

Mardin'deki Su Kaynaklarında *Cryptosporidium parvum*'un Araştırılması

Investigation of *Cryptosporidium parvum* in Water Resources in Mardin Province

Volkan Çuhadar*^{ORCID}, Mustafa Şengül*^{ORCID}, Ergun Mete*^{ORCID}

* Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Denizli, Türkiye

Atf/Cite as: Çuhadar V, Şengül M, Mete E. Mardin'deki su kaynaklarında *Cryptosporidium parvum*'un araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2023;53(3):156-162.

Öz

Amaç: *Cryptosporidium* spp. içme sularıyla bulaşabilmektedir ve bu önemli bir halk sağlığı sorunudur. Çalışmamızda, Mardin'deki su kaynaklarında *Cryptosporidium* spp. varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Nisan 2022- Mayıs 2022 tarihleri arasında Mardin ilinin sekiz ilçesindeki çeşme, kuyu, gölet, dere, havuz gibi çeşitli su kaynaklarından toplanan 56 adet su örneği elde edilmiştir. Örneklerde *Cryptosporidium* türlerini saptamak amacıyla kinyoun asit-fast boyama, karbol fuksin boyama ve safranin metilen mavisile boyama yöntemleri kullanılmıştır. Karbol fuksin boyama yönteminde zemin boyası olarak karbol fuksin, malaşit yeşili ve safranin kullanılmıştır. Boyama yöntemlerinin yanında *Cryptosporidium* spp. saptanması için hızlı kaset test kullanılmıştır. Ookistlerin 45, 70 ve 100°C'de boyanma özellikleri incelenmiştir.

Bulgular: Değerlendirilen su numunelerinin 25'i (%44.64) dere suyu, 14'ü (%25.0) çeşme suyu, 13'ü (%23.22) kuyu suyu ve ikişer tanesi (%3.57) gölet ve havuz suyundan oluşmaktadır. Derelerin beşinde *Cryptosporidium* spp. ookisti bulunmuştur. Kinyoun asit-fast boyama ile beş (%8.92), negatif boyamanın üç modifikasyonunda ve safranin-metilen mavisile boyamada ise iki örnekte (%3.57) *Cryptosporidium* spp. ookisti saptanmıştır. %95'lik etil alkol, saf metanol, potasyum dikromat içindeki örneklerden yapılan boyamalarda ise, potasyum dikromat içindeki örneklerin malaşit yeşili ile negatif boyama yapılanları dışında aynı sayıda pozitiflik elde edilmiştir. Nusaybin ve Yeşilli ilçesinden iki örnekte (%3.57) hızlı kaset testte pozitiflik bulunmuştur. Ookistlerin 45, 70 ve 100°C'de zemin son boya rengini almaya başladıkları gözlenmiştir.

Sonuç: Mardin ili çevresel su kaynaklarında *Cryptosporidium* spp. kontaminasyonuna rastlanmıştır. En uygun boyamanın kinyoun asit-fast boyama yöntemi olduğu anlaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Cryptosporidium* spp., Hızlı kaset test, Kinyoun Asit-Fast boyama, Mardin

ABSTRACT

Objective: *Cryptosporidium* spp. can be transmitted through drinking water, which is an important public health problem. The aim of our study is to investigate the presence of *Cryptosporidium* spp. in water resources in Mardin Province.

Methods: Between April 2022 and May 2022, 56 water samples were collected from various water sources such as fountains, wells, ponds, streams and pools in eight districts of Mardin province. Kinyoun acid-fast staining, carbon fuchsin staining and safranin methylene blue staining methods were used to detect *Cryptosporidium* species. Carbol fuchsin, malachite green and safranin were used as the ground dyes in carbol fuchsin staining method. In addition, a rapid diagnostic test was used for *Cryptosporidium* spp. detection. The staining properties of oocysts at 45, 70 and 100°C were investigated, as well.

