

**T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ
KESİN RAPORU**

**HYDATİDOSİSİN SERODİAGNOZUNDA KİST SIVISI ANTİJENLERİNİN
SDS-PAGE VE WESTERN BLOTTİNG YÖNTEMLERİ İLE
KARŞILAŞTIRMALI ANALİZİ**

**THE COMPARATIVE ANALYSIS OF CYST FLUID ANTIGENS BY USING
SDS-PAGE AND WESTERN BLOTTING METHOD FOR
SERODIAGNOSIS OF HYDATİDOSİS**

Prof.Dr. Ahmet DOĞANAY

Proje No: 2003-08-10-059

Başlama Tarihi: 30.09.2003

Bitiş Tarihi: 31.12.2005

Rapor Tarihi: 31.12.2005

**Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Ankara - 2005**

I. Projenin Türkçe ve İngilizce Adı ve Özetleri

Hydatidosisin serodiagnozunda kist sıvısı antijenlerinin SDS-PAGE ve Western blotting yöntemleri ile karşılaştırmalı analizi

Hydatidosisde konak hassasiyetinin belirlenmesinin hedeflendiği bu araştırmada, koyun ve eşek orijinli protoskoleks verilerek sekonder hydatidosis oluşturulan beyaz farelerden elde edilen kist sıvıları ile koyun ve eşeklerdeki primer kistlerden elde edilen kist sıvıları SDS-PAGE ile antijenik fraksiyonlarına ayrıldıktan sonra, Western blotting tekniği ile enfekte fare ve insan serumları kullanarak spesifik bantlar ortaya çıkarılmıştır.

Fare serumu kullanılarak saptanan spesifik bantlar; eşek primer kist sıvısında 116, 24, 18 ve 8 kDa, eşek orijinli fare kist sıvısında 116, 24 ve 8 kDa, koyun primer kist sıvısında 8 kDa, koyun orijinli fare kist sıvısında 8 kDa olarak saptanmıştır. İnsan serumu kullanılarak saptanan spesifik bantlar; eşek primer kist sıvısında 116, 98, 88, 56 ve 8 kDa, eşek orijinli fare kist sıvısında 116, 98, 88, 8 kDa, koyun primer kist sıvısında 56, 48 ve 24 kDa, koyun orijinli fare kist sıvısında 24 kDa olarak belirlenmiştir.

The comparative analysis of cyst fluid antigens by using SDS-PAGE and Western blotting method for serodiagnosis of hydatidosis

In this study that was aimed to show host sensitivity, fluids of primer hydatid cysts from sheep and donkey, and fluids of secondary hydatid cysts from albino mice that were infected sheep's and donkey's origin protoscolexes were separated by SDS-PAGE. Later on, it was determined specific bands by Western blotting technique by using mice and human sera.

Specific bands that were determined by using mice sera are 116, 24, 18 and 8 kDa in primer cyst fluid of donkey, 116, 24 and 8 kDa in secondary cyst fluid of mice that were infected donkey's origin prtoscolexes, 8 kDa in primer cyst fluid of sheep and 8 kDa in secondary cyst fluid of mice that were infected sheep's origin prtoscolexes. Specific bands that were determined by using human sera are 116, 98, 88, 56 and 8 kDa in primer cyst fluid of donkey, 116, 98, 88, 8 kDa in secondary cyst fluid of mice that were infected donkey's origin prtoscolexes, 56, 48 and 24 kDa in primer cyst fluid of sheep and 24 kDa kDa in secondary cyst fluid of mice that were infected sheep's origin prtoscolexes.

II. Amaç ve Kapsam

Hidatidosis, birçok az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde olduğu gibi yurdumuzda da gerek kasaplık hayvanlarda, gerekse insanlarda yaygın olarak görülmekte olup sağlık ve ekonomik açıdan büyük önem taşımaktadır (3,6,11,14,20,28). Hastalığın etkeni olan *Echinococcus granulosus* da Türkiye’de köpeklerde en yaygın parazitlerden biridir (3,5,11,29).

