

**TRAKYA'DA KIRIM KONGO KANAMALI
ATEŞİ AÇISINDAN RİSKLİ ALANLARDA
KENE TÜRLEİNİN ARAŞTIRILMASI VE
Hyalomma marginatum'DA KKKA VİRÜS
VARLIĞININ BELİRLENMESİ**

GÜRKAN AKYILDIZ

**Doktora Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı**

Danışman: Doç. Dr. Sırrı Kar

2018

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

TRAKYA'DA KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞİ AÇISINDAN
RİSKLİ ALANLARDA KENE TÜRLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE
Hyalomma marginatum'da KKKA VİRÜS VARLIĞININ
BELİRLENMESİ

Gürkan AKYILDIZ

Biyoloji ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Doç. Dr. Sırrı KAR

TEKİRDAĞ-2018

Her hakkı saklıdır

Doç. Dr. Sırrı KAR danışmanlığında, Gürkan AKYILDIZ tarafından hazırlanan “Trakya’da Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Açısından Riskli Alanlarda Kene Türlerinin Araştırılması ve Hyalomma marginatum’da KKKA Virüs Varlığının Belirlenmesi” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı’nda Doktora tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Prof. Dr. Ayşen GARGILI KELEŞ

İmza :

Üye : Doç. Dr. Sırrı KAR

İmza :

Üye : Doç. Dr. Kerem ÖTER

İmza :

Üye : Doç. Dr. Rıfat BİRCAN

İmza :

Üye : Doç. Deniz ŞİRİN

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

TRAKYA'DA KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞİ AÇISINDAN RİSKLİ ALANLARDA KENE TÜRLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE *Hyalomma marginatum*'DA KKKA VİRÜS VARLIĞININ BELİRLENMESİ

Gürkan AKYILDIZ

Tekirda Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sırrı KAR

Keneler tüm aktif dönemlerinde yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmek için sıcak ya da soğukkanlı canlılardan kan emmek zorunda olan ve kan emme esnasında birçok hastalığı aktarma yeteneğine sahip olan ektoparazitik artropodlardır. Kenelerin kan emerken aktardıkları en önemli insan hastalıklarından biri Kırım-Kongo kanamalı ateşidir (KKKA). İlgili hastalığın vektörlüğü ile ilgili Dünya üzerinde tanımlanmış birçok kene türü olmasına rağmen; Türkiye'de bu hastalıktan sorumlu tür *Hyalomma marginatum*'dur. Bu tezde, Trakya'nın KKKA açısından önemli bir bölgesi olan Yıldız dağlarının Güneye bakan yamaçlarında bulunan kene türlerinin ortaya konulması ve KKKA vektörü olan *H. marginatum*'larda KKKA virüs varlığının araştırılması hedeflenmiştir. Bu tezde, Trakya'nın KKKA açısından önemli bölgelerinden sahadan aç keneler toplanmış, türleri tanımlanmış ve toplanan kene türlerinden 200 adet *H. marginatum* ergini seçilerek viral RNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen RNA'lar KKKA özgü primerler ile polimeraz zincir reaksiyonuna sokulmuştur. Pozitif çıkan örneklerden 9 tanesi seçilmiş ve dizi analizleri yapılarak en yakın oldukları virüs suşları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Trakya'nın KKKA açısından önemli olan bölgelerinde *Dermacentor marginatus*, *Dermacentor* sp. larva, *Hyalomma aegyptium*, *Hyalomma marginatum*, *Haemaphysalis inermis*, *Haemaphysalis parva*, *Haemaphysalis punctata*, *Haemaphysalis* sp. nimf, *Ixodes acuminatus*, *Ixodes ricinus*, *Ixodes* sp. nimf, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus turanicus* türlerine rastlanmıştır. Seçilen *H. marginatum*'lar ile yapılan analizlere göre bölgedeki vektör kenelerde virüs %51,5 oranında pozitif çıkmıştır. Dizi analiz sonuçlarına göre bölgede hastalıktan sorumlu virüs suşları genellikle Kosovo-Hoti suşuna %99 benzer bulunmuştur. Sadece 1 suş Türkiye'de ilk kez Stavropol izolatına %98 benzer bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Kene, KKKA, *Hyalomma marginatum*

2018, 71 sayfa

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

INVESTIGATION OF TICK SPECIES IN RISKY AREAS FOR CRIMEAN CONGO
HEMORRHAGIC FEVER IN THRACE AND DETERMINATION OF CCHF VIRUSES IN
Hyalomma marginatum

Gürkan AKYILDIZ

Namık Kemal University in Tekirdağ
Graduate School of Nature and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Doç. Dr. Sırrı KAR

Ticks are ectoparasitic arthropods, which have the ability to suck blood in all active periods for sustain of vital activities from warm or cold-blooded animals, and have the ability to transmit many diseases during this process. Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) is one of the most important disease transmitted by ticks while sucking blood. Although there are many tick types identified on the Earth related to vectors of related disease; the only species confirmed as the responsible for human infection of CCHF in Turkey is *Hyalomma marginatum*. In this thesis, it is aimed to investigate the tick species located on the slopes of the Yıldız Mountains, which is an important region of Trakya in terms of CCHF, and to investigate the presence of CCHF viruses in *H. marginatum* which is the CCHF vector. In this thesis, hungry ticks were collected from the important regions of Trakya in terms of CCHF, species were identified and viral RNA extraction was performed on selected 200 adult *H. marginatum* from collected ticks. The obtained RNAs were reacted with CCHF specific primers to polymerase chain reaction. 9 out of the positive samples were selected and most relative virüs strains of samples were determined by sequence analysis. In the study *Dermacentor marginatus*, *Dermacentor* sp. larvae, *Hyalomma aegyptium*, *Hyalomma marginatum*, *Haemaphysalis inermis*, *Haemaphysalis parva*, *Haemaphysalis punctata*, *Haemaphysalis* sp. nimf, *Ixodes acuminatus*, *Ixodes ricinus*, *Ixodes* sp. nimf, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus turanicus* species were determined. As the result of screening of 200 *H. marginatum* adults for CCHF virus, 51.5% of the samples was determined as positive. According to the results of the sequence analysis, the virus strains responsible for the disease in the region were generally similar to 99% of the Kosovo-Hoti strain, and only one strain was similar to the 98% of Stavropol isolate.

Key words: Tick, CCHF, *Hyalomma marginatum*

2018, 71 pages

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGE DİZİNİ	iv
ŞEKİL DİZİNİ	v
SİMGELER ve KISALTMALAR	vi
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR	vii
1.GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	5
2.1. Kan Emen Artropodlar, Önemi ve Evrimi.....	5
2.2. Kenelerde Biyoloji, Morfoloji, Ekoloji, Sınıflandırılma ve Evrim	8
2.2.1. Argasidae - Yumuşak keneler	21
2.2.2. Ixodidae - Sert keneler.....	21
2.2.3. Nuttaliellidae - Nama keneleri.....	24
2.2.4. Deinocrotonidae - Fosil Dinazor Keneleri.....	24
2.3. Türkiye’de bulunan keneler.....	26
2.4. Kenelerin Vektörlükleri ve Aktardıkları Önemli Hastalıklar	27
2.4.1. Kırım Kongo kanamalı ateşi.....	29
3. MATERYAL ve YÖNTEM	36
3.1. Kullanılan Kimyasallar.....	36
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	36
3.3.Kullanılan Kitler	37
3.4. Örneklerin Toplanacağı Konumların Belirlenmesi	37
3.6. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Virüsü Araştırması İçinSeçilen Keneler.....	39
3.7. Viral RNA Ekstraksiyonu.....	40
3.8. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	40
3.8.1. RT-Nested-PZR.....	41
3.9. Agaroz Jel Elektroforezi.....	44
3.10. DNA Dizi Analizi.....	44
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	46
4.1. Sahadan Toplanan Keneler ile İlgili Bulgular	46
4.2. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Virüsü ile İlgili Bulgular	47
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	55
6.KAYNAKLAR	60
ÖZGEÇMİŞ	71

ÇİZELGE DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1. Seçilen <i>H. marginatum</i> erginleri ile ilgili odaklar ve sayısal veriler.....	39
Çizelge 3.2. Kullanılan primerler.....	42
Çizelge 3.3. Nested PZR aşamasında kullanılan reaktiflerin miktarları ve konsantrasyonları.....	42
Çizelge 3.4. RT-PZR aşamasında uygulanan şartlar.....	43
Çizelge 3.5. Nested PZR aşamasında uygulanan şartlar.....	43
Çizelge 4.1. Trakya sahasından toplanan kene türleri ve sayısal veriler. Sayısal veriler daha önceden gerçekleştirmiş olduğumuz araştırma projesinin verileri ile birleştirilerek tür bazında yıllık ortalama kene sayıları oluşturulmuştur (Kar 2016).....	46
Çizelge 4.2. Seçilen <i>H. marginatum</i> türü kenelerin lokasyon bazında KKKA pozitifliği bakımından karşılaştırılması.....	48
Çizelge 4.3. DNA Dizi analizi yapılan KKKA virüsü S segmentindeki bölgenin en fazla benzerlik gösterdiği izolatlar.....	53
Çizelge 5.1. Türkiye’de KKKA yaygınlığı ile ilgili yapılmış çalışmalarla ilgili veriler (Albayrak ve ark. 2012, Gargili ve ark. 2011, Gunes ve ark. 2009, Gunes ve ark. 2011, Hekimoglu ve ark. 2012, Tekin ve ark. 2012, Tonbak ve ark. 2006, Vatansever 2007c, Yesilbag ve ark. 2013).....	57