Results: Of the evaluated water samples, 25 (44.64%) were stream water, 14 (25%) were tap water, 13 (23.22%) were well water, and two (3.57%) were of the pond and pool. *Cryptosporidium* spp. oocyst was detected in five of the stream water samples. *Cryptosporidium* spp. oocysts were detected in five (8.92%) samples by Kinyoun's acid-fast staining, in two samples (3.57%) by three modifications of negative staining and by safranin-methylene blue staining. Staining of the samples in 95% ethyl alcohol, pure methanol, and potassium dichromate revealed equal rates of positivity, except for the samples in potassium dichromate with malachite green negative staining. In the rapid cassette test, positivity was detected in two samples (3.57%) from Nusaybin and Yeşilli districts. It was found that the oocysts started to take the final point color at 45, 70 and 100°C.

Conclusion: *Cryptosporidium* contamination has been found in environmental water resources of Mardin province. The most suitable staining method was detected as Kinyoun's acid-fast staining method.

Keywords: *Cryptosporidium* spp., Rapid cassette test, Kinyoun Acid-Fast staining, Mardin

Alındığı tarih / Received:

20.01.2023 / 20.January.2023

Kabul tarihi / Accepted:

02.05.2023 / 02.May.2023

Yayın tarihi / Publication date:

01.09.2023 / 01.September.2023

ORCID Kayıtları

V. Çuhadar 0000-0002-7556-2839

M. Şengül 0000-0003-2271-2618

E. Mete 0000-0002-0854-2440

✉ macmsengul@gmail.com

GİRİŞ

Sanayileşme, yerleşkelerin nüfuslarının artması, yaşanan kirlilik, iklim değişikliği, oluşan seller ve kuraklık, insanların kaliteli ve yeterli su kaynaklarına ulaşmasını zorlaştırmaktadır. Dünyada ve Türkiye'de su kaynaklarının kirlenmesi ve azalması bulaşıcı hastalıkların yayılmasının önünü açmaktadır. Çevresel kirlilik sonucu bulaşıcı hastalıklar önemli birer halk sağlığı sorunu haline almaktadır. Toplumsal salgınlara neden olabilen bu hastalıklardan paraziter etkenler arasında protozoonların özellikle de *Cryptosporidium* spp.'un yer aldığı belirtilmiştir⁽¹⁾.

Günümüzde *Cryptosporidium* spp.'nin 152'den fazlası memeli olmak üzere 200'ü aşkın hayvanda 40'dan fazla tür ve genotipi belirlenmiştir^(2,3). *Cryptosporidium parvum* ve *Cryptosporidium hominis* türleri insan enfeksiyonlarının %90'ından sorumludur⁽⁴⁾. *Cryptosporidium* spp.'un neden olduğu enfeksiyon 'kriptosporidiyoz' olarak adlandırılmaktadır⁽⁵⁾.

Cryptosporidium spp. kontamine su ve yiyeceklerin tüketilmesiyle ya da enfekte hayvan ve insanlarla yakın temas ile fekal-oral yolla bulaşmaktadır⁽⁶⁾. Gastrointestinal epitel hücrelerini enfekte eden *Cryptosporidium* spp., bağışıklık sistemi sağlam kişilerde distal ince bağırsaklarda ve proksimal kolonda yoğunlaşırken bağışıklık yetmezliği bulunan vakalarda bağırsak ve solunum yolu gibi vücudun diğer bölgelerine yayılabilir⁽⁴⁾. Bağırsak yerleşiminde kolerada görülen ishale benzer bol miktarda sulu ishal, daha nadir olarak baş ve kas ağrıları, hafif ateş, halsizlik, kuvvet ve iştah kayıpları yaşanabilmektedir⁽⁷⁾. Hastalığın tanısı modifiye Ziehl-Neelsen asit fast sıcak boyama yöntemi, kinyoun asit fast soğuk boyama yöntemi, Heine'nin "negatif boyama tekniği", floresan bazlı auramin fenol, safranin metilen mavisi boyama gibi farklı boyama yöntemlerinin yanı sıra immunokromatografik test, enzim bağlantılı immünosorbent testi (ELISA) gibi antijenik yöntemler ile yapılabilmektedir^(8,9). Ayrıca polimeraz zincir reaksiyon (PCR), floresan in situ hibridizasyon (FISH) gibi moleküler yöntemlerle

etkenin tiplendirilmesi yapılabilmektedir.

