



Coenurus cerebralis Kist Sıvısı Antijeninin Elektroforetik Görünümü ve İmmunojenik Bandların Western Blot ile Gösterilmesi

Figen ÇELİK^{1, a}
Afra Sena TEKİN^{2, b}
Muhammet USLUĞ^{1, c}
Sami ŞİMŞEK^{1, d}

¹ Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Parazitoloji Ana Bilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

² Çukurova Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Parazitoloji Ana Bilim Dalı,
Adana, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-2188-0196

^b ORCID: 0009-0009-5637-5075

^c ORCID: 0009-0003-3402-3606

^d ORCID: 0000-0002-3567-326X

Taenia multiceps'in erişkin formu son konak olan köpek, çakal ve tilki gibi karnivorların ince bağırsağında yaşarken, larvası olan *Coenurus cerebralis* koyun, keçi, siğir, manda, deve ve nadir olarak insanların merkezi sinir sistemi ve omuriliğine yerleşir ve coenurosis sebeptir. Bu çalışmanın amacı, *C. cerebralis* kist sıvısı antijeninin koyunlarda coenurosisin tanısındaki etkinliğinin Western blot (WB) yöntemiyle değerlendirilmesidir. Bu amaçla, bir *C. cerebralis* kistinden alınan kist sıvısından antijen hazırlanıp proteinler SDS-PAGE ile ayrıştırıldıktan sonra WB ile nitrosellüloz membrana transfer edildi. Western blot'ta *C. cerebralis* ile enfekte 40 adet koyun serumu ile negatif kontrol olarak 40 adet yeni doğmuş kuzu serumu kullanılırken, çapraz reaksiyonların belirlenmesi amacıyla da 20 adet hidatik kist ve 20 adet de *Cysticercus tenuicollis* ile enfekte koyun serumu test edildi. Kist sıvısı antijeninin SDS-PAGE ile ayrıştırılması neticesinde 8 band (12, 24, 34, 38, 50, 75, 106, 180 kDa) gözlemlendi. Serumların WB ile işlenmesi neticesinde ise 24 ve 68 kDa büyüklüğünde iki band gözlemlendi. Buna göre, her iki bandın da gözlemlendiği örnekler pozitif, sadece 68 kDa'luk bandın gözlemlendiği örnekler ise negatif olarak değerlendirildi. Bu değerlendirme sonucunda, kesin olarak *C. cerebralis* pozitif olduğu bilinen 40 koyun serumunun 17 (%42,5)'si pozitif olarak belirlendi. Öte yandan kesin olarak negatif olduğu bilinen 40 serumun tamamı (%100) negatif sonuç verdi. Çapraz reaksiyonların belirlenmesi amacıyla işlenen 20 adet hidatik kist pozitif serumun 9 (%45)'u pozitif yanıt verirken, 20 adet *C. tenuicollis*'li serumun 3 (%15)'ü pozitif yanıt verdi. Bu çalışma ile elde edilen veriler, *C. cerebralis*'in teşhisi amacıyla ham kist sıvısı antijeninin WB'deki kullanımının yeterli tanılabilirliğe ulaşıldığını göstermiştir. Bu nedenle özellikle rekombinant antijen temelli tanı metodlarının geliştirilmesi faydalı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Coenurus cerebralis*, koyun, antijen, western blot

Electrophoretic Appearance of *Coenurus cerebralis* Cyst Fluid Antigen and Demonstration of Immunogenic Bands by Western Blot