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Parazit artropodlara bazı örnekler. Kene (a), pire (b), sivrisinek (c) ve sarkoptes (uyuz) (d) (Wall 2001).....	5
Şekil 2.2. Warburton'a ait kene sınıflandırması (Nuttall 1911).....	11
Şekil 2.3. Hoogstral'ın oluşturduğu filogenetik ağacın orjinal çizimi (Barker ve ark. 2004, Estrada-Pena 2010, Guglielmone ve ark. 2010, Guglielmone 2014, Horak ve ark. 2002, J H Oliver 1989, Klompen ve ark. 2000).....	13
Şekil 2.4. Kenelerin morfolojik şeması (Wall 2001).....	15
Şekil 2.5. Gnathosomanın morfolojik şeması (Wall 2001).....	15
Şekil 2.6. Ixodid kene örneği: Hyalomma marginatum (Karaer ve Kar 2009).....	23
Şekil 2.7. Kene-Konak ilişkileri. Tek konaklı (a), iki konaklı (b), üç konaklı (c) (Hornok 2017, Kolonin 2007, Sonenshine 1993).....	23
Şekil 2.8. Myanmar'da bulunmuş 99 milyon yıllık amber içinde korunmuş kene ve hastiseta örneği (Penalver ve ark. 2017).....	25
Şekil 2.9. KKKK hastalığının hayat döngüsü (Spengler ve ark. 2016).....	30
Şekil 2.10. KKKH kaynaklı vaka ve ölümlerle ilgili 2002-2017 yılları arası veriler (Anonim 2018).....	31
Şekil 2.11. KKKK virüsünün şematik yapısı (Ergonul 2006).....	33
Şekil 2.12. KKKH virüsünün hücre içi döngüsü (Whitehouse 2004).....	34
Şekil 3.1. Bayraklama yöntemi ile pusucu kenelerin aranması.....	38
Şekil 4.1. Kene cinslerine göre aylık oransal dağılım.....	47
Şekil 4.2. RT-Nested PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüleri. 1-9 no'lu örnekler s-50 kodlu arazi, 11-15 no'lu örnekler s-23 kodlu arazi, 16-20 no'lu örnekler s-25 kodlu arazi, 22-40 no'lu örnekler s-24 kodlu arazi, 44-58 no'lu örnekler s-22 kodlu araziye ait pozitif örneklerdir.....	49
Şekil 4.3. RT-Nested PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüleri. 59 no'lu örnek s-22 kodlu arazi, 62-83 no'lu örnekler s-52 kodlu arazi, 87-96 no'lu örnekler s-47 kodlu arazi, 100-126 no'lu örnekler s-30 kodlu arazi, 137-140 no'lu örnekler s-44 kodlu araziye ait pozitif örneklerdir. Pozitif örneklerde 211 bç bant belirgin olarak görülmektedir.....	50
Şekil 4.4. RT-Nested PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüleri. 141-144, 152-153, 155 ve 161 no'lu örnekler s-44 kodlu arazi, 173-180 no'lu örnekler s-46 kodlu arazi, 181-187 no'lu örnekler s-26 kodlu araziye ait pozitif örneklerdir. 149, 154 ve 157 no'lu örnekler s-44 kodlu araziye ait negatif örneklerdir. Pozitif örneklerde 211 bç bant belirgin olarak görülmektedir.....	51
Şekil 4.5. RT-Nested PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüleri. 189-200 no'lu örnekler s-26 kodlu araziye ait pozitif örneklerdir. Pozitif örneklerde 211 bç bant belirgin olarak görülmektedir.....	52
Şekil 4.6. DNA dizi analizi sonuçlarına göre oluşturulan filogenetik ağaç.....	54

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABA	: Akdeniz Benekli Ateşi
cDNA	: Komplementer deoksiribonükleik asit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksinükleotit trifosfat
ddNTP	: Dideoksinükleotit trifosfat
ddATP	: Dideoksiadenin trifosfat
ddCTP	: Dideoksisitozin trifosfat
ddGTP	: Dideoksiguanin trifosfat
ddTTP	: Dideoksitimidin trifosfat
ER	: Endoplazmik retikulum
EtBr	: Etidyum bromür
GC	: C-terminal glikoprotein
GN	: N-terminal glikoprotein
KKKA	: Kırım-Kongo kanamalı ateşi
L	: KKKA büyük RNA segmenti
M	: KKKA orta RNA segmenti
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
N1	: 1. aşama nimf
N2	: 2. aşama nimf
UV	: Ultraviyole
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik asit
RT	: Ters transkripsiyon
S	: KKKA küçük RNA segmenti
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
-ssRNA	: negatif polariteli tek zincirli ribonükleik asit
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
TBE	: Tris borik asit EDTA

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve doktora öğrenimimde bilgi birikimini ve deneyimlerini benimle paylaşan, bilimsel desteğini benden esirgemeyen, yaptığımız bütün çalışmaların eğlenceli geçmesini sağlayan değerli danışman hocam Doç. Dr. Sırrı KAR'a;

Tez çalışmamın deney aşamasında yardımlarını benden esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Rıfat BİRCAN ve tüm Biyoloji A.D. mensuplarına;

Doktora öğrenimim ve tez çalışmamın yorgunluğunu ve stresini atmamda yardımcı olan ve beni motive eden değerli arkadaşım Ayhan DEMİR'e ve doktora öğrenimim boyunca akademik gelişmeler ile ilgili tüm bilgileri benimle paylaşan sevgili arkadaşım Medine Münevver UMA'ya;

Doktora öğrenimim sırasında tez çalışmam dışında farklı çalışmalarda da yer almamı sağlayan sayın hocalarım Prof. Dr. Ayşen GARGILI KELEŞ ve Doç. Dr. Deniz ŞİRİN'e;

Doktora öğrenimim boyunca maddi manevi hiçbir desteği benden esirgemeyen ve doktora öğrenimimi tamamlamamda şüphesiz büyük payı olan sevgili ailem ve beni bu yolda hiç yalnız bırakmayan canım eşim Dilan Hevra AKYILDIZ'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca Doğa ve Bilim'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasının bir kısmı Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından NKUBAP.00.10.AR.14.14 numaralı proje ile desteklenmiştir.

1.GİRİŞ

Tüm aktif dönemlerinde beslenme ihtiyacı başta olmak üzere gömlek değiştirebilmek, yumurtlayabilmek ve/veya sperm üretebilmek için sıcak veya soğukkanlı hayvanlardan kan emmek zorunda olan kenelerin (Sonenshine 1993) günümüzde de kabul gördüğü sınıflandırma Hiepe ve Ribbeck tarafından yapılmıştır (Schumann 1983). Bu sınıflandırmaya göre keneler; Arthropoda şubesinde, Arachnida sınıfında, Acarina alt sınıfında, Parasitiformes takımında ve Ixodida alt takımında Ixodidae, Argasidae ve Nuttalliellidae ailelerinden oluşmaktadır. Ixodidae ailesinde *Amblyomma*, *Bothriocroton*, *Nosomma*, *Anomalohimalaya*, *Cosmiomma*, *Margaropus*, *Rhipicentor*, *Cornupalpatum*, *Compluriscutula*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Ixodes* ve *Rhipicephalus* olmak üzere 14 cins, Argasidae ailesinde *Argas*, *Antricola*, *Nothoaaspis*, *Carios*, *Ornithodoros*, *Otobius* olmak üzere 6 cins ve Nuttalliellidae ailesinde *Nuttalliella* olmak üzere 1 cins bulunmaktadır. Dünya üzerinde 720'si Ixodidae (mera kenesi, sert kene), 186'sı Argasidae (mesken kenesi, yumuşak kene) ve 1'i de Nuttalliellidae (Nama kenesi) ailesine ait olmak üzere 907 kene türü belirlenmiştir (Barker ve ark. 2004). Türkiye'de 32 adet tür yaygın olarak bulunmaktadır (Karaer 1997). Türkiye'de bulunan türlerin 28'i Ixodidae ailesine ait *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Ixodes* cinslerinde, diğer 4'i Argasidae ailesindeki 3 cinste (*Argas*, *Ornithodoros*, *Otobius*) yer aldığı tespit edilmiştir (Aydın ve ark. 2007); ancak, son yıllarda yapılan yoğun saha taramaları ülkemizdeki tür sayısının bu değer üzerinde olabileceğini göstermektedir. Geçmişe yönelik Türkiye'deki kene verilerini içeren makaleler ile yapılan bir çalışmaya göre Türkiye'de 1915 ve 2011 yılları arasında görülmüş kene türleri 38'i Ixodidae ve 8'i Argasidae ailelerine dahil olmak üzere 46 tür olarak belirlenmiştir (Bursali ve ark. 2012).

Gelişimlerini devam ettirmek için kan emmek zorunda olan kenelerin konak üzerinde kalma süreleri uzundur. Bunun nedeni olarak; kenelerde kan emme işlemi sırasında yeni kütikula sentezi de gerçekleştiği için kan emme işleminin kesintili olması gösterilmektedir (Spielman 2000, Anderson ve ark. 2008). Keneler doyduklarında kendi ağırlıklarının 100-120 katı kadar ağırlık kazanırlar; fakat emdikleri kan aslında çok daha fazladır. Emdikleri kanın sıvı kısmının çoğunu tükürük bezleri ile konağa geri vermektedirler (Anderson ve ark. 2008). Bu durum taşıdıkları hastalık etkenlerini etkin bir şekilde aktarmalarına katkı sağlamaktadır. Keneler doyduklarında konaktan ayrılma zamanları türlere, tercih ettikleri konakların aktivitelerine, yaşam tarzlarına ve gece veya gündüze göre değişmektedir (Sonenshine 2002, Balashov 2005).