Cryptosporidium spp., içme sularıyla bulaşabilmektedir ve bu önemli bir halk sağlığı sorunudur. Çalışmamızda, Mardin ilinde geçimin çoğunluğunun tarım ve hayvancılıkla olması ve bazı kesimlerde arıtma ve kanalizasyon sistemine erişimde sıkıntı olması nedeniyle Mardin'deki su kaynaklarında *Cryptosporidium* spp. varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma TC Tarım ve Orman Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü (04.03.2020/ sayı:21264211-288.04-E.773666) araştırma izin onayı ile gerçekleştirilmiştir.

Nisan 2022- Mayıs 2022 tarihleri arasında Mardin ilinin 8 ilçesindeki çeşme, kuyu, gölet, dere, havuz gibi çeşitli su kaynaklarından toplanan 56 adet su örneği elde edilmiştir. Örneklerinin 16'sı Artuklu, sekizer tanesi Savur ve Kızıltepe, dokuzu Nusaybin, beşi Mazıdağı, dördü Ömerli, üçer tanesi Derik ve Yeşilli ilçesinden toplanmıştır.

Örnekler Mardin İl Sağlık Müdürlüğü Halk Sağlığı Laboratuvarı'nda üçlü vakum pompalı filtrasyon cihazıyla filtre edilmiştir. Üzerinde süzülen partiküllerin yer aldığı membran filtrelerin bulunduğu 20'şer ml'lik örnekler halinde falkon tüplerine alınmıştır. Falkon tüplere alınan örnekler Artuklu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda vortekslelendikten sonra 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Dip çökelti üçer ml'lik üç farklı ependorf tüpüne alınmıştır. Örnekler sırasıyla %95'lik etil alkol, saf metanol ve 10 mM %2.5'lik potasyum dikromat ile uygun hacme tamamlanmıştır ve +4°C'de saklanmıştır. Membran filtre bulunan 20 ml'lik falkon tüpler ise, üzerine 2 ml %70'lik etil alkol konarak +4°C'de saklanmıştır⁽¹⁰⁾.

Örnekler kinyoun asit-fast boyama yöntemi, karbol fuksin boyama yöntemi ve safranin metilen mavisile boyanmıştır. Kinyoun asit-fast boyama yöntemi ile boyanan örnekler mavi zemin üzerinde kırmızı-pembe renkte yuvarlak ya da oval 4-6 µm boyutundaysa *Cryptosporidium* spp. ookisti olarak kabul edilmiştir. Karbol fuksin boyama yönteminde zemin boyası olarak karbol fuksin, malaşit yeşili ve safranin kullanılmıştır. Renksiz, yuvarlak ya da oval 4-6 µm boyutundaki yapılar ve safranin metilen mavisile boyamada mavi zemin üzerinde turuncu renkteki yapılar *Cryptosporidium* spp. ookisti olarak kabul edilmiştir.

Boyama yöntemlerinin yanında *Cryptosporidium* spp. antijenlerini kalitatif olarak immünokromatografik yöntemle tanımlayan, *Cryptosporidium* hızlı kaset testi kiti (Microcult *Cryptosporidium* Test Cassette, Hangzhou AllTestbiotech Co.,Ltd, China) üreticinin tavsiyelerine uygun olarak çalışılmıştır.