Taenia multiceps' adult form lives in the small intestines of carnivores such as dogs, jackals, and foxes. However, *Coenurus cerebralis* larvae settle in the central nervous system and spinal cord of sheep, goats, cattle, buffaloes, camels, and, rarely, humans causing coenurosis. The study aimed to assess the diagnostic efficacy of *C. cerebralis* cyst fluid antigen in sheep with coenurosis using the Western blot (WB) method. To achieve this, an antigen was prepared from the cyst fluid obtained from a *C. cerebralis* cyst. The proteins were separated using SDS-PAGE and transferred to a nitrocellulose membrane for WB. In the WB, 40 sheep sera infected with *C. cerebralis* and 40 newborn lamb sera were used as negative controls. Additionally, 20 hydatid cysts and 20 sheep sera infected with *C. tenuicollis* were tested to determine cross-reactions. The SDS-PAGE separation of cyst fluid antigen revealed eight bands with molecular weights of 12, 24, 34, 38, 50, 75, 106, and 180 kDa. After WB processing of sera, two bands with molecular weights of 24 and 68 kDa were observed. The samples that showed both bands were considered positive, while those with only the 68 kDa band were considered negative. Based on this evaluation, 17 out of 40 sheep sera that were definitively positive for *C. cerebralis* (42.5%) were found to be positive. However, all 40 sera that were definitively negative tested negative (100%). Out of the 20 hydatid cyst positive sera that were processed to determine cross-reactions, 9 (45%) gave positive responses, while 3 (15%) of the 20 *C. tenuicollis* positive sera gave positive responses. The data obtained in this study indicate that the use of crude cyst fluid antigen in WB for the diagnosis of *C. cerebralis* did not achieve sufficient diagnostic accuracy. Therefore, the development of diagnostic methods based on recombinant antigen would be useful.

Key Words: *Coenurus cerebralis*, sheep, antigen, western blot

Geliş Tarihi : 17.04.2024
Kabul Tarihi : 29.07.2024

Yazışma Adresi Correspondence

Figen ÇELİK
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Parazitoloji Ana Bilim Dalı
Elazığ – TÜRKİYE

f.celik@firat.edu.tr

Giriş

Küçükbaş hayvancılık, gelişmekte olan ülkelerde tarımsal ve hayvancılık sektöründeki ilerlemenin en önemli belirteçlerinden biridir. Bununla birlikte, parazit enfeksiyonlar da dahil olmak üzere bulaşıcı hastalıkların, hayvancılık üretiminin önünde büyük engeller oluşturduğu bilinmektedir. Paraziter hastalıklar, yetersiz büyüme, morbidite, düşük karkas değeri ve mortalite sonucu koyun ve keçi sahiplerine ve dolayısıyla ülke ekonomisine büyük maddi zararlar vermektedir (1). Coenurosis, Avrupa, ABD, Orta Asya, Afrika ve Güneydoğu Asya ve Türkiye de dahil olmak üzere tüm dünyada yaygın olarak görülmekte ve dünyanın birçok yerinde hayvancılık endüstrisinde ekonomik kayıplara neden olmaktadır (2). *Taenia multiceps*, köpek, çakal ve tilki gibi son konak karnivorların ince bağırsağında yaşarken larvası olan *Coenurus cerebralis* koyun, keçi,

sığır, manda, deve ve nadir olarak da insanların merkezi sinir sistemi (MSS), beyin ve omuriliğinde yerleşir ve coenurosis sebeptir (3).

Koyunlar hastalığa enfekte köpeklerin meraya dışkılamaları ile etrafa yayılan yumurtaları otlarla birlikte alarak yakalanırlar (4). Kistlerin büyük çoğunluğu beyin ve nadiren omurilikte bulunmasına karşın az da olsa deri altı ve kas dokusunda da rastlanmıştır (2). Ara konakta, yumurtalar kan dolaşımı yoluyla MSS'ye ulaşır ve yaklaşık 2 ay sonra kiraz büyüklüğünde kist teşekkül eder. Enfeksiyondan üç ay sonra, kist iyi şekillenmiş skolekslerle olgunlaşır ve 7-8 ay sonra 5-6 cm çapındaki nihai boyutuna ulaşır. Kistlerin içi şeffaf bir sıvı ve bir sapla kist duvarına bağlı onlarca skoleksten ibarettir. Son konaklar bu kistleri yiyerek enfekte olur ve 40-60 günlük bir prepatent dönemden sonra, kesin konak her biri yaklaşık 37.000 yumurta taşıyan üç veya dört gebe halka çıkarır (5).