Hastalığın klinik semptomlarının ve parazitolojik bulgularının spesifik olmaması teşhis edilmesinde sıkıntılar yaratmaktadır. Özellikle yeni oluşmakta olan kistlerin radyografi veya ultrasonda tespit edilmesi oldukça güç olmaktadır. Hastalığın erken tanısı şüphesiz tedavi şansını artırmaktadır (13,15). Erken tanıda serolojik yöntemlerin başarı şansı antijen kalitesi ile yakından ilgilidir. Uygun konaktan elde edilen kaliteli bir antijen kullanıldığında teşhiste başarı şansının arttırılabileceği böylelikle özellikle sestod enfeksiyonlarında görülen çapraz reaksiyon riskinin ortadan kaldırılabileceği bildirilmektedir (1,12,19,22). Diğer taraftan teşhiste kullanılacak yöntem de büyük önem taşımaktadır. Moleküler biyolojik yöntemlerin parazitoloji alanında kullanılmaya başlaması ile paraziter hastalıkların teşhisinde önemli adımlar atılmıştır. Son yıllarda immunodiagnoz alanına hızla giren sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)+Western blot yöntemleri, enfeksiyon etkenlerinin protein yapısındaki antijenlerini ortaya çıkararak indirekt tanı yöntemlerinin değerini düşüren çapraz reaksiyon gibi olumsuzlukları ortadan kaldırmıştır (24). Bu tekniğin insanlarda paraziter hastalıkların tanısında da son derece hassas ve spesifik sonuçlar verdiği bildirilmektedir (25,30). Hydatidosisli insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda (8,9,15) immüno blot testinin çapraz reaksiyon riskini önemli oranda azalttığı, erken teşhis için çok önemli bir basamak teşkil ettiği kaydedilmektedir.

Türkiye’de insanlarda hydatidosisin serolojik yöntemlerle teşhisi konusunda sınırlı sayıda da olsa çalışmalar (10,16,26,31,32) yapılmıştır. Hayvanlarda ise bu konuda yapılmış serolojik çalışma sayısı yok denecek kadar azdır (2, 4,7,27).

Dünyada hidatidosisin serolojik teşhisi ve bu hastalığa karşı aşı geliştirilebilmesi amacıyla çok yönlü araştırmalar (8,17,19,21) yapılmasına karşın, bu araştırmalar genellikle direkt olarak çeşitli hayvanlardan ve insandan elde edilen kist sıvılarının antijenik özelliğinin belirlenmesi ve spesifik bantların elde edilmesi yönünde olmuştur. Hydatidosisin deneysel olarak geliştirilmesinde ve ilaç denemelerinde başarıyla kullanılan beyaz farelerde bu hastalığın serolojik teşhisine yönelik çalışma sayısı çok sınırlıdır. Seroloji alanında bu

hayvanlardan elde edilebilecek başarılı sonuçların diğer hayvanlara, hatta insana uygulanabilirliğinin tespit edilmesi düşüncesiyle Mamuti ve ark (18), yaptıkları çalışmada insan kökenli protoskolekslerle enfekte ettikleri farelerden elde ettikleri kist sıvısı antijenlerinin, insanlarda hydatidosisin teşhisinde koyun ve insan kist sıvısı antijenlerine göre çok daha başarılı sonuç verdiğini kaydetmişlerdir.

Yapılacak aşı ve serolojik çalışmalarda kullanılacak antijenin seçiminde konak özgünlüğünün önemi çok fazladır. Bu çalışmada, koyun ve eşek orijinli kistlerden elde edilen protoskolekslerle enfekte edilen farelerde sekonder hidatidoz oluşturulması; farelerden toplanan kist sıvısı antijenleri ile koyun ve eşek primer kistlerinden elde edilen kist sıvısı antijenlerinin SDS-PAGE yöntemi ile elde edilen protein bantlarının karşılaştırılması; daha sonra da enfekte fare ve insan serumları kullanılarak Western blotting yöntemi ile spesifik bantların tespiti amaçlanmıştır.

III. Materyal ve Yöntem

Farelerin deneysel enfeksiyonu: Deneysel hayvanı olarak 15-25 günlük 45 beyaz fare (*Mus. musculus var. albinus*) kullanılmıştır. Denemeler için gerekli *E.g.granulosus* protoskoleksleri Ankara çevresinde bulunan mezbahalarda kesilen koyunların karaciğerlerindeki fertil ekinokok kistlerinden; *E.g.equinus* protoskoleksleri de Ankara Hayvanat Bahçesi'nde karnivor hayvanlar için kesilen eşek karaciğerlerinden temin edilmiştir.