Ookistlerin farklı sıcaklıklarda boyanma özelliklerini incelemek için 1985'de kullanılan Anderson yöntemi modifiye edilmiştir. %95'lik etil alkol, saf metanol ve potasyum dikromat eklenmemiş örnekler 30 dakika farklı ısılarda (45°C, 70°C ve 100°C) bırakılmıştır⁽¹¹⁾.

BULGULAR

Çalışma kapsamında 56 su numunesi değerlendirilmiştir. Bu numunelerin 25'i (%44.64) dere suyu, 14'ü (%25.0) çeşme suyu, 13'ü (%23.22) kuyu suyu ve ikişer tanesi (%3.57) gölet ve havuz sularından oluşmaktadır. Derelerin beşinde *Cryptosporidium* spp. ookisti saptanmıştır (Tablo 1). Örnek toplama alanları ve *Cryptosporidium* spp. saptanan yerler Resim 1'de görülmektedir.

Kinyoun asit-fast boyama ile beş (%8.92), negatif boyamanın üç modifikasyonunda ve safranin-metilen mavisile boyamada ise iki örnekte (%3.57) *Cryptosporidium* spp. ookisti saptanmıştır. Farklı boya yöntemleri ile saptanan *Cryptosporidium* spp. ookistleri Resim 2'de gösterilmiştir.

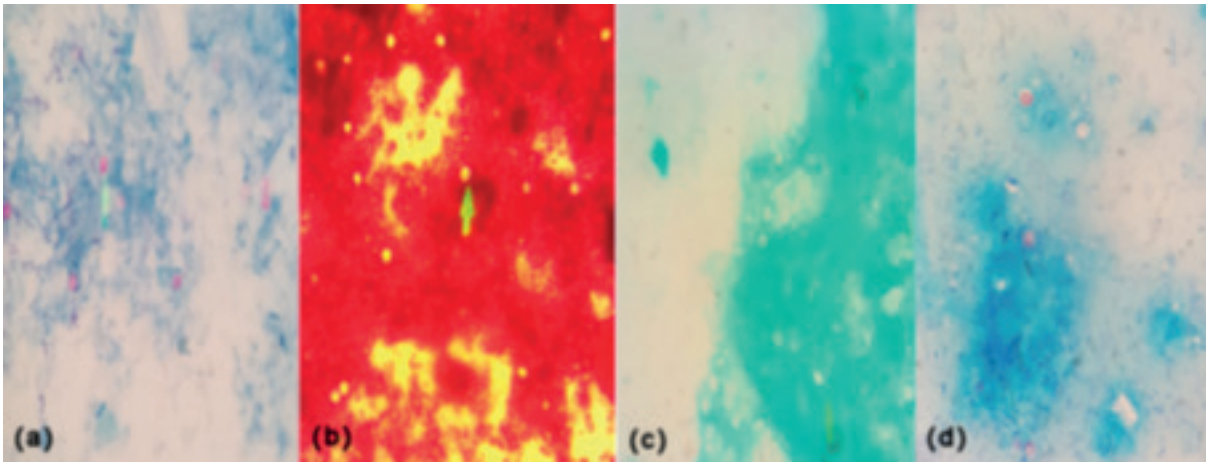
Farklı saklama solüsyonları içindeki örneklerden yapılan boyamalarda ise, potasyum dikromat içindeki örneklerin malaşit yeşili ile negatif boyama yapılanları dışında aynı sayıda pozitiflik elde edilmiştir. Potasyum dikromat içindeki örneklerin malaşit yeşili ile negatif boyama yapılanlarında ise üç örnekte *Cryptosporidium* spp. ookisti saptanmıştır (Tablo 2).