Akut ve kronik olarak iki formda seyreden hastalığın akut formu yoğun köpek dışkısı ile kontamine merada otlatma sonucu 6-8 haftalık kuzularda meydana gelir ve klinik belirtilerin ortaya çıkmasının ardından 3-5 gün içinde ölüm şekillenir. Kronik form ise genellikle 6-18 aylık koyunlarda rapor edilmiş olup, 3 yaşından büyük koyunlarda nadir gözlenmiştir (4). Enfekte hayvanlarda kendi etrafında dönme, başın kistin bulunduğu kısma doğru yaslanması, koordinasyon bozuklukları, körlük, dış gıcırdatma, kistin bulunduğu yerde kafatasında incelleme gibi klinik belirtiler hastalıktan şüphe ettirir (2).

Coenurosis'in Türkiye'de koyunlarındaki yaygınlığı ve oluşturduğu kayıplar tam olarak ortaya konulamamıştır. Uslu ve Guclu (6)'nın bildirdiğine göre, Türkiye'de yapılan çalışmalarda coenurosisin yaygınlığı %1.3 ile %36.8 arasında değişmektedir. Konya ilinde yapılan bir çalışmada 624 koyun kafası incelenmiş, bunların 102'sinin (%16.35) *C. cerebralis* ile enfekte olduğu bildirilmiştir (6). Van'da yapılan bir çalışmada incelenen 241 koyunun 156'sı *C. cerebralis* yönünden pozitif bulunmuş ve %64.7'lik prevalans oranı bildirilmiştir (7). Kars ilinde kesilen 387 koyunda *C. cerebralis* prevalansı 12 ay boyunca araştırılmış ve coenurosis yaygınlık oranı %15,5 (60/387) olarak rapor edilmiştir (8). Kırıkkale'de incelenen 100 koyunun 12'sinin beyininde *C. cerebralis* kisti belirlenmiş ve klinik olarak sağlıklı görünen koyunlarda bu oranın %11.1 olduğu bildirilmiştir (9).

Coenurosis'in tanısında enfekte hayvanın yaşı, klinik semptomlar ve nörolojik, ultrasonografik ve postmortem muayenelerin sonuçlarını da kapsayan birçok test kullanılabilir (10). Serolojik tarama amaçlı ELISA'nın kullanıldığı çok sayıda yeni çalışmada Tm-HSP70, Tm-GP50, Tm-GST ve Tm-HSP60 gibi rekombinant proteinler kullanılmış, ancak bu testler yeterli tanısal doğruluğa ulaşamamıştır (11-13). Rekombinant antijenler Tm16 ve Tm18'e dayanan indirekt ELISA'nın ise aşı denemeleri sırasında bağışıklık yanıtın izlenmesi için yararlı olduğu kanıtlanmıştır (14).

ELISA'nın tanı testi olarak kullanımı basittir ve çok sayıda numune aynı anda çalışılabilir. Ancak, yüksek oranda yanlış negatif sonuç ve diğer parazit

hastalıklarıyla zaman zaman çapraz reaksiyonlar vermesi nedeniyle, sensitivite ve spesifitesi, kullanılan antijenlerin saflık ve özgüllüğünden etkilenir (15). Bu nedenle, western blot (WB) gibi daha hassas tanı yöntemlerinin kullanılması önerilmektedir (16).

Bu çalışmanın amacı, *C. cerebralis* kist sıvısı antijeninin koyunlarda coenurosisin tanısındaki etkinliğinin WB yöntemiyle değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem

Araştırma ve Yayın Etiği: Bu çalışma için Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 02.05.2024 tarih ve 2024/08-01 sayılı etik kurul izni alınmıştır.

