

# *Giardia duodenalis* ile Enfekte Buzağılarda Ayuverdik Bitki Olan Kurkumin ile Enema Sağaltımı: Kohort Araştırma

## Enema Treatment with the Ayurvedic Herb Curcumin in Calves Infected with *Giardia duodenalis*: Cohort Study

<sup>1b</sup> Kerem URAL<sup>a</sup>, <sup>1b</sup> Hasan ERDOĞAN<sup>a</sup>, <sup>1b</sup> Deniz ALIÇ URAL<sup>b</sup>, <sup>1b</sup> Serdar PAŞA<sup>a</sup>, <sup>1b</sup> Songül ERDOĞAN<sup>a</sup>,  
<sup>1b</sup> Adnan AYAN<sup>c</sup>, <sup>1b</sup> Mehmet GÜLTEKİN<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları ABD, Aydın, Türkiye

<sup>b</sup>Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fakülte Çiftliği, Aydın, Türkiye

<sup>c</sup>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Bölümü, Van, Türkiye

**ÖZET Amaç:** Farklı birçok hastalıkta giderek artan kurkumin kullanımına dair veriler göz önüne alındığında, bu saha çalışmasının amacı, giyardiyaşlı buzağılarda enema (proktolizis) ile kurkuminin terapötik etkinliğinin araştırılmasıdır. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya her iki cinsiyette olan, 27-60 günlük yaştaki *Giardia duodenalis* ile doğal enfekte buzağılar dâhil edildi. Tanı: a) Hızlı ELISA test kiti, b) Mikroskopik ve öncelikli parazitolojik kontrol, c) Asemblaj tayiniyle birlikte Nested Polimeraz Zincir Reaksiyonu analiziyle yapıldı. Giyardiyaşlı ve ishelli buzağılar Grup I (2 g/buzağı/gün kurkumin, rektal yolla, 10 gün süreyle) ya da Grup II (herhangi bir ilaç uygulaması yapılmayana kontrol) olmak üzere rastgele 2 gruba ayrıldı. Enema kurkuminin terapötik etkinliği 0., 3., 7. ve 10. günlerde rektal yoldan toplanan dışkı örneklerinin mikroskopik incelemesiyle belirlendi. **Bulgular:** Gruplar arası kontrol ve sağaltım karşılaştırması 3, 7 ve 10. günlerdeki %58,17 (p=0,125), %99,68 (p=0,001) ve %100 (p=0,001) azalma şeklinde görüldü. Kurkumin enema hiçbir yan etki olmaksızın güvenle uygulanmıştır. **Sonuç:** Sonuç olarak buzağılarda giyardiyaşlı sağaltımında enema kurkuminin kullanımının güvenli, kolay ve ekonomik (makul fiyatlanan ve ucuz) olduğu sonucuna varmak yanlış olmayacaktır. Saha uygulamasındaki bu doz rejimi (bu çalışmada model olarak enema kullanıldı) zorlayıcı olmayıp diğer doz planlaması ilerleyen çalışmamızın amacı olacaktır. Enema modeliyle kurkumin kullanımının giyardiyaşlı buzağılardaki antiparazitik etkinliği ile kist saçılımında belirgin azalma sağladığı öne sürülebilir.

**ABSTRACT Objective:** Given the growing cumulative evidence of curcumin usage for several diseases, the purpose of this field study was to detect the therapeutic efficacy of curcumin enema (proctolysis) in calves with giardiasis. **Material and Methods:** A total of 20 calves naturally infected with *Giardia duodenalis* at the age of 27 to 60 days, of both sexes were enrolled into the study. The diagnosis was based on a) Rapid diagnostic ELISA test kits, b) Microscopic and prior parasitological check and c) Nested Polymerase Chain Reaction analysis along with assemblage detection. Calves with diarrhea and giardiasis were randomly assigned into 2 groups (n=10), Group I (2 g/calf/day curcumin via rectal route for 10 days) and Group II (were stable as the control without any drug prescription). The therapeutic efficacy of curcumin enema was determined by microscopical examination of faecal samples collected rectally on days 0, 3, 7 and 10. **Results:** Intra-group comparison of control and treatment calves revealed 58.17% (p=0.125), 99.68% (p=0.001) and 100% (p=0.001) reduction on days 3, 7, and 10, respectively. Curcumin enema was safely used without any side effects. **Conclusion:** In conclusion, it should not be unwise to draw conclusion that curcumin enema could be safely, easily and economically (reasonably priced and cheap) used for the treatment of giardiasis among calves. At this dose regimen field application (enema used as a model in this study) was not compelling, in which other dose scheduling should be the aim of our next study. The enema model suggested that curcumin prescription caused effective reduction in cyst excretion with antiparasitic efficacy among calves giardiasis.

**Anahtar Kelimeler:** Buzağı; giyardiyaşlı; kurkumin; zerdeçal

**Keywords:** Calves; giardiasis; curcumin; turmeric

**Correspondence:** Songül ERDOĞAN  
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları ABD, Aydın, Türkiye  
**E-mail:** songultp.09@gmail.com



Peer review under responsibility of Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences.

**Received:** 28 Jun 2022

**Received in revised form:** 08 Sep 2022

**Accepted:** 12 Sep 2022

**Available online:** 16 Sep 2022

2146-8850 / Copyright © 2022 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Dünya çapında görülebilen önemli parazitler hastalıklardan birisi de giyardiya enfeksiyonlarıdır. Ekstraselüler bir parazit olan giyardiya, intestinal enfeksiyonlardan sorumlu ve özellikle dehidrasyon, malabsorpsiyon ve/veya kronik diyareye neden olan bir etmendir.<sup>1-3</sup> Bu çalışma ekibi konuya dair önemli çalışmalar gerçekleştirmiş, yine zoonotik potansiyeli olan A3 assemblajını (alt genotip) Aydın yöresi buzağularında yüksek prevalans ile tespit etmişlerdir.<sup>4,5</sup> Benzer şekilde Kırıkkale yöresinde bulunan kuzularda da giyardiya enfeksiyonunun önemli bir sorun teşkil ettiği ve assemblaj araştırmalarının küçük ruminantların da halk sağlığı açısından risk unsuru olmasına bağlı, ilerleyen araştırmalarda incelenmesi gerektiği vurgulanmaktadır.<sup>6</sup> Çalışma ekibinin farklı dönemlerde farklı araştırmacılarla beraber giyardiya enfeksiyonuna yönelik yayınları vardır.<sup>2,7-10</sup>