Kısa sürede laboratuara getirilen kistli karaciğerlerden steril koşullarda kist sıvıları çekilerek bir silindirde toplanmıştır. Temizleninceye kadar fizyolojik su ile yıkanan protoskolekslerin canlılığı, morfolojilerine, hareketlerine, alev hücrelerinin aktivitelerine ve eozin ile boyanıp (ölü) boyanmamalarına (canlı) göre kontrol edilmiştir. Fizyolojik su ile 0.5 cc de ortalama 2000 protoskoleks olacak şekilde protoskoleks süspansiyonu ayarlandıktan sonra üzerine, 1 cc de 1000 ünite penicilin , 0.001 gr streptomisin bulunacak şekilde antibiyotik ilave edilmiştir.

Toplam 45 fareden 15 er farelik iki enfeksiyon ve bir kontrol grubu oluşturulduktan sonra, birinci enfeksiyon grubu fareleri, koyun kökenli protoskolekslerle, ikinci enfeksiyon grubu fareleri, eşek kökenli protoskolekslerle (yaklaşık 2000 protoskoleks) intra peritoneal olarak enfekte edilmiştir. Üçüncü grup 15 fare kontrol grubu olarak ayrılmıştır.

Antijen hazırlanması: Koyun ve eşek kökenli protoskolekslerle enfekte edildikten sonra 7 ay süreyle sekonder kist gelişimi için tutulan fareler, bu süre sonunda serumlarının ve gelişmiş olan sekonder kistlerden elde edilen kist sıvılarının toplanması amacıyla eter inhalasyonu ile uyutulmuştur. Kist sıvıları, 10000xg de 30 dk. santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatant, 0.45µm'lik membran filtreden geçirilerek diyaliz torbasında distile suya karşı +4°C'de diyaliz edilmiş, böylece total antijen elde edilmesi sağlanmıştır.

Farelerde sekonder hydatidosis oluşumu süresi içerisinde Gülhane Askeri Tıp Akademisinden 15 hydatidosisli ve 15 hasta olmayan insan serumu temin edilmiş ve dipfrizde saklanmıştır.

Polipeptid Analizi: Farelerden toplanan kist sıvılarındaki protein yapısındaki antijenler SDS-PAGE yöntemi ile separe edildikten sonra jel, silver stain tekniği ile boyanıp protein bantları standartla karşılaştırılarak molekül ağırlıkları belirlenmiştir.

Separasyon işlemi stacking jel ve separating jel uygulaması ile yapılmış, örnekler büyük hacimlerden çok küçük zonlara konsantre edilerek molekül ağırlıkları farklı proteinlerin daha iyi separasyona uğraması sağlanmıştır. Çalışmada kullanılacak solüsyonlar ile elektroforez ve Western blotting işlemleri Sambrook ve ark. (23) na göre yapılmıştır.

Antijenik Analiz: Elektroforezle belirlenen farklı molekül ağırlığındaki protein bantları, Western blotting yöntemi kullanılarak nitrosellüloz membrana aktarılmış ve fare ve insan serumları ile işlenerek hangi protein bandının spesifik antijenik özellikte olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Koyun ve eşek kökenli protoskolekslerle enfekte edilen fare ve hydatidosisli insan serumlarındaki bantların Western blotting yöntemi ile ayrı, ayrı belirlenmesinden sonra, kontrol olarak ayrılan fare serumları, non enfektif fare serumu ve hasta olmayan insan serumları da aynı prosedürle işlenmiştir. Çalışmanın son aşamasında kontrol grubu fare ve hasta olmayan insan serumlarından elde edilen bantlarla enfekte fare ve insanlardan elde edilenler karşılaştırılmış ve ortak spesifik bantlar tespit edilmiştir.

IV. Analiz ve Bulgular

Koyun kökenli protoskolekslerle enfekte edilen 15 fareden 2'si 5.ayda, 1'i 6 ayda; eşek orijinli protoskolekslerle enfekte edilen 15 farenin 1'i 4., 1'i 6 ayda; 15 kontrol faresinden 1'i 4.ayda nedeni belirlenemeyen sebepten ölmüştür. Dolayısıyla koyun orijinli

protoskolekslerle enfekte 12, eşek orijinli protoskolekslerle enfekte 13 ve kontrol grubu farelerden 14'ünün serumu ve kist sıvıları değerlendirmeye tabi tutulabilmiştir.