Tablo 1. Numune alınan ve *Cryptosporidium* spp. ookisti saptanan yerler

		Pozitif Su Numunesi Sayısı/Su Numunesi Alınan Su Kaynağı					Toplam
		Kuyu	Dere	Çeşme	Havuz	Gölet	
Su numunelerinin alındığı istasyonlar	Kızıltepe	0/1	1/4	0/2	0/1	-	1/8
	Artuklu	0/8	1/4	0/4	-	-	1/16
	Mazıdağı	-	0/2	0/1	0/1	0/1	0/5
	Derik	-	-	0/3	-	-	0/3
	Savur	0/1	0/6	0/1	-	-	0/8
	Ömerli	0/1	0/1	0/2	-	-	0/4
	Yeşilli	-	1/2	0/1	-	-	1/3
	Nusaybin	0/2	2/6	-	-	0/1	2/9
	Toplam	0/13	5/25	0/14	0/2	0/2	5/56



Resim 1. Örnek toplama alanları ve *Cryptosporidium spp.* saptanan (Kırmızı) ve saptanmayan (Mavi) bölgeler

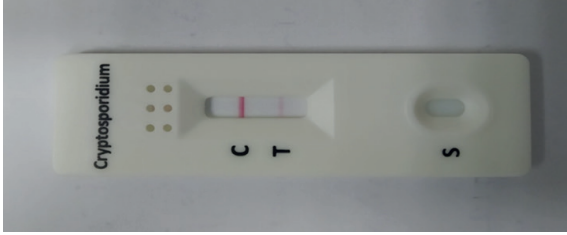


Resim 2. *Cryptosporidium sp.* ookistlerinin (a) Kinyoun asit-fast boyama, (b) Safranin negatif boyama, (c) Malaşit yeşili negatif boyama ve (d) Safranin metilen mavisi boyama yöntemleri ile görünümü

Tablo 2. Kullanılan yöntemler ve *Cryptosporidium spp.* ookist saptama sonuçları

Yöntem	Saf (işlenmemiş) örnek	%95 etil alkol içindeki örnek	Saf metanol içindeki örnek	Potasyum dikromat içindeki örnek
Kinyoun asit-fast boyama	5	5	5	5
Malaşit yeşili negatif boyama	2	2	2	3
Karbol fuksin negatif boyama	2	2	2	2
Safranin negatif boyama	2	2	2	2
Safranin metilen mavisi boyama	2	2	2	2
Hızlı kaset test	2	2	2	2

Hızlı kaset test ile *Cryptosporidium* spp. pozitifliği Resim 3'de verilmektedir.



Resim 3. Hızlı kaset test ile *Cryptosporidium* spp. pozitifliği

Ookistlerin farklı sıcaklıklarda 45°C, 70°C ve 100°C'de zemin son boya rengini almaya başladıkları bulunmuştur (Tablo 3).

TARTIŞMA

Çalışmamızda farklı boyama yöntemleri ve hızlı kart test ile Mardin'deki çeşitli su kaynaklarında *Cryptosporidium* spp. varlığı değerlendirilmiştir. Dünyada en sık su kaynaklı enfeksiyona neden olan protozoon *Cryptosporidium* spp.'dir. Sağlıklı insanlarda ishallerine neden olmakla beraber özellikle bağışıklığı baskılanmış kişilerde ve küçük çocuklarda ağır ishal tablolarına neden olabilmektedir. Sporodik olgular yanında toplumsal salgınlara yol açabilmektedir⁽⁹⁾.

Dünyada çevresel su örneklerinde 1995-2017 yılları arasında yapılan çalışmalarda *Cryptosporidium* spp. prevalansı %11.4-%100 arasında bildirilmiştir⁽¹²⁾. 1946 ile 2016 yılları arasında Dünya'da su kaynaklı 936 protozoa hastalık salgını rapor edilmiştir. *Cryptosporidium* spp. içme suyu sistemlerinden

geçen ookistleriyle bu salgınlara %58'inden sorumlu bulunmuştur⁽¹³⁾. İçme suyuyla ilgili en büyük kriptosporidiyoz salgını 1993'te Milwaukee, Wisconsin'de (ABD) kaydedilmiş ve tahmini 403.000 kişiyi, 4.400 hastaneye yatış ve 100'den fazla ölüme etkilediği bildirilmiştir⁽¹⁴⁾. Aynı şekilde ülkemizde yapılan çalışmalar incelendiğinde prevalansın %1.13-%99.2 arasında olduğu görülmektedir⁽¹⁵⁻²¹⁾.