Çalışmamızın çıkış noktasında ele alınan konuya ait araştırma sorusuna ilişkin değerlendirmede, makale boyunca verilen literatürün eleştirel bir değerlendirmenin yanı sıra nitel veya nicel verilerle beraber hipotezimizin öneminden dem vurularak birlikte vurgulanacaktır. Önceden giyardiya enfeksiyonuna karşı farelerde in vivo ya da in vitro ortamda, ilaveten balantidiya enfeksiyonuna karşı denenmiş olan *Curcuma longa rhizome*'un polifenolik bileşeni olan kurkuminin antioksidan, antiinflamatuvar, immünomodülatör etkinliklerinin yanı sıra antiprotozoal etkinliğinden yararlanılarak: a) Ayurvedik bitkisel unsurlardan kurkuminin giyardiya enfeksiyonuna karşı antiparazitik bir seçenek olabilir mi? sorusuna buzağularda yanıt aramak, b) Zoonotik potansiyel bulunabilen (assemblaj sub-genotip tayini ile çalışmamızda açıklığa kavuşturulacaktır) giyardiya enfeksiyonunun sağaltımında kullanılan ve yan etkileri iyi bilinen moleküler ajanların aksine "basit reçete (bu çalışmada Ayurvedik bitki olan kurkumin) ilaç sağaltımına galip gelebilir mi?" düşüncemizi netliğe kavuşturarak, belki de ileride sağaltım protokollerinde değişimin ilaç ve yan etkileri olan moleküler ajanlar yerine doğru, akılcı ve rasyonel şekilde bitkisel unsurlardan (fitonutrient, yem katkı maddesi, bitkisel destek ve/veya baharatlar) yararlanılıp, yararlanılamayacağını belirlemesi sağlanabilecektir. Çalışmalar proje öncesi planlanırken ya da bitirildikten sonra güçlü ve zayıf

yanları tartışılır. Burada giyardiya enfeksiyonunun standart moleküller var denilebilir. Ancak antigiyardiya enfeksiyonunda kullanılan ilaçların hemen tamamında kısa ya da uzun vadede yan etkiler görülebilmektedir. Bu çalışmamızda, in vivo ve/veya antigiyardiya enfeksiyonu buzağular dışında saptanmış olan kurkumin, yeni moleküler hedef olarak doğal bir seçenek olabilecektir.

Bu çalışmada, giyardiya enfeksiyonunun Ayurvedik bitkisel unsurun (kurkumin) karşılaştırmalı kullanılması ile giyardiya enfeksiyonuna aralıklı kist saçılımının ve/veya kist gelişiminin (proje sonuçlandırıldıktan sonra dahi, olgular intravital dönemde ise monitörize edilmeye en az 1 yıl devam edilecek, elde edilecek longitudinal sonuçlar ilave veri olarak paylaşılacak) engellenmesi ve sağaltımın doğal yollarla sağlanması (yan etkiye neden olmaksızın) amaçlanmaktadır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Gerçekleştirilen araştırmanın hayvan materyali Aydın ili, Efeler ilçesi ve köylerinde bulunan ishal ve benzeri gastrointestinal bulguları mevcut, dişi ve erkeklerden olmak üzere çeşitli yaş gruplarında olan 20 buzağı oluşturdu. Çalışma öncesi doğal enfeksiyon modeli benimsendiğinden ve yöremizde önceki çalışma ile verilerimiz doğrultusunda, enfeksiyon odakları bilindiğinden hayvanların yaş grupları randomize tespite dayandırılmıştır.<sup>2,4-7</sup>

Buzağular hasta sahipleri bilgilendirilerek gönüllük esasıyla çalışma kapsamına dâhil edilmiş olup gerekli etik kurul belgesi temin edilmiştir. Çalışmanın etik kurul onayı 64583101/2020/129 sayılı (tarih: 17 Aralık 2020) ile Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Üniversitesi Hayvan Deneysel Yerele Etik Kurulu tarafından alınmıştır.

## MİKROSKOBİK VE ÖN PARAZİTOLOJİK MUAYENE

Ön muayene dâhilinde ishalleri buzağulardan (farklı işletmelerden) ön tanı için hızlı hasta başı ELISA prensibi ile çalışan ve mikrolitrede 125 kist ve üzerini belirleyebilen test kitleri ile yoklamada bulunuldu. Bu amaçla bölgede enfeksiyonun prevalansı önceki çalışmamız doğrultusunda hayvanların rektumlarından steril eldiven aracılığıyla alınan dışkı

numuneleri, dışkı kaplarına aktararak ilgili analizler gerçekleştirilene kadar uygun koşullarda saklandı.<sup>5</sup>

### MİKROSKOBİK İNCELEME VE KİST SAYISI

Çalışma öncesi giyardiya kist ve trofozoitlerinin belirlenmesi amacıyla şüpheli buzağı dışkılarından en az 2 ince yayma froti hazırlanarak natif yöntemlerle muayene edildi. İlaveten alınan örnekler potasyum dikromat çözeltisi ile inceleme yapana kadar +4°C'de muhafaza edildi. Doymuş çinko sülfat flotasyon (ZnSO<sub>4</sub>; %33) yöntemi kullanılarak ve giyardiya kistleri yönünden mikroskop altında 400x büyütme ile incelendi. Bu sayede kist sayımları yapılabildi (Resim 1). Bu aşamada uzman parazitolog aktif rol aldı.

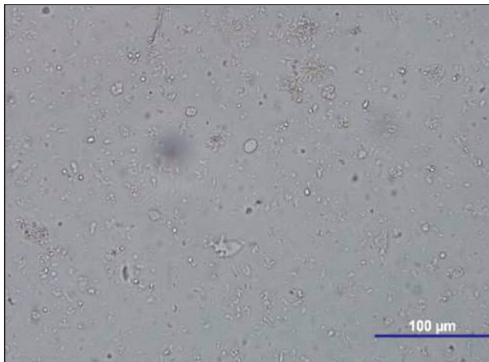
Kist sayılarının yüzde değişimleri Geurden ve ark. tarafından belirtilen formül ile  $100 \times [1 - (\text{Kurkumin grubu sağaltım sonrası kist sayısı} \times \text{Kontrol grubu sağaltım öncesi kist sayısı}) / (\text{Kurkumin grubu sağaltım öncesi kist sayısı} \times \text{Kontrol grubu sağaltım sonrası kist sayısı})]$  formülü hesaplandı.<sup>11</sup>

### DNA EKSTRAKSİYONU

Buzağuların dışkı numunesinden DNA ekstraksiyonu için QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak kit protokolü takip edildi. Elde edilen DNA'ların bir sonraki aşamalara kadar 20°C'de muhafazası sağlandı. Bu aşamada uzman parazitolog aktif rol aldı.

### NESTED POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

Cacciò ve ark. tarafından tanımlanan (G7 F5'-AAGCCCGACGACCTCACCCGCAGTGC-3'



RESİM 1: Giyardiya kistin mikroskopik görüntüsü.

forward ve G759R 5'-GAGGCCGCCCTGGATCTTC GAGACGAC-3' reverse) primerleri kullanılarak 753 bp'lik beta-giardin gen bölgesinin amplifikasyonu yapıldı.<sup>12</sup> 25 mL mastermix içerisinde 10 pmol forward ve reverse primer, 200 µM dNTPs, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1U Taq Polymerase ve 10X PCR buffer, Nükleaz Free Water ve 100 ng DNA kullanıldı. Reaksiyon 95°C'de 15 dk'lık ön denaturasyonu takiben, her siklus denaturasyon (95°C'de 30 sn), bağlanma (60°C'de 30 sn) ve uzama (72°C'de 1 dk) aşamalarından oluşmak üzere 35 siklus ve 72°C'de 7 dk'lık son uzama olacak şekilde gerçekleştirildi. Ardından Lalle ve ark. tarafından tanımlanan (BG1F 5'-GAACGAGATCGAGGTCCG-3' forward ve BG2R 5'-CTCGACGAGTTCGTGTT-3' reverse) primerleri kullanılarak 511 bp'lik beta-giardin gen bölgesinin amplifikasyonu yapıldı.<sup>13</sup> Bunun için 25 mikrolitre mastermix içerisinde 10 pmol forward ve reverse primer, 200 µM dNTPs, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1U Taq Polymerase ve 10X PCR buffer, Nükleaz Free Water ve 100 ng DNA kullanıldı. Reaksiyon 95°C'de 15 dk'lık ön denaturasyonu takiben, her siklus denaturasyon (95°C'de 30 sn), bağlanma (55°C'de 30 sn) ve uzama (72°C'de 1 dk) aşamalarından oluşmak üzere 35 siklus ve 72°C'de 7 dk'lık son uzama olacak şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] ürünleri Safe-T-Stain ile boyanarak %1,5 agaroz jelde görüntüleri elde edildi. Bu aşamada uzman parazitolog aktif rol aldı.