Smith ve Kilbourne 1893'de patojenlerin omurgalı hayvanlara artropodlar tarafından taşınabildiğini göstermiştir ve zoonotik hastalıklara sebep olan patojenlerin %22'sinin vektörler tarafından aktarıldığı ortaya konmuştur (Taylor ve ark. 2001, Anderson ve ark. 2008). Bilinen kene türünün yaklaşık %10'unun, 200 kadar hastalığın bulaştırılması ile ilgili olduğu bildirilmektedir (Jongejan ve ark. 2004, Labuda ve ark. 2004).

Keneler taşıdıkları hastalık etkenlerini çeşitli şekillerde aktarabilirler. Tükürük salgısı ile Arboviruslar, *B. burgdorferi*, benekli humma grubu rickettsialar, coxal sıvı ile relapsing fever grubu rickettsialar, kusma ile *Ehrlichia ruminantium*, bazen *B. burgdorferi* ve dışkı ile *Coxiella brunetti* gibi hastalık etkenlerini verebilse de, kenelerle bulaşan hastalıkların ekolojisinde en önemli bulaş yolu tükürük salgısıdır (Lane 1994). Hastalık etkenlerinin tükürük salgısı ile bulaşması genellikle zaman alabilmektedir. Virüslerin konağa keneler tarafından verilmeye başlama süresi, genellikle, kenelerin kan emmeye başlamasından itibaren 5-6 saat, *Rickettsia* türleri 10 saat, *Borrelia* türleri ise 48 saat sürmektedir (Lane 1994, Spielman 2000). Kenelerin sahip oldukları tükürük salgısı, özellikleri etkin vektör olmalarını sağlayan en önemli unsurlardan birisidir. Tükürük salgısı konak direncini modüle eden birçok faktörle birlikte, hastalık etkenlerinin konakta barınabilmesini ve enfeksiyon oluşturabilmesini sağlayan faktörleri de içermektedir (Piesman ve ark. 1990, Labuda ve ark. 1993).

KKKA kayıtlara ilk olarak 1944 yılında Kırım'da, 1956'da da Kongo'da geçmiştir. Günümüzde, kenelerle bulaşan viral hastalıklar arasında en geniş prevalansa sahip olup, 30'dan fazla ülkeyi etkilemektedir (Hoogstraal 1979, Whitehouse 2004, Ergonul ve ark. 2006). Hastalık Asya'da, Orta Doğu'da Afrika'da ve Güney Doğu Avrupa'da görülmektedir (Rodriguez ve ark. 1997, Whitehouse 2004, Papa ve ark. 2005, Bente ve ark. 2013). Türkiye'de KKKA 2002'de Tokat ve Sivas illerinde klinik belirtiler ile ortaya çıkmıştır. Aynı yıl Sağlık Bakanlığı'nın verilerine göre vaka sayısı 150, ölüm sayısı ise 6 olarak tespit edilmiştir. Ölüm oranları 2009 yılına kadar artarak devam etmiştir, daha sonra hastalığın düşüş trendi başlamıştır (Gargılı 2007, Anonim 2018). T.C. Sağlık bakanlığı verilerine göre 2002-2017 yılları arasında Türkiye'de toplam 10562 olgu bildirilmiş olup, bunlardan 501'i (%4,74) ölüm ile sonuçlanmıştır (Leblebicioglu ve ark. 2016, Anonim 2018).

Kırım Kongo kanamalı ateşi virüsü Bunyaviridae ailesi, Nairovirus cinsinde yer almaktadır. Birçok evcil ve yabani hayvan virüs tarafından enfekte edilse de hastalık hafif seyretmektedir. İnsanlarda ortalama 1-9 günlük inkübasyondan sonra ciddi bir enfeksiyon tablosu oluşur ve mortalite %3-30 arasında değişmektedir. Birçok kuş türü virüse karşı

dirençlidir ve virüsün yayılmasında önemli rol oynamaktadır. Hastalığın döngüsü enfekte kenelerin konaktankan kan emmesi ile başlamaktadır. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi vektör kenenin yaşam döngüsü nedeniyle mevsimsel bir hastalıktır. Vektör kenelerin aktiviteleri sıcaklığın yüksek seyrettiği aylarda arttığı için hastalık özellikle bu dönemlerde görülmektedir (Hoogstraal 1979, Ergonul 2006, Turell 2007, Vatansever 2007a).

Hastalık özellikle enfekte kenelerin insandan kan emmesi veya el ile ezilmesi, taze viremik karkasa çıplak elle temas ve hasta insanların vücut sıvıları ile temas sonucu bulaşmaktadır; fakat epidemiyolojik yönden en önemli bulaşma yolu enfekte kenelerin kan emmesidir (Hoogstraal 1979, Whitehouse 2004). Hastalığın doğadaki esas taşıyıcısı ve rezervuarı keneler olarak kabul edilir. Evcil ve yabani hayvanlar virüsü ancak 7-10 gün kadar barındırabilirken, virüs kenelerde ömür boyu (1-1.5 yıl), hatta nesiller boyu (transovaryal + transstadial geçiş) kalmakta ve çoğalabilmektedir (Hoogstraal 1979, Turell 2007).

Ülkemizde KKKA virüsünün ana vektörü olan *H. marginatum*, vahşi hayat ile çok yakından ilişkilidir ve bozkır ikliminin ile diğer iklim kuşakları ile kesiştiği bölgelerde, özellikle de kuru taban örtüsüne sahip bodur ormanlık (meşelikler, çalılık) alanlarda yayılış gösterir. Kış mevsimini aç ergin olarak geçiren *H. marginatum*, ilkbaharda ortalama günlük sıcaklık 10,5°C'yi aştığında aktivite göstermeye başlamaktadır. Sıcaklığın 22-27°C ve nemin %75-100 olduğu yerlerde aktivitesini uygun seviyede sürdürür. Konak arayan aç erginler sıcaklığın 27°C'yi aşmadığı durumlarda toprak yüzeyinde aktif olarak konak beklerler. Hava sıcaklığı 30°C'yi, toprak sıcaklığı ise 45°C'yi aştığı zaman gölgede gizlenir, hatta toprak içine gömülürler. Konaklarından kan emip doyduktan sonra konaktan ayrılan dişiler, ortalama günlük sıcaklığın 16°C'nin altına düşmesi durumunda yumurtlamazlar. Gömlek değiştiren nimfler 7-42°C sıcaklık ve %0-100 nispi nem gibi daha sıra dışı şartlarda bile gelişimlerini tamamlayabilmektedir (Ouhelli 1994, Emelianova 2006).

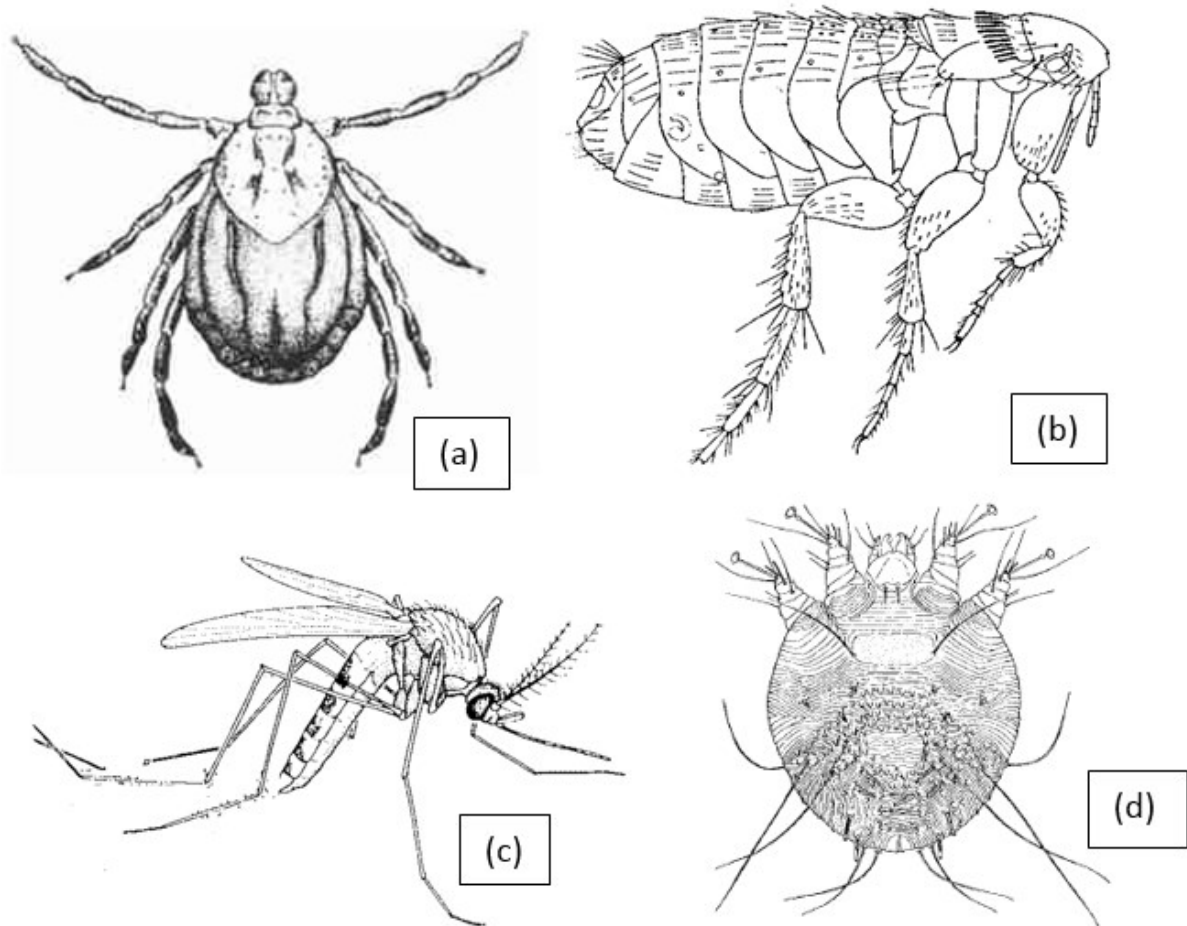
Konu ile ilgili olarak, Trakya'da, keneler ile ilgili yapılmış iki adet çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların ilkinde kene tutma şikayeti ile hastanelere başvuran insanlardan çıkarılan kenelerin türleri teşhis edilmiş olup ikinci çalışmada ise, sığırlardan toplanan kenelerde PCR yardımıyla etken taranmış ve türe göre %0,74-1,67 oranında pozitiflik elde edilmiştir. Yine, aynı bölgede Eylül 2008'de, kırsal alanda yaşayan, 3 köyden 193 kişi serolojik olarak incelenmiş ve sonuçta %10,9 IgG ve %1,5 IgM pozitifliği elde edilmiştir (Gargili 2010, Gargili ve ark. 2011).