Serum örneklerinin toplanması: Bu çalışmanın materyalini oluşturan koyun serumları, Elazığ ilindeki koyun çiftliklerinde tipik coenurosis klinik belirtileri gösteren (dönme, bir veya iki gözde körlük, başı yana yaslama vs) koyunların kesimleri takip edilerek elde edildi. Mezbahanede, kesim sonrası bu koyunlardan serum tüplerine 5 mL kan örnekleri alındı, takiben de koyunların kafaları alınarak laboratuvara ulaştırıldı. Laboratuvarda, koyunun parietal kemiği frontal kemiğin hemen kaudalinden iki paralel kesikle kesildi ve kafa kemiği bir keski ve çekiç yardımıyla çıkarıldı. Beyni ortaya çıkarmak için meninksler bir bistüri ile kesildi. Bireysel kist örnekleri çıkarıldıktan sonra coenurosis olduğu teyit edildi. Elde edilen kistlerin içinde bulunan kist sıvısı steril bir enjektör yardımıyla toplandı ve kist sıvısı antijeni hazırlanmasında kullanıldı. Kesim sonrası alınan kan örnekleri 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek serumlar çıkarıldı ve kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı. Ayrıca negatif kontrol grubu olarak da Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi'ne güç doğum/sezaryen amacıyla getirilen koyunların yeni doğmuş kuzularından kolostrum emmeden önce *v. jugularis*'lerinden 5 mL kan örnekleri alınıp serumları ayrıldıktan sonra kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

Serolojik olarak olası çapraz reaksiyonların kontrolü amacıyla da mezbahanede kesimler takip edilerek hidatik kist ve *Cysticercus tenuicollis* ile enfekte olduğu teyit edilen koyunlardan kan örnekleri alınıp serumları ayrılarak kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edildi.

Ham kist sıvısı antijeninin hazırlanması: Bireysel *C. cerebralis* kistlerinden alınan bir kiste ait sıvı, skoleks ve diğer doku parçalarının ayrıştırılması için 4000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edildi ve süpernatant toplanıp steril effendorf tüplerine porsiyonlandı ve içerisine protein koruyucu olarak 0.1 µg/mL sodyum azid eklenip kullanılıncaya kadar -80°C'de muhafaza edildi (17).

Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE): Kist sıvısı antijeni %10'luk separasyon ve %5'lik stok jel sisteminde SDS-PAGE yöntemiyle elektroforeze tabi tutuldu. Separasyon amacıyla antijenden 15 µL alınıp 5 µL 4X Laemmli Sample Buffer ile karıştırıldı ve 10 dakika kaynatılıp (reducing şartlarda) kuyucuklara yüklendi. Ayrıışan proteinlerin moleküler ağırlığını belirlemek amacıyla da

bir kuyucuğa moleküler ağırlık markeri (PageRuler Prestained Protein Ladder, Thermo) konuldu. Örnekler 160 V sabit akımda proteinler jelin alt kısmına ulaşana kadar separasyona tabi tutuldu. Bu sürenin sonunda jelin üzerine 20 mL fiksasyon solüsyonu (%10 asetik asit, %50 metanol ve %40 dH₂O) eklenerek 37°C'de 45 dk oda ısısında orbital çalkalayıcıda düşük devirde inkübe edildi. Takiben 20 ml Coomassie blue boya solüsyonu (%40 dH₂O, %10 asetik asit, %50 metanol, %0.25 Coomassie Brilliant Blue R-250) ile bir gece boyanıp bandlar belli olana kadar boya giderici solüsyonda (%67.5 dH₂O, %7.5 asetik asit, %25 metanol) yıkandı (18). Bandlar tamamen ortaya çıkınca jelin görüntüsü alındı.