### DEMOGRAFİK VERİLER VE ANALİZLERE AİT METODOLOJİ

*Giardia duodenalis* ile enfekte hayvanların anamnez, yaş, cinsiyet, bulunduğu konum, muayene ve laboratuvar bulguları kayıt altına alındı. Tüm olgulardan sağaltım öncesi hematolojik ve serum biyokimyasal değerlendirme amacıyla, sağaltım öncesi (0. gün) ve sağaltım sonrası (10. gün) kan örnekleri alındı. Antikoagülanlı (etilen diamin tetra asetik asit) örneklerden kan sayımları yapılarak lökosit, trombosit, eritrosit sayıları ile hematokrit, hemoglobin değerler incelendi. Ayrıca serum örneklerinin elde edilmesi için alınan örnekler 3.000 devirde 10 dk santrifüj edilerek serumları çıkartıldı ve sonrasında otoanalizörde üre, kreatinin, alanin

transaminaz ve aspartat aminotransferaz düzeyleri ticari test kitleri ile ölçüldü.

## GRUPLANDIRMA İLE SAĞALTIM PROTOKOLLERİ

*G. duodenalis* ile enfekte buzağular her grupta n=10 olacak şekilde tesadüfen 2 ayrı gruba ayrılarak I. gruba zerdeçal (kurkumin) rektal yolla 2 g/buzağı/gün olmak üzere 10 gün uygulanırken, II. gruptaki olgulara karşılaştırmalı değerlendirmede herhangi bir ilaç ya da yem katkı maddesi uygulanmayarak bırakıldı (Resim 2). Yine de çalışma tamamlanır tamamlanmaz buzağulara seknidazol verilerek sağaltım gerçekleştirildi. Giyardiyazis yönünden natif muayene sonrası pozitif bulunan buzağularda ishale birlikte seyreden diğer hastalıklar yönünden klinik muayene ve gerekli laboratuvar testleri aracılığıyla ayırt edildikten sonra elde edilen dışkı örneklerine sağaltım öncesi (0. gün) ile sağaltım sonrası (3, 7, 10. günlerde) giyardiya etkenleri yönünden dışkı bakışı yapılarak sağaltımın etkinliği araştırıldı. Parazitolojik ve klinik kür için ilaç etkinliğinin değerlendirilmesinde Varady ve ark. tarafından tanımlanan ve aşağıda belirtilen formül kullanıldı:<sup>11,14</sup>

Sağaltım öncesi kist sayısı/1 g dışkı (kPg)-Sağaltım sonrası kPg $\times$ 100

Sağaltım öncesi kPg.

Olgularda incelenen sağaltım öncesi ve sonrası değişkenlerin değerlendirilmesinde olası istatistiksel farklılığının belirlenmesi için uygun istatistiksel metot kullanıldı.

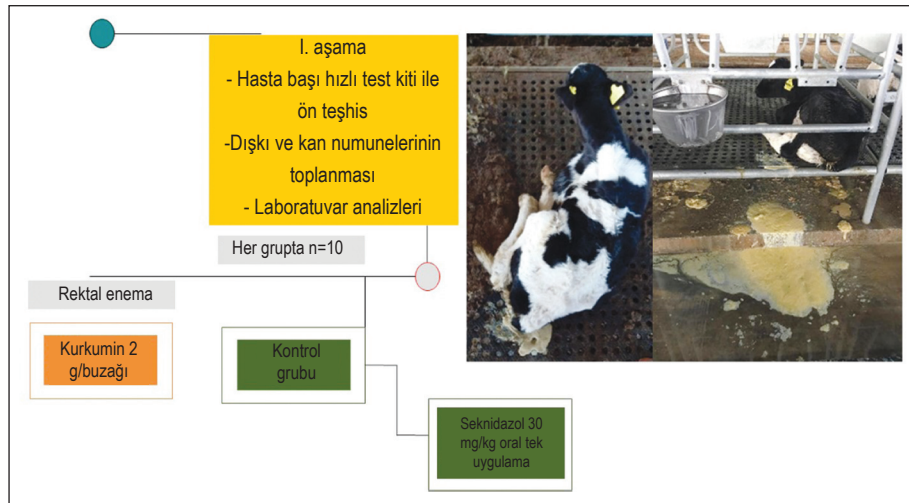
Çalışmamızda kullanılacak kurkumin saf formda, standardize etken madde içerecek şekilde özel müteşebbisten temin edildi.

## İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Kist sayılarından elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri SPSS 22.0 (IBM SPSS for Windows, ver.22, ABD) programı aracılığı ile gerçekleştirildi. Bu kapsamda verilerin geometrik ortalama ve standart hata üzerinden tanımlayıcı istatistiksel analizler gerçekleştirilerek tablo hâlinde sunuldu. Verilerin dağılımların normal olmadığı Shapiro-Wilk testi ile ortaya konulduktan sonra nonparametrik testlerden yararlanıldı. Tablolarda geometrik ortalama ve standart hata şeklinde sunulan parametrelerin istatistiksel karşılaştırmaları aritmetik ortalamaları üzerinden gerçekleştirildi. Bu kapsamda belirli günlerde gruplar arasındaki farklılıklar Mann-Whitney U testi ile grupların kendi içerisinde günlere bağlı değişimleri de Friedman testi ile belirlendi. Tüm analiz işlemlerinde istatistik anlamlılık düzeyi p<%5 olarak alınmıştır.

## BULGULAR

Her 2 grupta çalışma kapsamını teşkil eden buzağuların tamamında diyare belirlendi. Hızlı test kitleri ile eş zamanlı dışkı örneklemelerinde yalnızca giyardiyazis mono-enfeksiyon odağı olarak belirlendi. Sağaltım grubunda yer alan buzağuların 3-



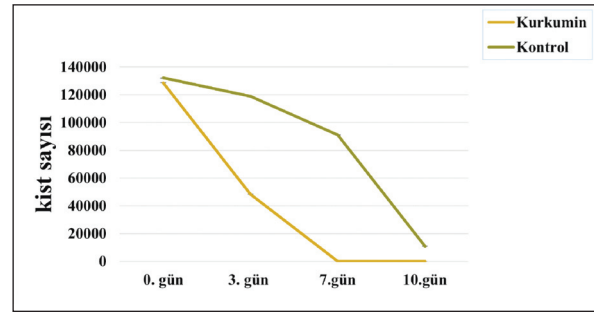
RESİM 2: Enfekte buzağularda gruplara göre kurkumin uygulanma şeması.