Bu tez ile bölgedeki kene türleri ve KKKA için vektör olan *H. marginatum*'lardaki KKKA virüs yoğunluğu kesin kanıtlarıyla ortaya konmuştur. Ayrıca, sahadan toplanan aç, ergin keneler ile yürütülen çalışma sayesinde, virüsün vektördeki yaygınlığı herhangi bir şüpheyeye yer vermeksizin saptanmıştır. Söz konusu epidemiyolojik yaklaşım KKKA için, ülkemizde bir ilk durumundadır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Kan Emen Artropodlar, Önemi ve Evrimi

Artropodlar hayret verici bir şekilde tüm hayvan türlerinin %80'ini kapsamaktadır ve bilinen tüm habitatlarda yaşayabilmektedir. Ayrıca dünya üzerindeki tüm hayvanlardan çok daha fazla türe sahiptir ve tanımlanmayı ya da keşfedilmeyi bekleyen milyonlarca türü olduğu düşünülmektedir. Bu denli yüksek tür kapasitesi olmasına rağmen göreceli olarak daha az bir kısmı farklı canlılara direkt olarak bağımlı olarak yaşar. Bu yaşam tarzı parazitizm olarak adlandırılmaktadır (Baer 1951, Wall 2001). Parazit artropodlara Şekil 2.1'de örnekler verilmiştir.



Şekil 2.1. Parazit artropodlara bazı örnekler. Kene (a), pire (b), sivrisinek (c) ve sarkoptes (uyuz) (d) (Wall 2001).

Parazitler, konakta çeşitli ve önemli ölçüde zarar oluşturabilir. Konak, insanlar ve/veya insan ilişkili hayvanlar olduğu takdirde zarar ayrı bir önem kazanmaktadır. Birkaç istisna dışında bu parazit artropodlar özellikle konağın deri yüzeyinde yuvalandıkları için ektoparazitler adını alır. Konak ektoparazite, gıda olarak kullanabileceği kan, lenf sıvısı, ter, deri döküntüsü; yaşamaları için uygun sıcaklık, nem ve dış etkenlere karşı korunaklı bir alan gibi hayati derecede önemli bazı kaynaklar sunmaktadır. Ayrıca, konağın hareket edebilir olması parazitin farklı mesafeler kat edebilmesine olanak sağlamaktadır (Waage 1979). Ektoparazitlerin direkt etkileri olan kan kaybı, miasis, döküntü-kaşıntı ve toksik-alerjik reaksiyonların yanında daha ciddi bir öneme sahip olan; virüsler, bakteriler, protozoa, nematodlar ve sestodları içeren patojenlerin vektörlük yeteneğine sahiplerdir. Bu yetenek konağın yer değiştirme kabiliyeti ile birleştiğinde vektörlüğünü yaptıkları patojenin farklı bölgelere yayılması kaçınılmazdır (Kurtpınar 1960, Özcel 1960, Göksu 1981, Güralp 1981, Karaer 1997, Wall 2001).

Böcekler ve ilgili artropodların başlangıçları muhtemelen 500 milyon yıl önceye dayanırken, sıcakkanlı omurgalılardan 300 milyar yıl önce ayrılmışlardır. Ne yazık ki, böceklerin yetersiz arkeolojik kayıtları, parazitizmin nasıl evrimleştiğine dair bize çok az doğrudan bilgi sağlamaktadır. Bununla birlikte, kara omurgalıların evrimleşmesi ile zaman içinde birkaç artropod türünün yeni kaynak ve fırsatları değerlendirmiş olmaları muhtemeldir (Wall 2001, Poulin 2007).

Ektoparazitizm muhtemelen ektoparazit ile konakçı arasındaki ilişkiye bağlı olarak farklı artropod gruplarında bağımsız olarak en az iki kez olmak üzere olasılıkla birkaç belirgin evrim süreci geçirmişlerdir. Bu evrimleşme yollarından ilki, omurgalılar ile yaşamak için adapte olmuş ve genel organik maddeler ile beslenen artropodları içerebilir. Bu artropodlar daha sonra bir omurgalı sığınağı veya yuvasında bulunan deri veya kıldöküntüleri ile beslenmeye yönelmiş olabilirler. Daha sonra, döküntüler ile beslenen artropodların döküntünün kaynağı olan konağa yerleşmesi ve bazı durumlarda fakültatif ve/veya zorunlu olarak kan ile beslenmesi, ektoparazitlik için kısa bir evrimsel adım olabilir (Southwood 1973, Wall 2001, White ve ark. 2017). Ektoparazitizme giden ikinci yol, omurgalılar üzerinde beslenmelerini sağlayan mevcut adaptasyonları olan artropodları içerebilir. Bu artropodlar, ısırma, kısırtma ve emme için adapte olmuş ağız kısımlarına sahip olabilirler ve bir ihtimal omurgalıların yaralarından doku sıvısı ve/veya kan ile beslenen ya da ergin ve erginlik öncesi dönemlerinde başka artropodlara karşı aktif predatör olan canlılar olabilir. Yine, ara sıra tercih edilen bu

omurgalı kaynaklı beslenme alışkanlığı kan emmeye bağımlı olarak değişmiş de olabilir. Bu iki evrimsel yol, benzer adaptasyonlar içermektedir, ancak konak ve parazitin çok farklı ilişkilere sahip olabileceğine ışık tutmuştur (Ehrlich 1964, Price 1977, Anderson ve ark. 1982, Hafner ve ark. 1988, Poulin 2007).

Yirminci yüzyılın büyük bir bölümünde genel olarak kabul gören bakış açısı, kommensalizm veya hafif parazitliğin, konak ve parazitin birlikte evrilmesinin evrimin kaçınılmaz nihai ürünü olmasıdır. Bu bakış açısına göre parazitler konağa verdikleri zararı en aza indirerek doğal seçim ile hayatta kalacaklardır. Dolayısıyla virülan parazitlerin daha yakın bir zaman diliminde evimleştiği düşünülmektedir. Buna neden olarak konağa daha fazla zarar veren parazitlerin konağı hızlı bir şekilde zayıflatabileceği ve bunun sonucu olarak konağın ölmesi durumunda parazit gıda kaynağını kaybedecek ve konağın sağladığı avantajlardan (dış etkenlerden korunma, ısı vb.) yararlanamayacaktır. Bununla birlikte, daha yakın tarihli çalışmalar, farklı parazitler tarafından oluşturulan patojenite ve hasarın düzeyini belirlemenin evrimsel olarak birbirleri ile ilişkili olan parazit ve konağın özel davranış ve ekolojilerine bağlı olduğunu göstermektedir (Eichler 1948, Waage 1979, Wall 2001, Poulin 2007).

İnsanlar, geç mezolitik ve erken neolitik dönemlerde (yaklaşık 10.000-20.000 yıl önce) hayvanlardan faydalanmak için onları evcilleştirmişlerdir. Günümüze kadar ulaşan evcilleşmiş hayvanlar, zamanla artan insan nüfusu ve buna bağlı olarak doğan yeni yerleşim yerleri ihtiyacı ile dünyanın çeşitli bölgelerine ulaşmıştır (Larson ve ark. 2014).

İnsan popülasyonlarındaki büyük artış ile deri, yün ve gıda gibi hayvansal ürünlere ihtiyacı da arttırmıştır. Dolayısıyla evcilleştirilmiş hayvanların üretiminde de ciddi bir artış gerçekleşerek ektoparazitlere bol miktarda konak sunulmuştur. Yüksek konak yoğunluğu ektoparazit bulaşma potansiyelini arttırmıştır ve çok kısa zaman diliminde farklı konaklara adaptasyonlar gelişmiştir (Eichler 1948, Hopla ve ark. 1994, Bush ve ark. 2010).

Evcil hayvanların evcilleştirme ve yüksek verimlilik için yapay seçimi, çoğu durumda ektoparazit hasarına karşı direncin azalması ve ektoparazit istilasına daha fazla duyarlılık kazandıran özelliklerin gelişmesi ile ilişkilendirilmiştir. Örneğin, ilkel koyunların postunun dış tabakası sert ve tüylüdür ve sadece kışın oluşan yünlü bir astarı kaplar. Dış kıllar kemp olarak bilinir ve ektoparazitlerin deriye ulaşmasını engeller. Son derece evcilleşmiş koyunlarda kemp oluşumu yoktur ve tüm yıl boyunca yünlü astardan oluşan örtü ile kaplıdır. Bu yüzden

evcilleştirilmiş koyunların yabani koyunlara göre çeşitli hastalıklara ve ektoparazitlere, örneğin kurt sineği miyazisine duyarlılığı daha yüksektir (Wall 2001, Poulin 2007).