Çalışmada SDS-PAGE yöntemi ile büyüklükleri 6.5kDa - 200 kDa arasında değişen koyun primer kistlerinden elde edilen kist sıvısında 11, eşek primer kistlerinden elde edilen kist sıvısında 10, koyun orijinli protoskoleks verilerek sekonder hydatidosis oluşturulan beyaz farelerden elde edilen kist sıvısında 6 ve eşek orijinli protoskoleks verilerek sekonder hydatidosis oluşturulan beyaz farelerden elde edilen kist sıvısında 12 protein bandı belirlenmiştir.

SDS-PAGE yöntemi ile elde edilen bantların nitroselüloz membrana aktarılmasından sonra enfekte ve kontrol fare ve insan serumu kullanılarak yapılan Western blotting yönteminde enfekte olmayan kontrol gruplarında herhangi bir banta rastlanmazken, enfekte fare serumu kullanılarak saptanan spesifik bantların, eşek primer kist sıvısında 116, 24, 18 ve 8 kDa; eşek orijinli fare kist sıvısında 116, 24 ve 8 kDa; koyun primer kist sıvısında 8 kDa; koyun orijinli fare kist sıvısında 8 kDa; enfekte insan serumu kullanılarak saptanan spesifik bantların, eşek primer kist sıvısında 116, 98, 88, 56 ve 8 kDa; eşek orijinli fare kist sıvısında 116, 98, 88, 8 kDa; koyun primer kist sıvısında 56, 48 ve 24 kDa; koyun orijinli fare kist sıvısında 24 kDa olduğu belirlenmiştir.

V. Sonuç ve Öneriler

SDS-PAGE yöntemi ile elde edilen protein bantları incelendiğinde özellikle koyun primer ve koyun orijinli sekonder kist sıvısı ile eşek primer ve eşek orijinli sekonder kist sıvısı protein yapısının yakın benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durumun orijinleri aynı olan kist sıvılarının protein yapılarının da yakın benzerlik göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmada hidatidosis ile enfekte insan ve fare serumu kullanılarak uygulanan Western blotting yöntemi ile elde edilen spesifik bantlarda yapılan karşılaştırmalı incelemede, SDS-PAGE yöntemine paralel şekilde koyun primer ve koyun orijinli sekonder kist sıvısı ile eşek primer ve eşek orijinli sekonder kist sıvısı antijenleri için elde edilen bantların yakın benzerlik gösterdiği ortaya çıkarılmıştır.

Günümüzde mezbahada kesilen kasaplık hayvanların özellikle koyunların büyük çoğunluğunu 1 yaş civarında genç hayvanlar oluşturmaktadır. Genç hayvanlarda gelişmiş ekinokok kistlerin bulunmaması sebebiyle kist sıvısı antijeni temin edilmesinde sıkıntılar

yaşanmaktadır. Bu çalışmada elde edilen bulgular, laboratuvar hayvanlarında oluşturulan sekonder kistlerdeki kist sıvısı antijenlerinin orijinine yakın benzerlik göstermesi dolayısıyla, antijen temininde güçlükler yaşanması durumunda, laboratuvar hayvanlarının kist sıvısı antijeni sağlanması amacıyla kullanılabilceğini göstermektedir.

Araştırmada elde edilen sonuçlar, hydatidosis enfeksiyonunun Western blotting yöntemi ile teşhis edilmesi amacıyla kist sıvısı antijeninin başarıyla kullanılabilceğini göstermiştir. Özellikle farklı orijinli kist sıvıları kullanılmasına karşın Western blotting yönteminde genel olarak 8kDa, 24kDa ve 116 kDa'luk bantların spesifikite göstermesi, hydatidosis enfeksiyonunda ileriki çalışmalar için bu proteinlerin aşılama çalışmalarında veya teşhis için yapılacak serolojik çalışmalarda kullanılabilceği sonucunu ortaya çıkarmıştır.