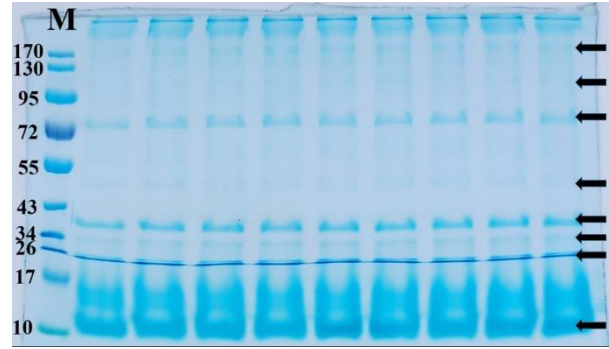
Western Blotting (WB): Jelde yürütülen antijenin immunolojik olarak aktif olup olmadığını göstermek amacıyla *C. cerebralis* ile enfekte ve enfekte olmayan koyun serumları ile beraber çapraz reaksiyonların kontrolü için de hidatik kist ve *C. tenuicollis* ile enfekte koyun serumları kullanılarak WB işlemi yapıldı. Bu amaçla, SDS-PAGE elektroforez işlemi bittikten sonra blotlama tankının içi transfer buffer ile doldurulup içine jel-membran (nitroselüloz membran) sistemi yerleştirildi ve 1 saat süreyle 70 volt sabit akım uygulanarak jel üzerinde bulunan proteinler membrana transfer edildi. Daha sonra membran nonspesifik bağlanmaları önlemek için %5'lik yağsız süt tozu içine bırakılarak +4°C'de 1 gece bekletildi (blokama). Bloklanmış membran %0.1'lik Tween-20 içeren PBS ile bir kez yıkanıp pozitif, negatif ve çapraz kontrol koyun serumları (primer antikor) %0.02 Tween-20 içeren PBS ile 1/200 oranında sulandırılarak membrana eklendi ve 2 saat 37°C'de bekletildi. Sürenin sonunda membran %0.1 Tween-20 içeren PBS ile 5'er dakika süreyle dört kez yıkandı. Sekonder antikor (peroksidaz ile işaretli anti-sheep IgG, Lot No: A3415, Sigma) %0.02 Tween-20 içeren PBS ile 1/5000 oranında sulandırılıp membrana eklendi ve bu şekilde 37°C'de 2 saat inkübe edildi. Sürenin bitiminde 4 kez 5'er dakika yıkama işlemi yapıldı ve membranlara substrat solüsyonu (DAP substrat, Thermo) eklenip oluşan bandlar değerlendirildi (18).

Bulgular

Bu çalışmada, *C. cerebralis* ile enfekte 40 adet kuzu serumu ile negatif kontrol olarak 40 adet yeni doğmuş kuzu serumu çalışılırken, çapraz reaksiyonların belirlenmesi amacıyla da 20 adet hidatik kist ve 20 adet de *C. tenuicollis* ile enfekte koyun serumu WB ile test edildi. Koyun *C. cerebralis* kist sıvısı antijeninin SDS-PAGE ile ayrıştırılması neticesinde jel üzerinde moleküler ağırlığı 12 ile 180 kDa arasında değişen 8 band (12, 24, 34, 38, 50, 75, 106, 180 kDa) gözlemlendi (Şekil 1). Serumların WB ile işlenmesi neticesinde ise 24 ve 68 kDa büyüklüğünde iki band gözlemlendi (Şekil 2).

Kesin olarak pozitif ve negatif olduğu bilinen serumlar işlenerek tanımlayıcı band tespit edildi. Bunlardan 68 kDa olan band, bütün örneklerde (hem negatif hem de pozitif serumlarda) belirlenirken 24 kDa'luk band daha çok pozitif örneklerde tespit edildi. Buna göre, her iki bandın da gözlemlendiği örnekler pozitif, sadece 68 kDa'luk bandın gözlemlendiği örnekler ise negatif

olarak değerlendirildi. Bu değerlendirme sonucunda, kesin olarak *C. cerebralis* pozitif olduğu bilinen 40 koyun serumunun 17 (%42,5)'si pozitif olarak değerlendirildi. Öte yandan kesin olarak negatif olduğu bilinen 40 serumun tamamı (%100) negatif sonuç verdi. Çapraz reaksiyonların belirlenmesi amacıyla işlenen 20 adet hidatik kist pozitif serumun 9 (%45)'ü pozitif yanıt verirken, 20 adet *C. tenuicollis*'li serumun 3 (%15)'ü pozitif yanıt verdi.



