L, Vercruysea J, Claerebouta E.** The efficacy of a treatment with fenbendazole against an experimental *Giardia duodenalis* infection in lambs. *Small Rum Res*. 2011; 96(2-3):211-215.
- Geurden T, Vercruysee J, Claerebout E.** Is giardia a significant pathogen in production animals?. *Exp Parasitol*. 2009; 124: 98-106.
- Gökçe E, Ünver A, Erdoğan HM.** İshalli neonatal kuzularda enterik patojenlerin belirlenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*.2010; 16: 717-722.
- Hall GA, Jones PW, Morgan JH.** Calf diarrhoea. *Bovine Medicine*, In: Andrews AH. (Editors). *Diseases and Husbandry of Cattle*. Berlin: Blackwell, 1996; 154-180.
- Hassan V, Hassan S, Seyed-Javad P, Ahmad K, Asieh H, Maryam S, Farid F, Siavash A.** Association Between Serum 25 (OH) Vitamin D Concentrations and Inflammatory Bowel Diseases (IBDs) Activity. *Medical Journal of Malaysia*. 2013; 68(1): 34-38.
- Kong J, Zhang Z, Musch MW, Ning G, Sun J, Hart J, Bissonnette M, Li YC.** Novel role of the vitamin D receptor in maintaining the integrity of the intestinal mucosal barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008; 294(1):208-16.
- Lim WC, Hanauer SB, Li YC.** Mechanisms of Disease: Vitamin D and Inflammatory Bowel Disease. *Nature Clinical Practice Gastroenterology and Hepatology*.2005; 2(2):103-111.
- Lim WC, Hanauer SB, Li YC.** Mechanisms of disease: vitamin D and inflammatory bowel disease. *Nature Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. 2005;2: 308 –315.
- Loftus EV Jr.** Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*. 2004; 126: 1504 –1517.
- Lunn B, Northrop A.** Symposium on 'parasitism and protein and energy metabolism and animals'. The impact of gastrointestinal parasites on protein-energy malnutrition in man. *Proc Nutr Soc*.1992; 52: 101–111.
- Nerich V, Jantchou P, Boutron-Ruault MC, Monnet E, Weill A, Vanbockstael V, Auleley GR, Balaire C, Dubost P, Rican S, Allemand H, Carbonnel F.** Low Exposure to Sunlight is a Risk Factor for Crohn's Disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2011; 33(8): 940-945.
- Nicholson I, Dalzell AM, El-Matary W.** Vitamin D as a Therapy for Colitis: A Systematic Review. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2012; 6(4): 405-411.
- Olson ME, McAllister TA, Deselliers L, Morck DW, Cheng KJ, Buret AG, Ceri H.** Effects of Giardiasis on production in a domestic ruminant (lamb) model. *Am J Vet Res*. 1995; 56: 1470-1474.
- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD.** *Veterinary Medicine*, 10th Edition, Philadelphia, USA: Saunders Elsevier Ltd, 2007.
- Read C, Walters J, Robertson I, Thompson R.** Correlation between genotype of *Giardia duodenalis* and diarrhoea. *Int J Parasitol*. 2002; 32: 229–231.
- Robertson LJ.** *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in sheep and goats: A review of the potential for transmission to humans via environmental contamination. *Epidemiol Infect*. 2009; 137:913-921.
- Ruest N, Couture Y, Faubert GM, Girard C.** Morphological changes in the jejunum of calves naturally infected with *giardia* spp. And *Cryptosporidium* spp. *Vet Parasitol*. 1997; 69: 177-186.
- Sweeney JP, Jacobson C, Robertson I, Ryan UM.** Carcass productivity consequences of trichostrongylid and protozoan parasites in Merino x Suffolk prime lambs in the South West of Western Australia. Conference proceedings: Melbourne, Australia: The International Congress of parasitology (ICOPA); 2010.
- Talachian E, Bidari A, Noorbakhsh S, Tabatabaei A, Salari F.** Serum levels of vitamins A and D, and zinc in children with acute diarrhea: A cross-sectional study. *Medical journal of the Islamic Republic of Iran*. 2015; 29: 200-207.
- Ulitsky A, Ananthakrishnan AN, Naik A, Skaros S, Zadvornova Y, Binion DG, Issa M.** Vitamin D Deficiency in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 2011; 35(3): 308-316.
- Ural K, Aysul N, Voyvoda H, Ulutas B, Aldemir OS, Eren H.** Single dose of secnidazole treatment against naturally occurring *Giardia duodenalis* infection in Sakiz lambs. *Revista MVZ Córdoba*. 2014; 19(1): 4023-4032.
- Voloc A.** Study on Vitamin D and nutritional status in children and adolescents with helminthiasis in central Moldova. *Curierul medical*. 2015; 58(6): 22-29.