VI. Kaynaklar

1. **Altıntaş, A.** (1991). SDS-Polyacrylamide gel elektroforezi ile proteinlerin seperasyonu, T. Parazitol. Derg., 2:119-129.
2. **Aykol, F.** (1986). Tabii Enfekte Koyunlarda Kist Hidatiğin Counterimmuno-elektroforesis (CIEP) ve Çift Diffüzyon Testlerle Karşılaştırmalı Teşhisi, Ankara Üniv. Sağlık Bilim. Enst., Doktora Tezi.
3. **Barış, İ., Şahin, A., Bilir, N., Kalyoncu, A.F., Emri, A.S., Akhan, O., Barış, B., Çopur, A.S. ve Selçuk, Z.T.** (1989). Hidatik Kist Hastalığı ve Türkiye' deki Konumu, Türkiye Akciğer Hastalıkları Vakfı Yayını No:1, Ankara.
4. **Burgu, A., Doğanay, A., Gönenç, B., Sarımehmetoğlu, H.O., Kalınbacak, F.** (2000). Analysis of hydatid cysts from sheep by SDS-PAGE, and determination of spesifik antigens in protein structure by Western blotting. Türk J Vet Anim Sci., 24:493-500.
5. **Doğanay, A.** (1993). Türkiye'de kedi ve köpeklerde görülen parazitler. A.Ü.Vet.Fak.Derg., 39: 336-348.
6. **Doğanay, A., Öge, S.** (1997). Türkiye'de koyun ve keçilerde görülen helmintler. Kafkas Üniv.Vet.Fak.Derg, 1:97-114.
7. **Doğanay, A., Burgu, A., Gönenç, B., Sarımehmetoğlu, O.** (2000). Koyun kist hidatik protoskolekslerinin protein yapısının analizi ve spesifik antijenlerin saptanması. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 47:63-71.

8. **Facon, B., Chamekh, M., Dissous, C. and Capron, A.** (1991).Molecular cloning of an Echinococcus granulosus protein expressing an immunogenic epitope of antigen 5, Mol. Biochem. Parasitol., 45:233-240.
9. **Fadwa, M.A., Knobloch, J.** (1989). Isolation and partial characterization of species-specific and cross-reaktif antigens of Echinococcus granulosus cyst fluid, Mol. Biochem. Parasitol., 37:101-108.
10. **Genç, S.** (1976). İnsan hidatidosisin tanısında pasif hemaglutinasyon ve Weinberg reaksiyonlarının değeri, Mikrobiyoloji Bülteni., 10:215-231.
11. **Güralp, N.** (1981). Helmintoloji, Ankara Üniv. Vet. Fak. Yayınları, 368. II. Baskı.
12. **Heath, D.D., Lawrence, S.B.** (1996). Antigenic polypeptides of Echinococcus granulosus oncospheres and definition of protective molecules, Parasite Immunol., 18,347-357.
13. **Hira, P.R., Hahr, G.M., Shweiki, H.M. and Behbehani, K.,** (1990). An enzyme-linked immunosorbent assay using an antigen 5 antigen for the diagnosis of cystic hidatid disease, Ann. Trop. Med. and Parasitol., 2:157-162.
14. **Kalyoncu, A.F., Selçuk, Z.T., Emri, A.S., Çöplü, L., Şahin, A.A., Barış, Y.İ.** (1991). Echinococcosis in the Middle East and Turkey. Rev.Infect.Dis., 13: 1028-1029.
15. **Kanwar, J.R., Kaushik, S.P., Sawhney, I.M.S., Kamboj, M.S., Mehta, S.K., Vmrayak, V.K.** (1992).Specific antibodies in serum of patients with hydatidosis recognised by immunoblotting, J. Med. Microbiol., 36:46-51.
16. **Köksal, F., Serin, M.S., Kekeç, Y. ve Sadr, Y.E.** (1995). İnsan ve hayvan kökenli kist hidatik sıvılarının SDS-PAGE metoduyla analizi ve Westernblot metodunun klinik önemi, T. Parazitol. Derg., 19:221-229.
17. **Lee, H.J., Lee, C.S., Kim, B.S., Joo, K.H., Lee, J.S., Kim, T.S., Kim, H.R.** (2002). Purification and characterization of a 7 kDa protein from Clonorchis sinensis adult worms. J parasitol., 88:499-504.
18. **Mamuti W, Yamasaki H, Sako Y, Nakaya K, Nakao M, Lightowlers MW, Ito A.** (2002). Usefulness of hydatid cyst fluid of Echinococcus granulosus developed in mice with secondary infection for serodiagnosis of cystic Echinococcosis in humans. Clin Diagn Lab Immunol., 9:573-6.
19. **March, F., Enrich, C., Mercader, M., Sanchez, F., Munoz, C., Coll, P., Prats, G.** (1991). Echinococcus granulosus: Antigen characterization by chemical treatment and enzymatic deglycosylation, Exp. Parasitol., 73:433-439.
20. **Merdivenci, A., Aydınoğlu, K.** (1982). Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı). İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp.Fak.Yayın.,Fatih Gençlik Matbaa İşletmesi, İstanbul.