İnsan popülasyonlarının global artışı ile, evcilleştirilmiş hayvanlar, az dirençli oldukları veya hiç direnç gösteremedikleri endemik ektoparazitler tarafından saldırıya uğradıkları dünyanın yeni bölgelerine taşınmıştır. Bu durum, özellikle ulaşılan yeni bölgelerdeki yabani hayvanlarına adapte olmuş birçok ektoparazitin ve ektoparazit kaynaklı hastalıkların *Bos taurus* gibi evcil hayvanlarda gözlenmiştir. İnsanların ve dolayısıyla evcil hayvanların global hareketi, ayrıca, ektoparazitlerin daha önce bulunmadıkları alanlara girmesine de olanak sağlamıştır. Örnek olarak Avustralya'ya koyunlar ile taşınan kan emen bitleri (*Anoplura*) gösterilebilmektedir (Eichler 1948, Hopla ve ark. 1994).

Yakın gelecekte dünya insan ve hayvan nüfusunun büyük bir çoğunluğunun kentsel alanlarda birlikte yaşaması öngörülmektedir. İnsanların ve evcil hayvanların oluşturduğu bu yoğun ve potansiyel konak havuzu ile vektör kaynaklı hastalıklar ektoparazit artropodlar ile çok daha kolay ve hızlı bir şekilde bireyden bireye aktarılacaktır. Buna ek olarak, insanların evcil hayvanları ile paylaştıkları evlerinde normalde hayatta kalamayacak birçok artropod türü için uygun ortam koşulları oluşmaktadır. Buna bağlı olarak hali hazırda önemli olan zoonitik hastalıklar insanlara daha kolay bulaşabileceğinden çok daha fazla önem kazanacaktır (Wall 2001, Webster 2002).

2.2. Kenelerde Biyoloji, Morfoloji, Ekoloji, Sınıflandırılma ve Evrim

Yeryüzünde tüm kıtalarda bulunan keneler, karasal ve yarı sucul omurgalı canlılar üzerinde zorunlu kan emerek beslenen artropod ektoparazitlerdir. Evcil veya yabani omurgalılarından kan emen keneler insan ve hayvanlar açısından önemli birçok hastalık etkeninin vektörleridir (Sonenshine 1991, Guglielmone 2014). Bu yüzden ektoparazitler arasında en popüler gruplardan olan keneler, hayvan ve insan hastalıkları açısından ciddi bir öneme sahiptir (Petney ve ark. 2011). Keneler tarafından enfestasyona uğrayan canlılarda doku lezyonları, tükürük salgılarının toksik etkilerinden dolayı kene felci oluşumu gibi etkilerin görülmesinin yanında kenelerin Lyme hastalığı, kene kaynaklı ensefalit (TBE), Kırım Kongo kanamalı ateşi (KKKA), riketsiyal enfeksiyonlar, theileriyo, babesiyoz gibi çeşitli hastalıkların aktarılmasında önemli rolleri bulunmaktadır (Granström 1997, Estrada-Pena ve ark. 1999, Sonenshine 2002). Hayvan sağlığı açısından dünyadaki en önemli vektör ve insan sağlığı açısından sivrisineklerden sonra 2. en önemli vektörlerdir; ayrıca vektörlüklerini yaptıkları

birçok protozoon, bakteri, riketsiya ve virüsün rezervuarlarıdır (Sonenshine 1991, Estrada-Pena ve ark. 1999, Nicholson 2009).

Tarihte keneler ile ilgili ilk kanıtlar M.Ö. 1500'lerde Mısır'daki taş oyma resimlerinde sırtlanın kulağında resmedilmesine dayanmaktadır (Arthur 1965). Ayrıca M.Ö 850'lerde Anadolu'da İyonya'da yaşamış olan Homeros'un İlyada destanında (Merdivenci, 1969) ve M.Ö. 355'te Aristoteles'in yazdığı "Historia Animalium" adlı eserde kenelerden söz edildiği bildirilmiştir (Arthur, 1965). Keneler ile ilgili ilk ayrıntılı bilgiler ise 1668'de İtalyan doğa bilgini Francesco Redi tarafından verildiği bildirilmiştir (Merdivenci 1969). Linnaeus'un 1758'de yayınladığı "Systema Naturae" isimli eserinde, birçok hayvan türü ile beraber kenelere de ikili adlandırma (binomial nomenklatür) kuralı uygulanmıştır (Linné ve ark. 1758). Amerika Birleşik Devletleri'nde Teksas Sığır Humması'nın *Boophilus annulatus* türü kene tarafından hayvanlara aktarıldığının bulunması ile kenelerin insanlara ve hayvanlara çeşitli hastalık etkenlerini aktarabileceği ortaya çıkarılmış ve araştırmacıları keneler ve kene kaynaklı hastalıklar ile ilgili çalışmalar yapmaya teşvik etmiştir (Merdivenci 1969, Assadian ve ark. 2002, Stafford 2007).

Artropodların çok eski bir grubu olan kenelerin en eski fosil örneklerine Myanmar'da amber içinde gömülü olarak rastlanmıştır ve bu fosillerin yaklaşık olarak 100 milyon yıl öncesine (Cretaceus) ait olduğu tespit edilmiştir (Petney ve ark. 2011). Kenelerin evrimi ile ilgili 2 hipotez bulunmaktadır. İlki tüm keneler 390 milyon yıl önce (Devonian) Avustralya'da yaşayan timsaha benzeyen amfibik omurgalılar üzerinde evrimleşmiştir (Dobson ve ark. 1999). İkincisi ise ilk keneler 120 milyon yıl önce yine Avustralya'da evrimleşmiştir (Klompen ve ark. 1996, Klompen ve ark. 2000, Barker ve ark. 2004). Bu iki hipotez ile birlikte Hoogstraal; kenelerin dünyada ilk defa yaklaşık 200 milyon yıl önce (geç Paleozoik ya da erken Mezozoik) reptillerin zorunlu parazitleri olarak evrimleştiklerini ve ilgili dönemde 637 Ixodidae, 165 Argasidae ve 1 Nuttalliellidae olmak üzere 803 kene türünün bulunduğunu bildirmiştir (Hoogstraal 1982).

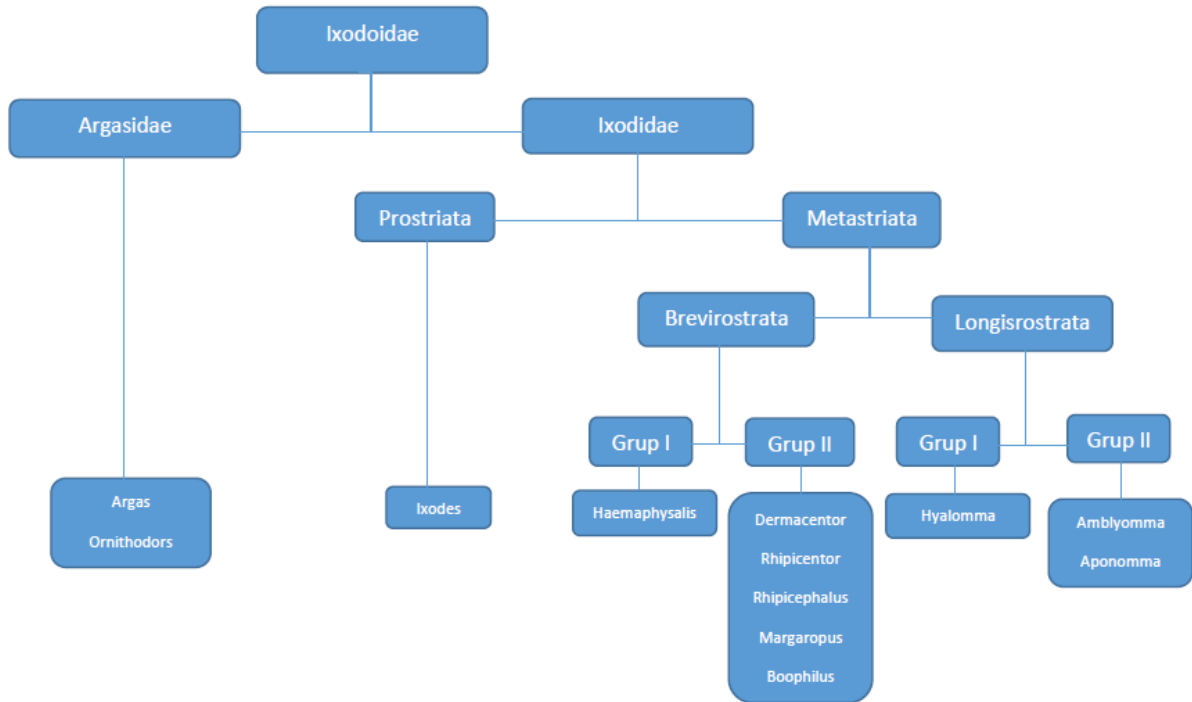
Acari sınıfının evrimleştiğinin düşünüldüğü geç Proterozoic ya da erken Paleozoic çağ dipte beslenen sucul arthropodların sayıca fazla olarak yaşadığı dönemdir. Kenelerin, sürüngenlerin ilk olarak evrimleştiği dönem olan geç Paleozoic ya da erken Mesozoic çağda evrimleştiğini düşünülmektedir (Hoogstraal 1985). Ancak, buna karşın bazı araştırmacılar dönemdeki kenelerin konak olarak sürüngenleri değil amfibileri tercih ettiğine inanmaktadır (J H Oliver 1989). Bahsi geçen dönem tahminen erken Paleozoic çağa denk gelmektedir. Erken

dönemlere ait hem artropod hem de kene fosilleri yetersiz olduğundan kenelerin evrimi hakkında kesin bir dönem belirtmek zordur (Sonenshine 1991).