6. günler arasında dışkı kompozisyonlarının değiştiği, dışkı kıvamlarının normale döndüğü saptandı. Kontrol grubundaki hayvanlarda ise dışkı karakterinin seyrinde (yumuşak, sulu dışkılama ve ishal) 10 günlük periyotta pek fazla değişim görülmediği dikkat çekti. Sağaltım grubundaki buzağılarda kurkumin uygulamasına ilişkin herhangi bir yan etki saptanmadı. Gerek parazitolojik kür (dışkıda tekrarlayan mikroskopik muayene) gerekse klinik kür, kurkumin uygulanan buzağılarda belirgin olarak saptandı. Kontrol grubunda yer alan buzağular çalışma sonlandırılır sonlandırılmaz etik kurallar çerçevesinde standart antigiyardiyal sağaltıma (seknidazol 30 mg/kg oral tek dozda) tabi tutuldu. Hem kurkumin hem de kontrol gruplarındaki buzağılarda 0-10. günler arasındaki (belirlenen) kist atılımlarının geometrik ortalaması ve sağaltım sonrasında belirlenen kist atılımındaki azalma yüzdesi **Tablo 1**'de sunuldu. Kontrol ve sağaltım gruplarında 0. günde grup içi ya da gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiksel anlamlı farklılık belirlenmese de sağaltım gruplarında 0. gün ile 3., 7. ve 10. günlerde kist atılımında sırası ile %58,17 (p=0,125), %99,68 (p=0,001) ve %100 azalma (p=0,001) belirgindi (p=0,001).

Çizgisel (lineer) grafik ile çalışma takvimindeki günlere göre *G. duodenalis* kist sayılarındaki değişim **Şekil 1**'te sunuldu.

## ANALİZLERE AİT BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan buzağılara ait dışkı örneklerinin tamamında mikroskopik olarak kist tayini yapılmış, her bir PCR pozitif örneğe ait beta-giardin genlerinin DNA sekans analizinde giyardiya genotiplerine yönelik değerlendirmede bulunulmuştur. Beta-giardin Nested PCR analizleri ile tüm



**ŞEKİL 1:** *Giardia duodenalis* kist sayılarındaki değişimin çizgisel grafik ile gösterimi.

örneklerde A assemblajı ve sub-genotip A3 belirlendi (**Şekil 2**). Serum biyokimyasal ya da hematolojik değerlerde sağaltım öncesi ve sonrasında istatistiksel önemli bir değişiklik belirlenmedi.

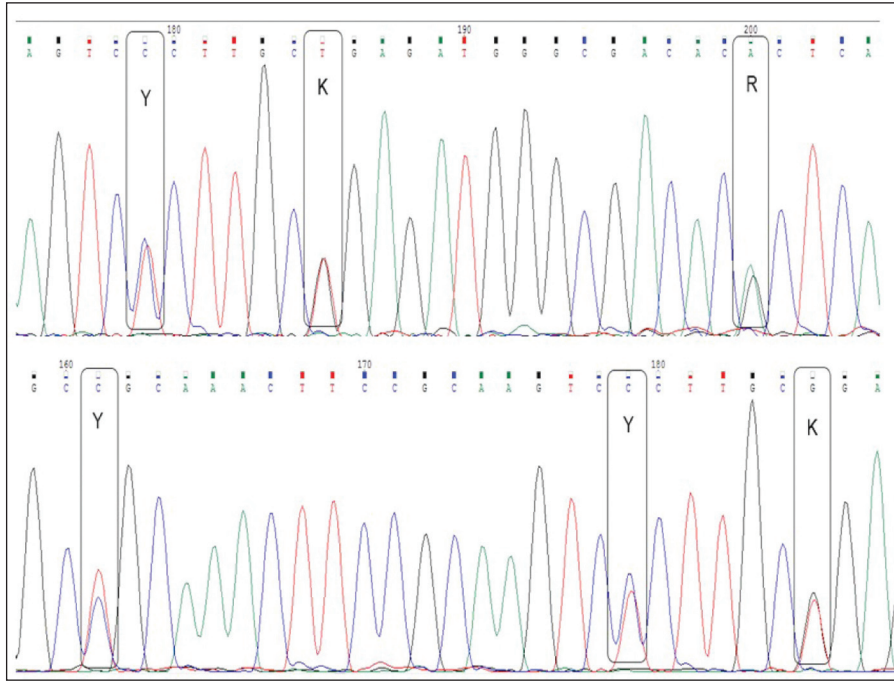
## TARTIŞMA

Giyardiyazis, buzağılarda yeterince (fazlaca sayıda olguda beliren) gözlemlenen ve veteriner hekimliğinde hâlen tam bilinmeyen (bilgi eksikliklerinin) ilgili bilgilerin aydınlatılıp, güncellenmesi ve detaylandırılmasına ihtiyaç duyulan bir protozer kaynaklı paraziter enfeksiyöz hastalıktır.<sup>2,4,7-10,15,16</sup> Zoonotik karakter taşıması oldukça önemlidir. Bu çalışmada, yukarıda sözü edilen yeni ve doğal sağaltıma ait verilerin elde edilmesi, analize edilecek tüm değişkenlerin saptanması bilimsel açıdan mevcut olan eksikliğin giderilmesini sağlayabilecektir. Şöyle ki elde ettiğimiz veriler Ayurvedik bitkilerin doğal sağaltım bileşeni olabileceği, basit reçetelerin (çalışma ekibimizin kullandığı doğal “baharat” olan kurkumin vb.) ilaç tedavisine galip gelebileceği (Tahıl Beyin kitabında Dr. Perlmutter’ın mühim verileri ışığında) konusunun açıklığa kavuşturulmasını sağlayabilecek,

**TABLO 1:** Günlere göre kist sayısındaki değişimler.

	Kist sayısı (XG±SH)			
	0. Gün	3. Gün	7. Gün	10. Gün
Kurkumin	128.620 ±67.364,08 <sup>a</sup>	48.415±39.844,83 <sup>b</sup>	120±81,38 <sup>b</sup>	0±0 <sup>b</sup>
Kontrol	132.145±53.571,21	118.919±43.049,35	91.135±42.829,59	10.889±3.995,15
p değeri	0,905	0,125	0,001	0,001
Kist sayısında azalma (%)	0,00	58,17	99,68	100

<sup>a,b</sup>Aynı satırda farklı harfler ile ifade edilen değerler istatistiksel olarak farklıdır; p değeri: Her bir gün için gruplar arasındaki farklılığı ifade eder; SH: Standart hata.



ŞEKİL 2: Beta-giardin Nested polimeraz zincir reaksiyonu analiz bulguları.

bu verilerin ispatı ile akademik yayınlarda yerini alabilecek, muhtemelen atıf edilecektir. Kanıta dayalı veriler veteriner iç hastalıkları alanında ancak bu şekilde kümülatif değere ulaşabilmektedir. Bir başka husus bilimsel çıktı olarak kurkuminin zayıf oral biyoyararlanımına karşın,<sup>22,23</sup> çalışmamızda uygulama yolu olarak rektal enema ile sağaltım örneklemesidir. Bu saha araştırması kapsamında kurkumin oral değil, rektal enema olarak uygulanmış, prebiyotik benzeri etki gösterebileceği (mide asiditesine maruz kalmadan, direkt bağırsağa verilecek) hedef intestinal dokuya ulaştırılabilmektedir. Güçlü terapötik etkinliğine rağmen oral biyoyararlanımı eleştiri konusu olan kurkuminin rektal enema ile uygulanıp, antigiardiyal etkinlik göstermesi muhtemelen sağaltım protokollerinde değişime neden olabilecek, belki de kanser ve/veya otoimmünite ya da kronik dejeneratif hastalıklarda rol model olarak veteriner hekimliğinden, tıp hekimliğine taşınabilecektir. Bu yönü ile akademik ve bilimsel niteliklere haizdir. Anılan sebeplerden ötürü bu çalışma ilgili laboratuvar analizleri eşliğinde farklı bir sağaltım seçeneği olarak doğal Ayurvedik nutrasötik destek ile gerçekleştirilerek, bu etkinliğinin belirlendiği ilk araştırma olma özelliğini taşımaktadır. Bu

özgünlüğü ile çalışmanın saygın indeksli dergilerde yayımlanabilme potansiyelinin yüksek olduğu ve literatürdeki önemli bir boşluğun doldurulacağı düşünülmektedir. Bu yönü ile bilimsel açıdan yaygın etki doğurabilecektir.