21. **Morris, D.L., Richards, K.S.** (1992). Hydatid Disease. Butterworth-Heinemann Ltd. Linacre House, Jordan Hill, Oxford OX2 8DP.
22. **Njeruh, F.M., Okela, G.B.A. and Gathuma, J.M.** (1989). Usefulness of indirect haemagglutination (IHA) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the diagnosis of human hydatidosis, E. Afr. Med. J., 66:310-314.
23. **Sambrook, J., Fritsch, E.F., Manniatis, T.** (1989). Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 15 section, p. 18.47-18.76. Cold. Spring Harbor, New York.
24. **Sharma, S.D., Mullenax, J., Araujo, F.G.** (1987). Westernblott analysis of the antigens of *T.gondii* recognized by human IgM antibodies, J. Immunol., 131:977-978.
25. **Su, X. and Prestwood, A.K.** (1991). Dot Elisa mimicry westernblott test for the detection of swine trichinellosis, J. Parasitol., 77:76-82.
26. **Şaşmaz, Z, E., Hashempour, G.R., Bahiar, İ.H., Yuluğ, N.** (1995). Echinococcus granulosus' un karşılaştırmalı antijenik analizi. T.Parazitol. Derg., 20:83-87.
27. **Şenlik, B.** (1998).Bursa Yöresi Koyunlarında Indirekt Floresan Antikor (IFA) ve IndirektHemaglutinasyon (IHA) Testleriyle Hidatidoz'un Sero-Prevalansı Üzerine Araştırmalar, Uludağ Üniv. Sağlık Bilim. Enst., Doktora tezi.
28. **Tezok, Ö.F., Kılıçturgay,K., Toppare, S.,Aktaş, H.** (1970). Deneysel kist hidatik teşekkülü ve tedavisi üzerinde çalışmalar. Deney hayvanlarında sekonder kist implantasyonu. Mikrobiol .Bült., 4:207-214.
29. **Tiğın,Y., Burgu, A., Doğanay, A.** (1991). Hayvanlarda ekinokok türleri (Echinococcus sp). S.129-155. İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (echinococcosis). Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını. No: 10.
30. **Towbin, H., Staehelin, T. and Gordon, J.** (1979). Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76:4350.
31. **Yalçıntaş, İ., Çolakoğlu, S.** (1973). Kist hidatik teşhisinde indirekt hemaglutinasyon testinin değeri, Çukurova Üniv. Tıp Fak. Derg., 3:152-155.
32. **Yazıcıoğlu, A., Dinçer, H.** (1971). Kist hidatik ve Weinberg reaksiyonu, Mikrobiyoloji Bülteni, 5:273-281.

VII. Ekler

a) Mali Bilanço ve Açıklamaları

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Müdürlüğünün 17/09/2003 tarih ve 11 sayılı toplantısında 30.753.000.000 TL ödenekle kabul edilen projede

ihaleye çıkılmış ve alınacak sarf malzeme için son teklif 14.800.000 TL kabul edilmiştir. Kimyasal maddelerin tümü alındıktan sonra ödeme tek kalemde yapılmıştır.

b) Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar (BAP Demirbař numaraları dahil)

c) Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar (varsa Kesim III'de yer almayan analiz ayrıntıları)

d) Sunular (bildiriler ve teknik raporlar)

Proje sonuçları 18-25 Eylül 2005 tarihinde İzmirdede gerçekleştirilen 14. Ulusal Parazitoloji Kongresinde sözlü bildiri olarak kabul edilmiş ve sunulmuştur.

e) Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler) ve tezler