Şekil 1. SDS-PAGE jelinde ayrıştırılan koyun *C. cerebralis* kist sıvısı antijeninin oluşturduğu bandların görünümü



Şekil 2. Western blot sonucunda elde edilen bandların görünümü. M: Marker, 1-15: Kesim sonrası *C. cerebralis* olduğu teyid edilmiş pozitif kontrol serumları, 16-22: Negatif kontrol serumları

Tartışma

Coenurus cerebralis kistlerinden kist sıvısı, skoleks ve kist duvarı olmak üzere üç tip antijen elde edilebilir. Skoleks ve kist sıvısı antijenleri, benzer metasestodlarda en yaygın kullanılan tanı antijenleridir (16). Bu çalışmada, *C. cerebralis* kist sıvısı antijeninin SDS-PAGE analizi yapıldı ve immunojen bandların hangileri olduğu WB ile araştırıldı. Neticede kist sıvısı antijeninde elektroforetik olarak 8 band (12, 24, 34, 38, 50, 75, 106, 180 kDa) belirlenirken bunların sadece üçü (12, 38 ve 75 kDa) keskin band profili özelliği sergiledi. Kordafshari ve ark. (19), *C. cerebralis*'in antijenik kısımlarının elektroforezinde, kist duvarı ve skoleks antijenlerinde altı band ve kist sıvısı antijeninde ise büyüklükleri 20 ila 63 kDa arasında değişen üç silik band gözlemlenmişler ve 20 kDa'luk band üç antijen için de ortak olduğunu belirlemişlerdir. Jeyathilakan ve ark. (20) ise *C. cerebralis* kist sıvısı antijeninin elektroforetik analizinde 16, 24, 38,

68, 106 ve 202 kDa büyüklüğünde altı band elde etmişlerdir. Bizim çalışmamızda belirlenen 24, 38 ve 106 kDa'luk bandların ortak, diğer bandların da yakın büyüklükte olduğu görülmektedir. Protein band profillerinde gözlenen değişiklikler, antijenin hazırlandığı farklı hayvan türleri ve bir ülke içinde aynı hayvan türünde bulunan farklı suş varyasyonları dahil olmak üzere birçok faktöre bağlanabilir. Bu durum aynı zamanda farklı antijen hazırlama yöntemlerine, kullanılan saflaştırma türlerine ve saklama yöntemleriyle de ilişkili olabilir. Ayrıca, *C. cerebralis*'lerdeki çok yüksek moleküler ağırlıklı protein komplekslerinin indirgeyici koşullar altında daha küçük boyutlu, iki veya daha fazla alt birime ayrışabileceği gerçeği de göz önünde bulundurulmalıdır (21).

Bu çalışmada, *C. cerebralis* kist sıvısı antijeninin tanısal değerini belirlemek amacıyla, kesim sonu inceleme ile *C. cerebralis* olduğu kanıtlanmış koyunların serumlarında, enfekte olmayan kontrol koyunlarında ve diğer parazitlerle enfekte koyunlardan toplanan serumlarda anti-*C. cerebralis* antikorlarını yakalamada bu antijenin tanısal sensitivite ve spesifitesini test etmek için WB kullanıldı. Neticede, *C. cerebralis* kist sıvısı antijeninin koyun serumları ile WB analizi neticesinde hem pozitif hem de negatif örneklerde 68 kDa'luk band tespit edilirken bununla birlikte 24 kDa'luk bandın gözlemlendiği örnekler pozitif olarak kabul edildi. Başka bir çalışmada hiperimmün koyun serumları ile muamele edilen *C. cerebralis* kist sıvısı antijeninin 68, 106 ve 202 kDa büyüklüğünde üç polipeptid ile reaksiyona girdiği ifade edilmiştir (20). Araştırmacıların tanısal polipeptid olarak kabul ettikleri 68 kDa'luk bandın bu çalışmada da tespit edilmesine rağmen mevcut çalışmada pozitiflik tanı kriteri olarak 24 kDa'luk band seçilmiştir. Tanısal bandlardaki bu farklılığın sebebi, antijen hazırlama ve saklama koşullarındaki farklılığın yanısıra farklı suş oluşumu ile de ilişkili olabilir.