İlkel formların en eskisi Prostriatadır. Metastriata grubuna dahil olan Amblyomminae geç Permian çağında sürüngenlerin üzerinde evrimleşmiştir ve Triassic ve Jurrassic çağında bu konaklar sayesinde yayılmışlardır. Haemaphysalinae ve Hyalomminae alt ailesine ait keneler de Triassic ve geç Cretaceous çağında sürüngenlerin üzerinde evrimleşmiştir. Rhipicephalinae alt ailesine ait keneler ise Tertiary çağında memelileri konak olarak tercih ederek evrimleştiği düşünülmektedir (Hoogstraal 1982, Klompen ve ark. 1996). En ilkel sert kenelerin *Ixodes* ve *Haemaphysalis* cinsine mensup kene türleri oldukları düşünülmektedir. Bu türleri *Aponnoma* ve *Amblyomma* cinsine mensup kene türleri takip etmektedir. *Hyalomma* cinsinin ise Cretaceous çağını takiben, ortam koşulları değiştiğinde ve sürüngenlerin azalmasıyla evrimleştiği düşünülmektedir. *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Boophilus* ve ilgili cinsler, sürüngenlerin yerini kuşlar ve memeliler almadan ortaya çıkmadıkları ciddi bir olasılık dahilindedir. Örnek olarak, morfolojik açıdan ilkele daha yakın olan *Haemaphysalis inermis* günümüzde diğer sert kene türlerine karşın çok az yumurta üretmekte olduğundan ilkel sert keneler için değerli bir örnektir (J H Oliver 1989).

Keneler ilk olarak Linnaeus tarafından 1746'da sınıflandırılmıştır ve keneler geniş bir cins olan *Acarus* cinsi altında toplanmıştır. Ancak tam anlamıyla bilimsel olarak 1795'te Latreille tarafından sınıflandırılmıştır. Latreille bu taksonu Acari "tiques" olarak isimlendirmiş ve içinde *Ixodes* ve *Argas* cinslerini de içeren 11 cinse ayırmıştır. Keneler 1844'te Koch tarafından Acari dizisinden ayrılarak Ricini dizisi altında sınıflandırılmıştır. Ricini dizisi, *Argas* ve *Ornithodors* cinslerini içeren Argasiden ailesi, *Hyalomma*, *Haemalastor*, *Amblyomma* ve *Ixodes* cinslerini içeren Ixodide ailesi, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Rhipistoma* ve *Rhipicephalus* cinslerini içeren Rhipistomiden ailesi olmak üzere 3 aileye ayrılmıştır. Palplerin uzun ve kısa olma durumları Ixodiden ve Rhipistomiden aileleri için ayırıcı olmuştur. Bunu takiben sistematikçiler sınıflandırmada birçok değişiklik yapmıştır. Daha sonra Neumann (1896) tarafından keneler Acari dizisi altında bir aile olarak sınıflandırılmış ve bu aile de 2 alt aileye ayrılmıştır. Bunlar *Argas* ve *Ornithodors* cinslerini içeren Argasinae ve Ixodae (*Ixodes*, *Hyalomma*, *Amblyomma* ve *Aponomma*), Rhipicephalae (*Rhipicephalus*, *Dermacentor* ve *Haemaphysalis*) ve *Haemalastor* cinslerini içeren Ixodinae alt aileleridir. Zamanla bu taksanomi içerisinde güncellemeler yapan Neumann dönemin çoğu zoologlarınca kabul edilmiş bir sınıflandırma oluşturmuştur (Neumann 1897, Neumann 1911). Bu sınıflandırma ile keneler

Acarina dizisi altındaki Ixodidae ailesinde klasifiye edilmiştir. Ixodidae ailesini Ixodinae ve Argasinae olmak üzere 2 alt aile ve Ixodidae (*Ixodes*, *Eschatocephalus*, *Aponomma*, *Amblyomma* ve *Hyalomma*), Rhipicephalae (*Haemaphysalis*, *Rhipicephalus* ve *Dermacentor*) ve Argasinae (*Argas* ve *Ornithodoros*) olmak üzere 10 soya ayırmıştır. Daha sonra Warburton tarafından 1907’de daha fazla yeni cinsin eklenmesiyle kenelerin sınıflandırması aşağıdaki gibi (Şekil 2.2) şekillenmiştir (Nuttall ve ark. 1908).



Şekil 2.2. Warburton’a ait kene sınıflandırması (Nuttall 1911).

Bu taksonomi 1950’li yıllara kadar referans alınmış ve yeni aile ve cinslerin keşfedilmesiyle güncellenmeye devam edilmiştir. Bu taksonomiye ek olarak Nuttalliellidae ailesinin varlığı Hoogstraal ve Arthur tarafından bildirilmiş; ayrıca Argasidae ailesi altına *Otobius* cinsi ve Ixodidae ailesi altına da Brevirostrata grubuna *Anocentor*, *Cosmiomma* ve *Amblyocentor* cinsleri eklenmiştir (Hoogstraal 1956, Arthur 1960) (Şekil 2.3).

Soyları tükenmemiş kenelerin günümüzdeki sistematığı aşağıdaki gibidir (J H Oliver 1989, Klompen ve ark. 2000, Horak ve ark. 2002, Barker ve ark. 2004, Estrada-Pena 2010, Guglielmone ve ark. 2010, Guglielmone 2014).

Şube	Arthropoda
Alt şube	Chelicerata
Sınıf	Arachnida
Alt sınıf	Acari
Takım	Parasitiformes
Alt takım	Ixodida
Üst aile	Ixodoidea
Aile	Nuttalliellidae
Cins	<i>Nuttalliella</i>
Aile	Argasidae
Cins	<i>Argas</i>
Cins	<i>Antricola</i>
Cins	<i>Nothoaaspis</i>
Cins	<i>Carios</i>
Cins	<i>Ornithodoros</i>
Cins	<i>Otobius</i>
Aile	Ixodidae
Alt aile	Ixodinae
Cins	<i>Ixodes</i>
Alt aile	Amblyomminae
Cins	<i>Amblyomma</i>
Alt aile	Bothriocrotoninae
Cins	<i>Bothriocroton</i>
Alt aile	Haemaphysalinae
Cins	<i>Haemaphysalis</i>
Alt aile	Hyalomminae
Cins	<i>Hyalomma</i>
Cins	<i>Nosomma</i>
Alt aile	Rhipicephalinae
Cins	<i>Dermacentor</i>
Cins	<i>Rhipicephalus</i>
Cins	<i>Anomalohimalaya</i>
Cins	<i>Cosmiomma</i>
Cins	<i>Margaropus</i>
Cins	<i>Rhipicentor</i>
Cins	<i>Cornupalpatum</i>
Cins	<i>Compluriscutula</i>