Bu araştırma gerek tıp hekimliği gerekse veteriner hekimlik alanlarında aynı paraziter etmenin (*G. duodenalis*) neden olduğu bir hastalık olan giyardiiazisin sağaltımına yönelik yeni bir katkı olarak doğal bir baharat ile etkinliğin belirlenmesi veteriner iç hastalıkları ve parazitoloji, özellikle de ilişkili immünoloji alanlarına önemli bir yenilik olabilir. Bu değerlendirmenin sağaltımda buzağılarda muhtemelen yurdumuzda ilk kez uygulanan rektal kurkumin, hastalığın terapötik detaylandırılmasını sağlayabilecektir. Zoonotik bir hastalığın bu çalışma genelinde sekans analizi, assemblaj tayini ile insanlara ne oranda geçebileceğinin de belirlenmiş olması (yan unsur) yine enfeksiyon haritasına bilimsel katkı sunabilir. Çalışmamızda beta-giardin Nested PCR analizleri ile tüm örneklemlerde A assemblajı ve subgenotip A3 belirlendi. Bu yönü ile yöremizde kontrol ve hijyen önlemlerinin alınması için yoğun çaba sarf etmekteyiz.

Söz konusu araştırmamızın öncelikli hedefi basit doğal bir yem katkı maddesi (bitkisel besin kaynağı) ya da Ayurvedik bitkisel unsur kurkuminin bilimsel (akademik), ticari (ileriye dönük geviş getiren hayvanlara yönelik ürün geliştirilmesi) ve ekonomik [oldukça ucuz (1 kg'ı 23 TL; çalışmamızda buzağı başına günlük 2 g'dan "gruplardan birisi" 10 günde 20 g kullanılmış olup; takriben buzağı başına maliyeti 0,46 TL olmuştur ki bu bedel herhangi bir moleküler ajanla kıyaslanamayacak kadar düşüktür)] moleküler ajanlara oranla çok daha basit şekilde temin/elde edilebilir, rafta yer alan ve uygun maliyetli/yan etkiye neden olmaksızın uygulanacak dozda ve yapısı nedeniyle getirilerinin ispatlanarak, katma değer yaratılmasıdır. Nitekim çalışmamızda istenilen hedeflere ulaşılmış olup istatistiksel verilerle ve klinik-parazitolojik küre açıklanabilir. Şöyle ki çalışmamızda kullanılan rektal kurkumin, uygulandığı sağaltım grubunda 0. gün ile 3., 7. ve 10. günlerde kist atılımında sırası ile %58,17 (p=0,125), %99,68 (p=0,001) ve %100 azalma (p=0,001) sağlamıştır. Klinik ve parazitolojik kür enema ile uygulama başarısı ile ilişkilendirilebilir.

Flagellalı protozoal etmen olan giyardiya etmenleri genel olarak ince bağırsakların mukozal yüzeyinde tutulum göstermekte (konakçı durumunda); fırçamsı kenarlara yapışarak besinsel bileşenleri emmekte ve ikili fizyonla çoğalmaktadır. Sıklıkla ince bağırsakların proksimal kısmında yaşayan giyardiya etmenlerinin trofozoitleri ince ya da kalın bağırsakta ankiste olur ve kistler yeni oluşturulan dışkıya geçer. Giyardiyaziste yaşam döngüsüne bakıldığında intraselüler aşama bulunmamaktadır. Prepatent süre 3-20 gündür.<sup>17,18</sup> Tam da bu noktada çalışmamızda dışkı analizlerinin neden 0-10. günler arasında tekrarlanarak yapıldığını destekler mahiyettedir. Bunun dışında rektal enema ile kalın bağırsağa verilen kurkuminin özellikle burada konuşlanan/parazitlenen trofozoitlere etkili olabileceği söylenebilir.

Buzağılarda kurkumin kullanımı ile koksidiyozise bağlı intestinal lezyonların azalması, antimikrobiyal aktivite, sığırlarda rumen florasında ve nitrojen metabolizmasındaki değişimler kurkuminin ince bağırsaklar hatta ön midelere dahi ulaştığının kanıtlarıdır.<sup>19-21</sup> Kurkuminin insan Caco-2

hücre serileri kullanılarak intestinal kanalda dağılımına ait permeabilite testleri göstermektedir ki; apikalden bazolaterale oldukça düşük (%0-20 arası) oral biyoyararlanım söz konusudur.<sup>22,23</sup> Yine diğer Caco-2 hücre serileri kullanılarak yapılan araştırmalarda her iki yönde de (apikalden bazolaterale, bazolateralinden apikale) belirgin katsayılar saptanmış, kurkuminin zayıf oral biyoyararlanımı kanıta dayalı olarak sunulmuştur. Bizim çalışmamızda daha önceden tespit edildiği ve çalışma taslağına yazıldığı hâli özenle seçilmiş kurkumin kullanıldı. Şöyle ki kurkumin konjugatlarının (glukuronid ve sülfatların) çoklu ilaç direnci ile ilişkili proteinler olan MRP1 ve MRP2 aracılığında aktif transport yolu ile enterositlerin dışına ulaştığı ve bununda kurkuminin zayıf biyoyararlanımından sorumlu tutulduğu bilinmektedir.<sup>24</sup> Çalışmamızda kullanılan saf kurkuminin konjugat içeriği/tutulumu olmadan, bilakis yine özgün değeri destekler mahiyette oral değil, rektal kullanım gerçekleştirildi. Bu metodoloji ileride rol model olarak kurkuminin biyoyararlanımının artmasına ve terapötik gücünde artışa neden olabilecektir.

Kurkuminin hayvanlarda biyoyararlanımına ait farmakokinetik modellemelerde bağırsaklar tarafından emilerek, muhtemelen enterohepatik resirkülasyona tabi tutulduğu bildirilmektedir.<sup>25</sup> İn vivo ortamda ratlara 2,4 mg/kg dozda oral yolla verilen radyoaktif kurkuminin %90'ından fazlası 72 saatte dışkı ile saçılmıştır.<sup>26</sup> İşaretlenmemiş (radyoaktif olmayan) kurkumin ise ratlara 1 g/kg dozda oral yolla verildiğinde plazma konsantrasyonu 5 ng/mL'den daha da az olmuştur. Yetmiş iki saat sonra kurkuminin %65-85'i dışkıda değişmeden kalmıştır. İlginç olarak ilk uygulamadan 3 saat sonra kurkuminin çok büyük bir kısmı ince bağırsaklarda bulunmuştur.<sup>26</sup> Çalışmamızda kullanılan ve rektal enema ile verilen kurkuminin ince bağırsaklara rahatlıkla ulaştığı ve muhtemelen antigiyardiyal etkinlik sağladığı ilgili literatür bilgisi ile desteklenebilir. Diğer yandan resmin tersten okunması hâlinde güncel gözlemsel verilerle Giyardiya etmenlerinin özellikle akut enfeksiyonda mikrobiyotayı bozduğu, giyardiyazis hastalığının homeostazis üzerindeki etkilerinin kalın bağırsağa