Bu çalışmada kullanılan antijenin sensitivitesi %42.5 (17/40) iken spesifitesi %100 (40/40) olarak belirlendi. Kist sıvısı ve skoleks antijenlerinin kist duvarı antijenine kıyasla daha yüksek tanısal hassasiyet ve özgüllüğe sahip olduğunu bildiren çalışmalar olmasına

(12, 16, 22) rağmen Carmena ve ark. (23) sıvı antijenlerin skoleks antijeninden daha üstün olduğunu vurgulamışlar ve sıvı antijenlerini diğer antijenlerden daha spesifik ve yüksek protein içerikli olarak tanımlamışlardır. Ancak, metasestodların sıvı antijenleri genellikle enfekte konak serumlarında bulunan spesifik immünooglobülin ile çapraz reaksiyona girdiği için teşhisin doğruluğunu sınırlayabilmektedirler. Nitekim bu çalışmada da kist sıvısı antijeninin sensitivitesi oldukça düşük (%42.5) olarak belirlenmiştir. Bu nedenle, tanısal antijen olarak ham antijenlerin kullanılması, seri üretim aşamasında dengesiz termal stabilite gösterdikleri için ham antijen kullanılan çalışmalar çok ileri gidememiştir. Sonuç olarak, rekombinant antijenlere dayanan yöntem artmış ve paraziter hastalıkları teşhis etmek için giderek daha fazla kullanılmaya başlanmıştır (24).

Coenurosis'in erken dönem tanısı amacıyla rekombinant TmGP50 proteini kullanılarak dizayn edilen indirekt ELISA sonuçlarına göre protein %95 sensitivite ve %92.6 spesifite sergilemiştir (12). Başka bir çalışmada, koyun kökenli *T. multiceps* HSP70 klonlandıktan sonra eksperese edilip rekombinant TmHSP70 proteini elde edilmiştir. Bahsi geçen rekombinant proteinin WB analizinin sensitivite ve spesifite değerleri %100 olarak belirlenirken ELISA testinin sensitivite ve spesifite oranları sırasıyla %66.6 ve %52.6 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada testler arasındaki ikili karşılaştırmalar sonucunda elde edilen doğruluk oranlarına bakıldığında, ELISA testinin sensitivite ve spesifite değerlerinin WB testine kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durumun sebebi WB testinde hem pozitif hem de negatif serumlarda gözlenen 17 kDa'luk bandın ELISA testinde bir arka plan oluşturmasına ve OD değerlerinin yüksek çıkmasına yol açarak yanlış yorumlamalara yol açması olabilir diye yorumlanmıştır (13).

Bu çalışma ile elde edilen veriler, *C. cerebralis*'in teşhisi amacıyla ham kist sıvısı antijeninin WB'daki kullanımının yeterli tanısal doğruluğa ulaşmadığını göstermiştir. Bu nedenle özellikle rekombinant antijen temelli tanı metodlarının geliştirilmesi faydalı olacaktır.

Kaynaklar

- Oryan A, Googipour S, Moazeni M, Shirian S. Abattoir prevalence, organ distribution, public health and economic importance of major metacestodes in sheep, goats and cattle in Fars, southern Iran. Trop Biomed 2012; 29: 349-359.
- Sharma DK, Chauhan, PPS. Coenurosis status in Afro-Asian region: A review. Small Rum Res 2006; 64: 197-202.
- Yılmaz R, Özyıldız Z, Yumuşak N, Koyunlarda Coenurus cerebralis'in patomorfolojik bulguları. Harran Üniv Vet Fak Derg 2014; 3: 73-77.
- Scott PR. Diagnosis and treatment of coenurosis in sheep. Vet Parasitol 2012; 189: 75-78.
- Scala A, Varcasia, A. Updates on morphobiology, epidemiology and molecular characterization of coenurosis in sheep. Parassitologia 2006; 48: 61-63.
- Uslu U, Guclu F. Prevalence of *Coenurus cerebralis* in sheep in Turkey. Med Weteryn 2007; 63: 678-680.
- Biçek K, Karakuş A, Değer MS. Van ilinde *Coenurus cerebralis*'in yaygınlığı ve Coenurosis'in teşhisinde yardımcı bir parametre olarak enolaz (NSE) enziminin önemi. Atatürk Üniv Vet Bil Derg 2019; 14: 185-192.
- Karakurt E, Nuhuğlu H, Barış S, et al. Clinical, histopathological and parasitological evaluation of *Coenurus cerebralis* infecting domesticated and wild ruminants from Kars Province, Turkey. Dicle Üniv Vet Fak Derg 2019; 12: 122-127.
- Gökpinar S, Yıldız K. Klinik bakımdan sağlıklı görünümü koyunlarda Coenurosisin yaygınlığı. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2012; 18: A187-A191.
- Varcasia A, Tamponi C, Ahmed F, et al. *Taenia multiceps* coenurosis: A review. Parasites Vectors 2022; 15: 84.