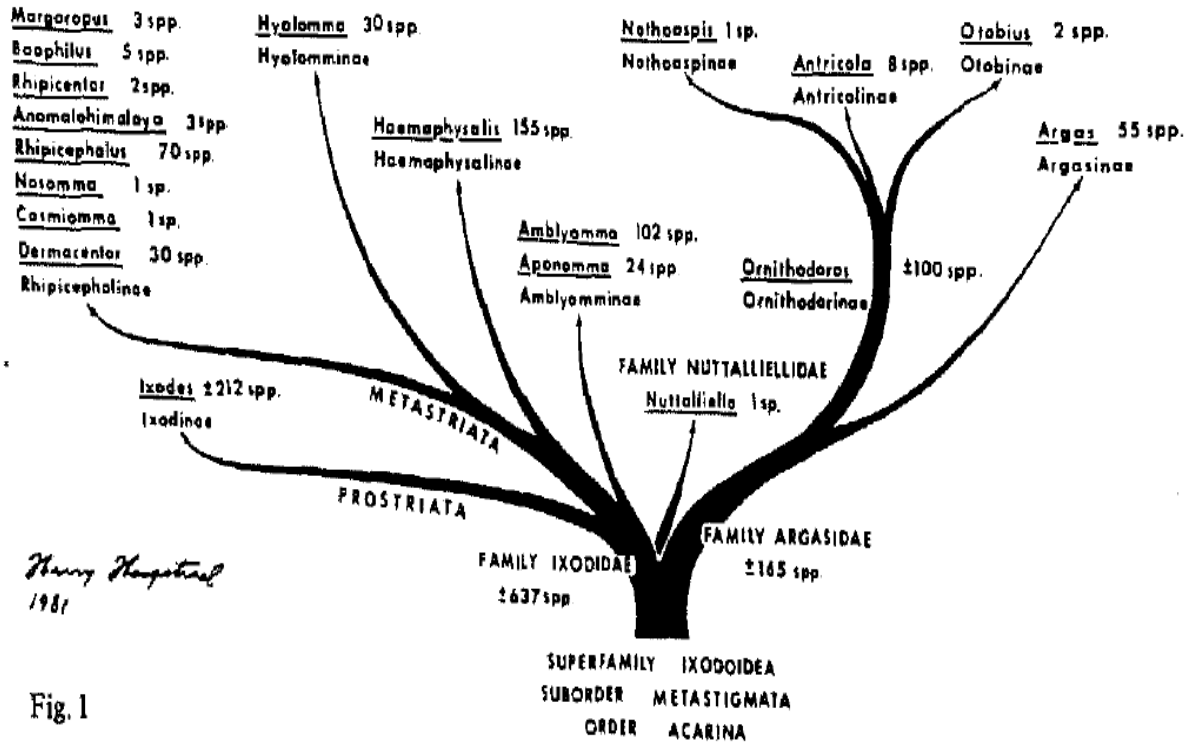


Fig. 1

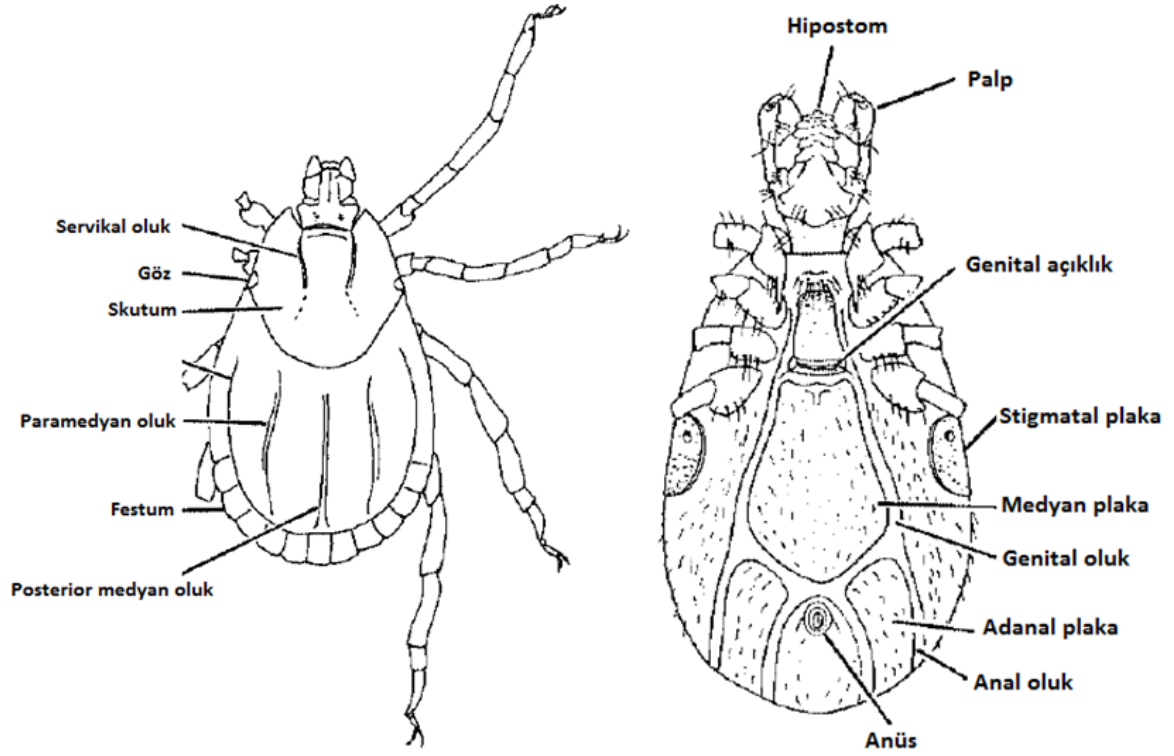
Şekil 2.3. Hoogstraal'ın oluşturduğu filogenetik ağacın orjinal çizimi (J H Oliver 1989, Klompen ve ark. 2000, Horak ve ark. 2002, Barker ve ark. 2004, Estrada-Pena 2010, Guglielmone ve ark. 2010, Guglielmone 2014)

Keneler, Ixodida alt dizisinde sınıflandırılmıştır ve bu alt dizide Ixodidae, Argasidae ve Nuttalliellidae olmak üzere 3 aile bulunmaktadır. Ixodidae ailesi 14 cins, 720 tür, Argasidae ailesi cins sayısı tartışmalı olmakla birlikte, 186 tür ve Nuttalliellidae ailesi 1 tür olmak üzere bugüne kadar 907 civarında kene türü tanımlanmıştır; fakat tür ve cins sayısı halen tartışma konusudur (Barker ve ark. 2004, Estrada-Pena 2010, Guglielmone 2014). Afrika kıtasında sınırlı bir bölgede yaşamakta olan Nuttalliellidae ailesine mensup tek tür olan *Nuttalliella namaqua* yaşayan fosil kene türü olarak anılmaktadır. Bilim insanları bu aile hakkında çok az bilgiye sahiplerdir (Mans ve ark. 2011). İnsan ve hayvan sağlığı açısından önemli olan kene türlerinin büyük bir çoğunluğu Ixodidae, bir kısmı da Argasidae ailesinin altındadır (Estrada-Pena ve ark. 1999, Jongejan ve ark. 2004, Pfaffle ve ark. 2013). Ek olarak 2017 yılında Myanmarın kuzeyinde bulunan bir amber içinde keşfedilen keneler incelenmiş ve bilinen 3 ailenin dışında olduğu ve dinazorlar üzerinde parazitlendiği bildirilmiştir. Bu kene türü yeni bir aile olarak bildirilen Deinocrotonidae ailesine mensup, *Deinocroton draculi* tür adı ile monotipik bir türdür (Penalver ve ark. 2017).

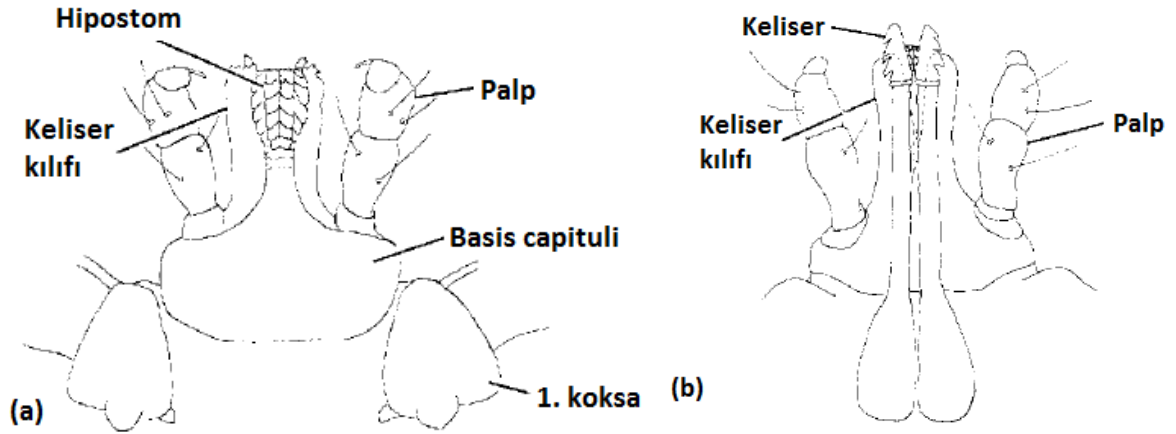
Kenelerin yaşam döngüleri sırasıyla yumurta, larva, nimf ve ergin olmak üzere 4 aşamadan oluşur. Yumurtalar küçük fakat gözle görülebilir, sarımsı kahverengi, esnek duvarlı, ovaldir. Aktif olan larva, nimf ve ergin evrelerde tek parça bir vücudun önünde ortada bir hipstom, yanlarda iki keliser ve en dışta iki palpten oluşan ağız organelleri bulunur. Türden türe değişen sayıda ve düzende, etrafında çok sayıda ters dişçikler bulunduran hipostom konağa tutunmada yardımcı işleve sahiptir. Larvalar ortalama 0,5 mm 3 çift, nimf ve erginler ise 4 çift bacağına sahiptir. Cinsiyet (dişi ve erkek) kavramı sadece ergin kenelerde bulunur. Aç ergin kenelerin boyutları genç dönemlerindeki beslenme miktarları ve türlerine bağlı olarak değişmekte olup 2-7 mm arasındadır; erkek keneler dişilere nazaran sıklıkla daha küçüktür. Erkek kenelerde vücudun dorsalini kaplayan, sert bir kitin örtüden oluşan konskutum bulunduğundan dolayı az kan emerler. Dişiler ve genç kenelerin dorsalinde ise, ağız organellerinin gerisinde, daha küçük bir kitin alan olan skutumbulunur; arka kısım gevşek ve derimsidir. Bu nedenle erkeklere göre çok daha fazla emip şışebilirler. Bazı kene türlerinin tam doymuş dişilerin boyutları 30 mm'ye ulaşabilmektedir. Sert keneler yumurtadan sonraki her gelişim evresinde kan emmek ve diğer gelişim evresine geçmek için gömlek değiştirmek zorundadırlar. Beslenmesert kenelerin tüm yaşam evrelerinde kesintisiz, yavaş ve uzun sürede (günlerce) gerçekleşir. Sert kenelerin dişileri tek seferde kan emip yüksek miktarda yumurta içeren bir yığın yumurtlar ve ölürlar. Acari sınıf altında yer alan keneler genel olarak tipik akar morfolojisine sahiptirler (J H Oliver 1989, Sonenshine 1991, Sonenshine 1993, Klompen 2005, Nicholson 2009).

Açken dorso-ventral basık olan kenelerde caput, thorax ve abdomen birleşiktir ve vücut tek parça halindedir. Bütün keneler gnatosoma (capitulum, ağız organelleri, başçık), idiosoma (genital aparatlar, anüs ve diğer organlar) ve bacaklardan oluşur (Şekil 2.4).