ulaştığı belirlenmiştir. Bu yönü ile değerlendirildiğinde, kurkuminin rektal enema ile verilmesi yine çalışmamızda klinik ve parazitolojik kürü sağlamada etkili olmuş olabilir. Şöyle ki bu kısım daha detaylı tartışılmalıdır. Ovariektomize ratlarda, östrojen eksikliğine ilişkin bağırsak mikrobiyomunda kaymalar, kurkumin ilavesi ile geri döndürülmüştür.<sup>27</sup> Ohno ve ark. kolitisli fare modelinde nanopartikül kurkumin bileşeni takviyesi ile immünolojik ve mikrobiyolojik değişim ile intestinal bariyer fonksiyonlarının iyileştiğini (düzeldiğini) ve intestinal inflamasyonun azaldığını tespit etmişlerdir.<sup>28</sup> Kurkumin takviyesinin bütirat üreten mikrobiyotada belirgin artışa neden olduğu göz önünde bulundurulursa, yukarıda bildirildiği gibi giyardiyazisin etkilerinin kalın bağırsakta hafifletilmesi ve mikrobiyomda muhtemel değişimin rektal enema sağlanması yine çalışmamızda kurkuminin etkinliğine delalet olabilir.<sup>29,30</sup>

Kurkuminin insanlarda dahi hâlen araştırılması gerekliliği bildirilmişken, ülseratif kolitisli insanlarda rektal enema olarak uygulanan kurkumin (topikal) hastalık aktivitesinde belirgin düşüşe neden olmuştur. İlgili çalışmada 140 mg kurkumin 20 mL su içerisinde çözdürüldükten sonra, günde bir kez 8 hafta boyunca rektal enema şeklinde uygulamaya tabi tutulmuştur.<sup>31</sup> Yine enema olarak uygulanan kurkumin (50 mg/kg/gün dozda 4 hafta) Wistar farelerinde kolonik epitelyumda nötral ve asidik musin içeriğinin korumuştur.<sup>32</sup> Tüm bu olumlu etkiler çalışmamız kapsamına alınan buzağılarda etkinlik sağlayan mekanizmalar arasında yer alabilir.

Kurkumin uygulamalarında en sıklıkla görülen yan etkilerin mide bulantısı ve abdominal distansiyon olduğu bilinmekte, anılan bu yan etkilerin kurkuminin rektal yolla (enema şeklinde) uygulanması ile özellikle de ülseratif kolitis hastalarında, aşılabileceği böylelikle de topikal uygulama sayesinde karaciğerde ilk geçiş metabolizmasının (ki kurkuminin oral preparatlarında bu yüksektir) baypas edileceği, önemli bir artı olarak bildirilmektedir.<sup>33</sup> Bu bilimsel tespit ve kanıtı dayalı veriler çalışmamızda anılan etkilerden ötürü rektal enema kurkumin uygulama yolunu seçmemize dayanak teşkil etmiştir. Rektal enema ile 2 g/buzağı

başına 10 gün süre ile uygulamamız yüzümüzü güldüren parazitolojik ve klinik kütle sonuçlanmıştır.

Konunun önemine dair bir başka husus kurkumin bileşiminin etkinliğidir. Turmerik içerisinde yer alan etken kurkumin, giyardiya etmenlerinin de içine alacak şekilde bazı protozoer ajanlara karşı antiparaziter etki göstermektedir. Anılan etkinin sebebi önceleri tam olarak aydınlığa kavuşturulamamış olsa da *in vitro* çalışmalar arttıkça veriler belirginleşmeye başlamıştır.<sup>1,3</sup> Giyardiya trofozoitlerinin (aktif dönemde, motil beslenme aşamasında) başlangıçta ince bağırsakta epitelyal hücrelere yapıştığı, replike olduğu ve bağırsak duvarında yer alan 3 farklı bariyerle (mikrobiyota, mukus tabakası ve epitelyal bariyer) etkileşime girdiği belirlenmiştir. Giyardiya trofozoitlerinin mikrovillilere bağlanabilmesi için yapışkan ventral disk, flagella hareketleri ve kimyasal bağı sağlayan proteinlere ihtiyacı vardır.<sup>1</sup> Giyardiya etmenleri komensal mikrobiyota ile besinler ve yapışma/ataçman lokalizasyonlarında yarışarak komensal mikrobiyotaya ait biyofilm tabakasını bozmakta, mukus üretimini azaltarak sekteye uğratmakta, immün sistem aktivasyonunu azaltarak intestinal kanalın tamamında homeostazisi bozguna uğratmaktadır. Pik gelişim aşamasında (aralıklı saçılımın olduğu dönemlerde) giyardiyazise ilişkin intestinal epitelyal permeabilite artışı gelişebilmekte; epitelyal apoptozis uyarılmakta, bakteriyel translokasyon gelişimi ile beraber proinflamatuvar sitokin üretimim artmaktadır.<sup>1</sup> İşleri tam da bu noktada tersine çevirebilen kurkumin mikrolitrede 50.000 giyardiya parazitinde sitotoksik etki ile beraber morfolojik değişim sağlayabilmiştir. İlgili çalışmada kurkumin trofozoit adezyonunu, proliferasyonunu ve gelişimini inhibe etmiştir. Kurkumin bu etkinliğini parazitin dorsal ve ventral yüzeylerini, membranını, ventral diskini ve flagellasını bozarak gösterir ki; bu durum normal morfolojisinin kaybolması ile sonuçlanır. Kurkumin yine giyardiya sitoskeletonu üzerinde yer alan en baskın protein olan tübülün (parazit içinde mikrotübülleri oluşturur) ile etkileşime girerek mikrotübüllerin defragmentasyonuna (parçalanmasına) mahal verir.<sup>7</sup> Anılan tüm bu mekanizmalar çalışmamızda alanımızda muhtemelen



ilk kez kullanılan bu bileşenin etkinliğini açıklayabilir. Yine yukarıda sözü edildiği üzere çalışmamızda kurkumin rektal enema ile verildiğinden antiinflamatuvar etkiye katkıda bulunmuş olabilir.

Yine sunulan bu araştırmada, doğal Ayurvedik nutrasötik (aslında bir baharat olan) kurkuminin kontrol grubu ile karşılaştırmalı değerlendirilmesi sayesinde sağaltım açısından önemli farklılıklar olup olamayacağı aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu kapsamda hastalığın rutin sağaltımında yıllardır ilk tercih olarak kullanılan moleküler ajanların olası yan etkilerinin görüldüğü ve bilindiği bir ortamda, tam tersine immün yanıt üzerine baskılayıcı etkisi bulunmayan (bilakis immünomodülatör özellik taşıyan) kurkumin ile sağaltımın başarılı olup olmayacağı bağlantısının açıklığa kavuşturulduğu düşünülmektedir. Planlanan bu sağaltım modeli etkinlik ve başarı sağlayarak, ağırlıklı olarak kullanılan ilaçların kullanımını belki de sınırlandıracak ya da bütünüyle değişimini sağlayacaktır. Bu değişikliklerin ortaya çıkarılması sağaltım planlamasının etkin ve rasyonel olarak yürütülmesini sağlayacaktır. Tüm bu muhtemel senaryolar akademik ve bilimsel katkı sunabilecektir.