Mevcut çalışmalar su örneklerinde *Cryptosporidium* spp. prevalansının coğrafik bölgeye, mevsimlere, patojenin saptanması için kullanılan yöntemlere ve hatta kullanılan boyaların farklılığına bağlı olarak değiştiğini göstermektedir⁽¹⁵⁻²¹⁾.

Çalışmamızda *Cryptosporidium* spp. prevalansı %8.9 olarak bulunmuştur. Üç farklı boyama yöntemi ve farklı modifikasyonlarda boyama yöntemleri kullanılarak *Cryptosporidium* spp. ookisti saptanmıştır. Prevalansın Çiçek ve ark.⁽¹⁵⁾, Yalçın ve ark.⁽¹⁸⁾, Özçelik ve ark.⁽¹⁹⁾ çalışmalarından fazla olmasının Mardin ilinde tarım ve hayvancılığın fazla olması, bazı bölgelerde ise arıtma ve kanalizasyon sistemlerine erişimde sıkıntı bulunması ayrıca iklim koşullarından kaynaklanmış olabileceği düşüncesindedir.

Mersin ili ve çevresinde 44 içme, 35 deniz, 19 atık ve iki kuyu suyundan alınan 100 örnekte içme suyunda beş, kuyu suyunda bir, deniz suyunda bir ve atık sularda dört örnekte *Cryptosporidium* spp. ookisti bildirilmiştir. *Cryptosporidium* spp. ookisti görülme oranı %11 olarak bulunmuştur. Tanı için kullanılan boyama yöntemleri Auramin O boyama yöntemi ve soğuk modifiye kinyon aside dirençli boyama yöntemidir⁽¹⁷⁾.

Tablo 3. Ookistlerin farklı sıcaklıklarda boyanma özelliklerindeki farklılıklar

Yöntem	45°C de 30 dakika inkübasyon	70°C / 100°C 30 dakika inkübasyon
Kinyon asit fast boyama	Mavi zeminde pembe boyalı ookistler	İçeride mavi boyalı yuvarlak kist yapıları (çoğu kistler), az sayıda hafif pembe boyalı kistler
Malaşit yeşili ile negatif boyama	Yeşil boyalı ookistler	Yeşil – mavi boyalı kist yapıları
Karbol fuksin ile negatif boyama	Kahverengi boyalı ookistler	Koyu kırmızı-kahverengi boyalı yapılar
Safranin ile negatif boyama	Kırmızı-turuncu ookistler	Turuncu boyalı yapılar
Safranin – metilen mavisi boyama	Mavi zeminde turuncu boyalı ookistler	Koyu mavi boyalı yapılar

Van ili ve ilçelerinde çevresel ve şebeke içme sularının incelendiği bir çalışmada, *Cryptosporidium* spp. oookist görülme prevalansı %1.13 olarak bulunmuştur. Örnekler modifiye asit-fast yöntemiyle boyanmıştır⁽¹⁵⁾. Erzincan ilinde de 140 farklı noktadan toplanan örnekler PCR ve döngü-aracılı izotermal amplifikasyon (LAMP) tekniği *Cryptosporidium* spp. varlığı açısından değerlendirilmiştir. PCR ve LAMP teknikleri ile sırasıyla %4.3 ve %6.4 oranlarında pozitiflik bulunmuştur⁽¹⁸⁾.

Sivas ilçe ve köylerinde modifiye asit fast boyama yöntemi ve PCR ile 92 su örneğinin incelendiği çalışmada boyama yöntemiyle patojen saptanamazken, PCR ile iki örnekte *Cryptosporidium* spp. raporlanmıştır⁽¹⁹⁾.