11. Wang Y, Nie H, Gu X, et al. An ELISA using recombinant TmHSP70 for the diagnosis of *Taenia multiceps* infections in goats. *Vet Parasitol* 2015; 212: 469-72.
12. Huang X, Xu J, Wang Y, et al. GP50 as a promising early diagnostic antigen for *Taenia multiceps* infection in goats by indirect ELISA. *Parasites and Vectors* 2016; 9: 618.
13. Gunyakti Kilinc S, Simsek S, Celik F, Kesik HK. Cloning, expression and serodiagnostic potential of HSP70 of *Taenia multiceps* in sheep. *Mol Biochem Parasitol* 2021; 245: 111397.
14. Varcasia A, Tosciri G, Coccone GS. Preliminary field trial of a vaccine against coenurosis caused by *Taenia multiceps*. *Vet Parasitol* 2009;162: 285-289.
15. Sun GG, Wang ZQ, Liu CY, et al. Early serodiagnosis of trichinellosis by ELISA using excretory-secretory antigens of *Trichinella spiralis* adult worms. *Parasites and Vectors* 2015; 8: 1-8.
16. Mahdy OA, Mousa WM, Abdel-Maogood SZ, Abdel-Radi S, El-Bahy MM. Characterization of immunogenic protein fractions of sheep cysticercosis in Cairo, Egypt. *J Hel Vet Med Soc* 2017; 68: 291-298.
17. El Akkad DMH, Ramadan RM, Auda HM, et al. Improved Dot-ELISA assay using purified sheep *Coenurus cerebralis* antigenic fractions for the diagnosis of zoonotic coenurosis. *World's Vet J* 2022; 12: 237-249.
18. Kesik HK, Simsek S, Gunyakti Kilinc S, Koroglu E. Identification of antigen B (AgB) gene polymorphism in cattle and sheep isolates of *Echinococcus granulosus* and investigation of effects on serological diagnosis. *Acta Tropica* 2019; 199: 105099.
19. Kordafshari S, Hosseini SH, Meshgi B, Youssefi MR. Comparison of electrophoretic patterns of larval stages of Taeniidae and determination of specific antigens of hydatid cyst by western blotting technique. *Global Vet* 2010; 4: 601-606.
20. Jeyathilakan N, Basith SA, John L, Chandran NDJ, Dhinakarraj G. Immunochemical localization of cross-reactive proteins of bladderworms with special reference to detection of specific antigen in cystic echinococcosis of sheep: Immunochemical localization of cross-reactive proteins of cystic echinococcosis of sheep. *Indian J Vet Anim Sci Res* 2021; 50: 37-47.
21. Ahmad G, Nizami WA, Saifullah MK. Analysis of potential antigens of protoscolices isolated from pulmonary and hepatic hydatid cysts of *Bubalus bubalis*. *Comp Immunol, Microbiol Inf Dis* 2001; 24: 91-101.
22. Ramadan RM, Khalifa MM, El-Akkad DM, Abdel-Wahab AM, El-Bahy MM. Animal hydatid cyst genotypes as a potential substitute for human hydatid cyst as a source of antigen for diagnosis of zoonotic hydatidosis. *J Parasit Dis* 2021; 45: 424-434.
23. Carmena D, Benito A, Eraso E. Antigens for the immuno diagnosis of *Echinococcus granulosus*. An update. *Acta Tropica* 2006; 98: 74-86.
24. Ndao M. Diagnosis of parasitic diseases: Old and new approaches. *Interdisp Persp Inf Dis* 2009: 278246.