Bu saha araştırmamız akademik platforma taşınarak gerçekleştirilmiş, ardından kâğıda (yazıya dökülerek yurt içi okuyucu ile buluşturulma amacı) dökülerek hayata geçirilmiş: a) Ürün geliştirilmesine (muhtemelen patentli ya da prototip rektal enema kapsülleri ve/veya uygun farmasötik preparat gelişimine olanak sağlanacak), b) Uygulama kurkuminin oral biyoyararlanımındaki zafiyetinin aksine esas ulaşması gereken yer olan bağırsaklara direkt olarak rektal enema ile yapıldığından faydalı model ortaya çıkarılabilmesine, c) Çalışma verileri görsel kayıt altına alınıp mesleki sosyal medya platformları ile kongre/sempozyumlarda video ve fotoğraflar eşliğinde paylaşarak görsel-işitsel paylaşım sağlanabilmesine (belki de günümüzde güncel olarak gittikçe önem kazanan görsel-işitsel mesleki eğitim modüllerinin gelişimine olanak verilmesine), d) Rektal enema uygulamasının oturması ve bilimsel ispatı ile telif konulu eser niteliği kazanabilmesine (alanında ilk olduğundan

hem muhtemel ürün gelişimi ile hem de uygulama görüntülerinin aslı ile), e) İşitsel arşiv olarak tüm uygulamalar hasta başında saha pratiğinde meslektaşlarımıza yönelik planlanabilmesine (öğrenmenin en kolay yollarından dinlemeleri sağlanacak) salık vermiştir.

## SONUÇ

Şiddetli ve sağaltılmadığında gerek prognostik gerekse patogenezis açısından olumsuz seyreden önemli, zoonotik hastalıklar arasında gösterilen giyardiyazis tüm dünyada ve ülkemizde (bizim de bulunduğumuz coğrafya da dâhil) yaygın olarak görüldüğünden buzağular, insanlar için potansiyel risk oluşturmaktadır. Hastalığın özeline yönelik kuvvet birliği ve kılavuz rehberler kısmen yayımlansa da buzağuların sağaltımında kullanılan belli başlı ilaçlar ekonomik olmayıp (kur farklılıkları nedeni ile buzağı başına sağaltımı belirli rakamlara varabilen kimyasal ajanların mevcudiyetine rağmen etkili bazılarının yurt içerisinde ulaşılabilirliğinin pek mümkün olmayışı), uzun süre kullanım gerektirmekte ve her zaman etiyolojik bir iyileşme sağlanamamaktadır. Bu nedenle giyardiyaziste oluşabilecek gastroenterolojik ve ekonomik hasarların ve düzeylerinin belirlenmesi, prognostik ve sağaltımın yönetilmesi açısından veteriner hekimlerin doğru planlama yapması ile ekonomik ve sosyal açıdan katkı sağlayacaktır.

Bu minvalde giyardiyazis ile doğal enfekte buzağularda kullanılan zerdeçal ile i) sağaltımdaki etkileri (rektal enema ve plasebo kontrollerle karşılaştırmalı olarak) ve klinik iyileşme sonuçları belirlenmiş, ii) kurkuminin giyardiyazis üzerine olan antiparaziter etkisi in vivo desteklenmiş, iii) hastalık üzerindeki güncel ajanlarda var olan erişilebilirlik, lisans ve fiyat konusundaki problemler kurkuminin kolay ulaşılabilir, oldukça uygun fiyatlı ve lisans problemleri olmamasından dolayı klinik pratiğe ve kullanılabilirliğe aktarımdaki problemlerin giderilmesine olanak sağlamış, iv) yine benzer durumlar arasında yer alan ülkemiz veteriner hekimlerine antigiyardiyal mücadelede bahsi geçen bu Ayurvedik bitkisel unsurun bilimsel etkinliğinin kanıtlanması ile yeni kapılar açılmış, v) ayrıca özellikle in vitro ortamda antigiyardiyal etkinliği

bilinen ve saptanmış olan kurkuminin pratik sağaltıma aktarılmasında öncülük edebilecek veriler elde edilmiş, vi) bir baharatın doğal reçete olarak sağaltımındaki etkinliği ile bilimsel anlamdaki eksiklikler giderilerek, kontrol grubu ile karşılaştırmalı etkisi belirlenmiş, vii) son olarak aralıklı kist saçılımı hâlen tam olarak anlaşılmayan giyardiyaziste kurkuminin aktif enfeksiyon ve sağaltım modüllerine bağlı olarak gastrointestinal kaskadı nasıl etkilediği, nasıl değişim gösterdiği alanımızda ilk kez aydınlatılmıştır.

### Finansal Kaynak

Bu çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince, Proje No: VTF-22027 ile desteklenmiştir.

### Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

### Yazar Katkıları

**Fikir/Kavram:** Kerem Ural; **Tasarım:** Kerem Ural; **Denetleme/Danışmanlık:** Kerem Ural, Serdar Paşa, Deniz Aliç Ural; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Kerem Ural, Hasan Erdoğan, Deniz Aliç Ural, Adnan Ayan, Mehmet Gültekin, Songül Erdoğan; **Analiz ve/veya Yorum:** Kerem Ural, Hasan Erdoğan, Mehmet Gültekin; **Kaynak Taraması:** Kerem Ural; **Makalenin Yazımı:** Kerem Ural, Deniz Aliç Ural, Hasan Erdoğan, Adnan Ayan; **Eleştirel İnceleme:** Kerem Ural, Serdar Paşa; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Kerem Ural, Serdar Paşa; **Malzemeler:** Kerem Ural, Hasan Erdoğan, Songül Erdoğan.