Samsun ilinde çevresel ve içme sularının değerlendirildiği bir çalışmada örnekler kinyonun asit fast, modifiye trichrome ve trichrome boyaları ile boyanmıştır. *Cryptosporidium* spp. görülme oranı %57.9 olarak bildirilmiştir⁽²⁰⁾. Aynı ilde sadece çevresel su örneklerinin değerlendirildiği bir başka çalışmada prevalansın %83.3 olduğu görülmüştür. *Cryptosporidium* spp. kistleri IFA yöntemi ile saptanmıştır. IFA yöntemi nested-PCR tekniği ile doğrulanmıştır⁽²¹⁾.

Cryptosporidium spp.'nin saptanması için kullanılan hızlı tanı testlerinde duyarlılık ve özgüllük farklılık göstermektedir. Dört hızlı tanı testinin, ELISA, mikroskopik ve PCR'ın karşılaştırıldığı bir çalışmada; mikroskopik (boyama yöntemleri kullanılarak) tanının, çoğu hızlı tanı testine göre daha duyarlı ve özgül olduğu görülmüştür⁽²²⁾. Mikroskopiyi değerlendiren kişinin deneyiminin bu konuda önemli olduğu düşünülmektedir

Çalışmamızın kısıtlılıklarında; su örneklerinde *Cryptosporidium* spp. için özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek olan moleküler yöntemlerin yapılamaması yer almaktadır. Daha ileri çalışmalarda yapılması planlanmıştır.

Sonuç olarak; Mardin ili çevresel su kaynaklarında *Cryptosporidium* spp. kontaminasyonuna rastlanmıştır. En uygun boyama yönteminin kinyon asit-fast boyama yöntemi olduğu anlaşılmıştır.

Araştırma İzin Onayı: Bu araştırma, TC Tarım ve Orman Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü (04.03.2020/ sayı:21264211-288.04-E.773666) araştırma izin onayı ile gerçekleştirilmiştir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Research Approval: This research was conducted with the approval of TC Ministry of Agriculture and Forestry, General Directorate of Nature Conservation and National Parks (03.04.2020; 21264211-288.04-E.773666).

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

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Ryan U, Hijawi N, Xiao L. Foodborne cryptosporidiosis. Int J Parasitol. 2018;48(1):1-12. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2017.09.004>
2. Ryan U, Zahedi A, Feng Y, Xiao L. An update on zoonotic *Cryptosporidium* species and genotypes in humans. Animals (Basel). 2021;11(11):3307. <https://doi.org/10.3390/ani11113307>
3. Luka G. On-chip-based biosensors and point-of-care devices for label/PCR-free detection of *Cryptosporidium* [dissertation]. Mechanical Engineering, The University of British Columbia, 2021. <https://doi.org/10.14288/1.0395958>
4. Cacciò SM, Putignani L. Epidemiology of Human Cryptosporidiosis. In: Cacciò SM, Widmer G (Eds.) *Cryptosporidium: parasite and disease*. Springer, Viyena, 2014;43-79. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1562-6_2
5. Ryan ET, Hill DR, Solomon T, Aronson NE, Endy TP. Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases. 10th Ed. London: Elsevier; 2020.
6. Pinto P, Riberio CA, Kváč M, Tsaousis AD. *Cryptosporidium*. In: de Souza W. Lifecycles of Pathogenic Protists in Humans. Springer Nature Switzerland AG; 2022:332-71.

7. Abeledo-Lameiro MJ, Polo-López MI, Ares-Mazás E, Gómez-Couso H. Inactivation of the waterborne pathogen *Cryptosporidium parvum* by photo-Fenton process under natural solar conditions. *Appl Catal B-Environ*. 2019;253:341-7.
<https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2019.04.049>
8. Adeyemo FE, Singh G, Reddy P, Stenström TA. Methods for the detection of *Cryptosporidium* and *Giardia*: From microscopy to nucleic acid based tools in clinical and environmental regimes. *Acta Trop*. 2018;184:15-28.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.01.011>
9. Xiao L, Griffiths JK. Cryptosporidiosis. In: Ryan ET, Hill DR, Solomon T, Aronson NE, Endy TP, editors. *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*. 10th Ed. London: Elsevier; 2020:712-8.
10. Hagos B, Molestina RE. A simple alcohol-based method of oocyst inactivation for use in the development of detection assays for *Cryptosporidium*. *Food Waterborne Parasitol*. 2022;27:e00163.
<https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2022.e00163>
11. Anderson BC. Moist heat inactivation of *Cryptosporidium* sp. *Am J Public Health*. 1985;75(12):1433-4.
<https://doi.org/10.2105/ajph.75.12.1433>
12. Zahedi A, Monis P, Deere D, Ryan U. Wastewater-based epidemiology-surveillance and early detection of waterborne pathogens with a focus on SARS-CoV-2, *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Parasitol Res*. 2021;120(12):4167-88.
<https://doi.org/10.1007/s00436-020-07023-5>
13. Toledo RDS, Martins FDC, Ferreira FP, et al. *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in feces and water and the associated exposure factors on dairy farms. *PLoS One* 2017;12(4):e0175311.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175311>
14. Mac Kenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, et al. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N Engl J Med*. 1994;331(3):161-7.
<https://doi.org/10.1056/NEJM199407213310304>
15. Çiçek M, Körkoca H, Akkaş Ö. Van ili içme sularının *Cryptosporidium* spp. oocistleri yönünden incelenmesi. *Turk Hij Den Biyol Derg*. 2011;68(3):122-6.
16. Sağlam T, Düşen S, Yağcı MA, Yağcı A. Eğirdir Gölü'nde (Isparta) *Cryptosporidium* spp. ve *Giardia* spp. varlığının araştırılması. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg*. 2021;51(4):363-7.
<https://doi.org/10.5222/TMCD.2021.87004>
17. Çeber K, Aslan G, Otağ F, et al. Mersin ilinde içme suyu, kullanma suyu, atık su ve deniz sularında *Cryptosporidium* spp. oocistlerinin araştırılması. *Türkiye Parazit Derg*. 2005;29(4):224-8.
18. Yalçın S, Doğan NY. Erzincan ili farklı su kaynaklarından *Cryptosporidium* spp'nin moleküler yöntemlerle tespit edilmesi. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 2019;12(1):1-13.
<https://doi.org/10.18185/erzifbed.342568>
19. Özçelik S, Malatyalı E, Alim A, Değerli S. The investigation of *Cryptosporidium* spp. in water samples by PCR. *Cumhuriyet Medical J*. 2015;37(3):182-7.
<https://doi.org/10.7197/cmj.v37i3.5000120833>
20. Karaman Ü, Seferoğlu KZ, Ayaz O, Demirel EE. Samsun il ve ilçelerinden alınan çevresel sularda parazitlerin varlığı. *Turkiye Parazit Derg*. 2017;41(1):19-21.
<https://doi.org/10.5152/tpd.2017.3574>
21. Kolören Z, Karaman Ü. Samsun İli Terme ve Kocaman Irmağı'ndan alınan çevresel su örneklerinde su kökenli parazitlerin tespit edilmesi. *Akademik Ziraat Dergisi*. 2017;6(2):177-82.
<https://doi.org/10.29278/azd.371077>
22. Van den Bossche D, Cnops L, Verschueren J, Van Esbroeck M. Comparison of four rapid diagnostic tests, ELISA, microscopy and PCR for the detection of *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp. and *Entamoeba histolytica* in feces. *J Microbiol Methods*. 2015;110:78-84.
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.01.016>