## KAYNAKLAR

- Allain T, Amat CB, Motta JP, Manko A, Buret AG. Interactions of Giardia sp. with the intestinal barrier: epithelium, mucus, and microbiota. Tissue Barriers. 2017;5(1):e1274354. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Çamkerten G, Erdoğan H, Aliç Ural D, Çamkerten İ, Erdoğan S, Ural K. Giardia duodenalis ile doğal enfekte kuzularda serum 25 (OH) D3 seviyeleri [Levels of serum 25 (OH) D3 in naturally infected lambs with giardia duodenalis]. Kocatepe Vet J. 2019;12(1):71-4. [Crossref]
- Gutiérrez-Gutiérrez F, Palomo-Ligas L, Hernández-Hernández JM, Pérez-Rangel A, Aguayo-Ortiz R, Hernández-Campos A, et al. Curcumin alters the cytoskeleton and microtubule organization on trophozoites of Giardia lamblia. Acta Trop. 2017;172:113-21. [Crossref] [PubMed]
- Aliç Ural D, Erdoğan H, Toplu S, Ayan A. Ođlaklarda giardiazis kontrolüne yönelik oral klinoptilolit uygulaması [Application of oral clinoptilolite intended for prevention of giardiasis in goat kids]. Kocatepe Vet J. 2017;10(3):158-63. [Link]
- Gültekin M, Ural K, Aysul N, Ayan A, Balıkcı C, Toplu S, et al. Prevalence and molecular characterization of Giardia duodenalis in calves in Turkey. Acta Sci Vet. 2017;45(1):6. [Crossref]
- Gazyağcı S, Gazyağcı AN, Ayan A, Orunç Kılıç Ö. Kırıkkale'de bulunan kuzuların dışkılarının giardia duodenalis yönünden araştırılması [Investigation of giardia duodenalis in lambs feces in Kırıkkale province]. Türkiye Klinikleri J Vet Sci. 2020;11(2):60-3. [Crossref]
- Ural K, Aysul N, Voyvoda H, Ulutas B, Aldemir OS, Eren H. Tratamiento con dosis única con secnidazole en corderos naturalmente infectados con Giardia duodenalis [Single dose of secnidazole treatment against naturally occurring Giardia duodenalis infection in Sakiz lambs]. Rev MVZ Córdoba. 2014;19(1):4023-32. [Crossref]
- Ayan A, Aliç Ural D, Pasa S, Erdoğan S, Erdoğan H. Klinoptilolit kuzularda giardiazis sağaltımına yönelik alternatif ve doğal bir çözüm olabilir mi [May clinoptilolite be an alternative and natural solution for the treatment of giardiasis in lambs]? J VetBio Sci Tech. 2018;3(2):16-20. [Crossref]
- Ayan A, Aliç Ural D, Erdoğan H, Orunç Kilinc O, Gültekin M, Ural K. Prevalance and molecular characterization of Giardia duodenalis in livestock in Van, Turkey. Int J Ecosyst Ecol Sci. 2019;9(2):289-96. [Crossref]
- Erdoğan S, Aliç Ural D, Erdoğan H, Ayan A, Ural K, Özalp T, et al. Evaluation of serum 25-hydroxy vitamin d3 levels in goat kids naturally infected with giardia duodenalis. J VetBio Sci Tech. 2020;5(2):43-7. [Crossref]
- Geurden T, Vandenhoute E, Pohle H, Casaert S, De Wilde N, Verduyck J, et al. The effect of a fenbendazole treatment on cyst excretion and weight gain in calves experimentally infected with Giardia duodenalis. Vet Parasitol. 2010;169(1-2):18-23. [Crossref] [PubMed]
- Cacciò SM, De Giacomo M, Pozio E. Sequence analysis of the beta-giardin gene and development of a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay to genotype Giardia duodenalis cysts from human faecal samples. Int J Parasitol. 2002;32(8):1023-30. [Crossref] [PubMed]
- Lalle M, Pozio E, Capelli G, Bruschi F, Crotti D, Cacciò SM. Genetic heterogeneity at the beta-giardin locus among human and animal isolates of Giardia duodenalis and identification of potentially zoonotic subgenotypes. Int J Parasitol. 2005;35(2):207-13. [Crossref] [PubMed]
- Varady M, Konigova A, Corba J. A field study to evaluate the efficacy of fenbendazole on 9 stud farms. Vet Med. 2004;49(2):42-6. [Crossref]
- Ural K, Aliç Ural D, Gültekin M, Erdoğan S, Erdoğan H. Combatting against naturally occurring Giardia duodenalis assemblage a infections in goat kids. XVII. Middle European Buiatrics Congress; 2017 May 3-6; High Tatras, Slovakia; 2017. [Link]
- Aliç Ural D, Aysul N, Gültekin M. Buzağılarda oral yolla klinoptilolit uygulamasının doğal yolla oluşan giardiazis'e karşı etkinliği [The efficacy of oral administration of clinoptilolite against naturally occurring giardiasis in calves]. Kocatepe Vet J. 2016;9(4):288-93. [Link]

17. Amat CB, Motta J-P, Chadee K, Buret AG. Giardia duodenalis directly depletes mucins in intestinal goblet cells. *The FASEB*. 2016;30(1):162. [\[Link\]](#)
18. Halliez MC, Buret AG. Extra-intestinal and long term consequences of Giardia duodenalis infections. *World J Gastroenterol*. 2013;19(47):8974-85. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
19. Glombowsky P, Volpato A, Campigotto G, Soldá NM, dos-Santos D, Bottari NB, et al. Dietary addition of curcumin favors weight gain and has antioxidant, anti-inflammatory and anticoccidial action in dairy calves. *Rev Colomb Cienc Pecu*. 2020;33(1):16-31. [\[Crossref\]](#)
20. Gunes H, Gulen D, Mutlu R, Gumus A, Tas T, Topkaya AE. Antibacterial effects of curcumin: an in vitro minimum inhibitory concentration study. *Toxicol Ind Health*. 2016;32(2):246-50. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
21. Vorlaphim T, Phonvisay M, Khotsakdee JJ, Vasupen K, Bureenok S, Wongsuthavas S, et al. Influence of dietary curcumin on rumen fermentation, macronutrient digestion and nitrogen balance in beef cattle. *Am J Agr Biol Sci*. 2011;6(1):7-11. [\[Crossref\]](#)
22. Dempe JS, Scheerle RK, Pfeiffer E, Metzler M. Metabolism and permeability of curcumin in cultured Caco-2 cells. *Mol Nutr Food Res*. 2013;57(9):1543-9. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Artursson P, Karlsson J. Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1991;175(3):880-5. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Wortelboer HM, Usta M, van der Velde AE, Boersma MG, Spenkelink B, van Zanden JJ, et al. Interplay between MRP inhibition and metabolism of MRP inhibitors: the case of curcumin. *Chem Res Toxicol*. 2003;16(12):1642-51. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Ravindranath V, Chandrasekhara N. In vitro studies on the intestinal absorption of curcumin in rats. *Toxicology*. 1981;20(2-3):251-7. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Holder GM, Plummer JL, Ryan AJ. The metabolism and excretion of curcumin (1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione) in the rat. *Xenobiotica*. 1978;8(12):761-8. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Zhang Z, Chen Y, Xiang L, Wang Z, Xiao GG, Hu J. Effect of curcumin on the diversity of gut microbiota in ovariectomized rats. *Nutrients*. 2017;9(10):1146. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
28. Ohno M, Nishida A, Sugitani Y, Nishino K, Inatomi O, Sugimoto M, et al. Nanoparticle curcumin ameliorates experimental colitis via modulation of gut microbiota and induction of regulatory T cells. *PLoS One*. 2017;12(10):e0185999. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
29. Law IK, Bakirtzi K, Polytaichou C, Oikonomopoulos A, Hommes D, Iliopoulos D, et al. Neurotensin--regulated miR-133a is involved in proinflammatory signalling in human colonic epithelial cells and in experimental colitis. *Gut*. 2015;64(7):1095-104. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
30. Narushima S, Sugiura Y, Oshima K, Atarashi K, Hattori M, Suematsu M, et al. Characterization of the 17 strains of regulatory T cell-inducing human-derived Clostridia. *Gut Microbes*. 2014;5(3):333-9. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
31. Singla V, Pratap Mouli V, Garg SK, Rai T, Choudhury BN, Verma P, et al. Induction with NCB-02 (curcumin) enema for mild-to-moderate distal ulcerative colitis - a randomized, placebo-controlled, pilot study. *J Crohns Colitis*. 2014;8(3):208-14. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Martinez CAR, Oliveira VPD, Campos FG, Kanno DT, Fernandez OOA, Kadri CJ, et al. Influence of the application of enemas with oily extract of curcumin (*Curcuma longa*) on the tissue content of neutral and acidic mucins in the colonic mucosa without fecal stream. *J Coloproctology*. 2017;37(4):312-9. [\[Crossref\]](#)
33. Simadibrata M, Halimkesuma CC, Suwita BM. Efficacy of curcumin as adjuvant therapy to induce or maintain remission in ulcerative colitis patients: an evidence-based clinical review. *Acta Med Indones*. 2017;49(4):363-8. [\[PubMed\]](#)