Gnathosomada bulunan capitulum basis capitui ile gövdeye (idiosoma) eklemli olarak bağlanır ve ağız organellerini içerir. Konağın derisinde delik açarak kan emme işleminin gerçekleşmesini sağlayan ağız organelleri 2 palp, 2 keliser ve 1 hipostom olmak üzere 5 parçadan oluşur; fakat bazı saha çalışmaları sonucunda, bir çeşit anomali olarak gelişmemiş palplere sahip ve tamamen capitulumdan yoksun ergin kenelere de rastlanmıştır (Sonenshine 1991, Karaer 1997, Klompen 2005, Nicholson 2009, Kar ve ark. 2015) (Şekil 2.5).



Şekil 2.4. Kenelerin morfolojik şeması (Wall 2001).



Şekil 2.5. Gnathosomanın morfolojik şeması (Wall 2001).

Ağız organellerinin etrafını saran bir yapıda olan basis capituli keliserlerin, tükürük bezlerinin ve farenksin kanallarını içerir. Tek parça vücut anlamında olan idiosoma, podosoma ve opistosoma olmak üzere 2 bölgeden oluşur. Podosoma bacakların çıktığı ve genital açıklığın bulunduğu bölgeyi kapsarken; opistosoma anal delik ve koksaların bulunduğu bölgeyi kapsar. Normal şartlar altında ergin ve nimf aşamadaki keneler 4 çift bacağına sahiptir, larva

aşamasındaki keneler 3 çift bacağı sahiptir. Fakat bazı durumlarda gelişme evresinde (gömlek değiştirme) karşılaşılan beklenmeyen çevresel faktörler (insektisit maruziyeti, değişken sıcaklıklar, kirlilik vb.) sonucunda morfolojik anomaliler sonucunda farklı bacak sayılarına sahip kenelere de rastlanmıştır (Sonenshine 1991, Karaer 1997, Klompen 2005, Nicholson 2009, Kar ve ark. 2015). Kenelerin ilk çift üyelerinin tarsusu üzerinde duyu almaçlarının bulunduğu ve konak bulmada kilit rol oynayan Haller organı bulunmaktadır. Bu organ sayesinde kene karşılaştığı canlının konak olabilme potansiyeli ile ilgili verileri (koku, feromon, sıcaklık, titreşim vb.) toplar. Tüm vücut, diğer artropodlarda olduğu gibi kalın bir kitin zırh ile örtülüdür. Kitin miktarı yumuşak kenelerde kütikulaya homojen dağılmıştır ve sert kenelere göre daha azdır. Sert kenelerde kenenin gelişme evresi ve cinsiyetine bağlı olarak vücudun bazı bölgelerinde daha yoğun bir kitin tabakası olduğu bilinmektedir. Mera kenelerinin larva, nimf ve ergin dişilerinde idiosomanın dorsalinde ağız organellerinin hemen gerisinde yaka şeklinde yoğun bir kitinizasyon gözlenir ve bu bölgeye skutum adı verilir. Vücudun daha az kitin içeren ve gevşek olan kısmı alloskutum adını alır. Erkek ergin mera kenelerinde yoğun kitin bölgesi vücudun tüm dorsalini kaplar ve konskutum adını alır. Ergin kenelerin solunum yapması için ihtiyaç duydukları açıklıklar olan stigmalar argasidlerde 3. ve 4. koksaya çiftlerinin arasında, ixodidlerde ise, 4. koksaya çiftinin gerisinde lateralde birer çift olmak üzere bulunurlar. Kenelerin ventralinde ayakların ilk eklemi olan koksalar, genital ve anal açıklık ile bazı türlerin erkeklerinde tür ayırımına yarayan kitinsel plaklardan oluşan festumlar yer alır. Üyelerin ucunda birer tırnak ve pulvillum adı verilen tutunmayı sağlayan organeller bulunur. Bu organel sert kenelerde gelişmiş haldedir; fakat yumuşak kenelerin sadece larvalarında bulunur. Bunlar ile birlikte kenelerin sadece ergin formlarında cinsiyet organları bulunur, larva ve nimfler aseksüeldir. Sert kenelerin dişileri ile birlikte nimf ve larvaları kan emdikçe şişerler ve bazen aç haldeki ağırlıklarının 100 katına kadar çıkabilirler (Sonenshine 1991, Karaer 1997, Klompen 2005, Nicholson 2009). Tek türe sahip nama keneleri olan *Nuttalliella namaqua* morfolojik açıdan argasid kenelere çok benzer (J H Oliver 1989).

Kenelerin yaşam döngülerinin toplam süresi kene türlerine bağlı olarak çok fazla değişkenlik gösterir. Bazı türler tüm yaşam döngülerini bir yıl içinde tamamlarken, özellikle soğuk iklime adapte olmuş bazı kene türlerinde yumurtadan ergin aşamaya kadar geçen zaman 3-4 yıl civarındadır. Kene türlerinin adapte oldukları iklim konak dışında geçirdikleri gelişim aşamalarını direkt olarak düzenleyen faktördür. Ayrıca, ergin bir kenenin hayat süresi genç formdayken kan emerek depoladığı enerji miktarı ile doğrudan ilişkilidir (Estrada-Pena ve ark. 2014). Sert kenelerde nesiller 6 ay ile 6 yıl arası, çevresel şartlar ve türe göre değişen sürelerde

gerçekleşen biyoloji sırasıyla yumurta, larva, nimf ve ergin evrelerinden oluşmaktadır (Sonenshine 1991, Vatansever 2008). Yaşam evrelerinde tercih ettikleri konak farklılıklarına göre sert keneler bir, iki veya üç konaklı olabilirler ve hayatlarının %95'ini konak dışında geçirirler. *D. marginatus*, *H. sulcata*, *H. excavatum*, *I. ricinus*, *R. sanguineus*, *R. turanicus* gibi üç konaklı türlerde döngü şöyledir: Konağından 5-20 gün arasında kan emen ve bu sırada çiftleşen dişi toprağa inerek gölge bir ortamda saklanır; tür ve beslenme oranına bağlı olarak 2.000-20.000 arası yumurtayı yığın olarak yumurtlar ve ölür. *Ixodes* cinsine ait türler konaktan ayrıldıktan sonra da çiftleşebilirler. Uygun şartlarda, 2-3 hafta içinde yumurtadan çıkan ve 1-2 hafta aktivasyon için bekleyen larvalar, konaklarını bulduklarında türler arası değişen sürelerde ortalama 4 gün kan emerler ve konaktan ayrılırlar. Konaktan ayrılan doymuş larvalar, 1-2 hafta içinde gömlek değiştirerek nimf evresine geçer. Gömlek değiştiren ve nimf aşamasına geçen kene kendine uygun konak bulur ve 1 hafta civarı kan emer, doyar ve konaktan ayrılır. Yine, larva aşamasında olduğu gibi doymuş nimf gömlek değiştirir ve ergin evreye geçer. Ergin evreye geçen kene uygun bir konak bulur ve kan emmeye başlar. Kan emen dişi kene ile erkek kene çiftleşir; erkek kene birden fazla dişi ile çiftleştikten sonra ölür; dişi kene ise doyduktan sonra konaktan ayrılır, 1-2 hafta içinde yumurtlar ve ölür. Üç konaklı kenelerde iki nesil arasındaki biyoloji tür ve çevre şartlarına göre 6 ay ile birkaç yıl arası sürer. *H. marginatum*, *R. bursa* gibi türleri içeren iki konaklı kenelerdeki biyolojide larva ve nimf aynı konakta ergin farklı bir konakta beslenirler. *Boophilus* spp. gibi tek konaklı kenelerde ise yumurta hariç tüm yaşam evreleri aynı konak üzerinde beslenirler. Larva ve nimf konak üzerinde hiç yer değiştirmezken ergin keneler çiftleşmek için konak üzerinde yer değiştirirler. Kene türlerinin birçoğu genellikle bahar ve yaz aylarında aktiftirler. Kış aylarını inaktif doymuş nimf veya aç ergin olarak korunaklı yerlerde (taş ve kaya altları, topraktaki oyuklar vb.) geçirirler. Buna karşın kene türlerinin tercih ettikleri mevsimler birbirlerinden farklılık göstermektedir (Sonenshine 1991, Sonenshine 1993, Estrada-Pena 2004, Krauss 2004).

Bazı kene türlerinin çeşitli konak tercihleri varken, bazıları çok seçicidirler. *Boophilus annulatus* türü keneler özellikle sığırlar ve bazı bufalo türlerini konak olarak tercih ederler ve tüm biyolojilerini bu konaklar üzerinde tamamlarlar. Başka bir dikkat çekici örnek olarak *Hyalomma aegyptum* verilebilir. Bu kene türünün ergin bireyleri özellikle kara kaplumbağalarını tercih etmektedir; fakat genç evreleri ise kuşlar, sürüngenler ve memeliler gibi çeşitli bir konak yelpazesine sahiptir. Ayrıca bu türün larva ve nimfleri genellikle insanlardan da kan emmektedirler (Sonenshine 1991, Sonenshine 1993, Apanaskevich 2003, Karaer ve ark. 2011, Kar ve ark. 2017).

Keneler her yaşam evresinde farklı konak türleri tercih edebilirler. Genç formlar konak olarak kemirgen ve kuşlar gibi daha küçük omurgalıları tercih ederken, ergin formlar sıklıkla daha büyük etçiller ve otçulları tercih ederler. Ancak bu tercih her kene türü için geçerli değildir (Estrada-Pena ve ark. 2014).

Uygun konak bulan kene beslenmek için konağın belirli bölgelerini tercih eder ve bu kan emme bölgeleri türler arası farklılıklar göstermektedir. Keliserleri ile deride delik açarlar ve hipostomlarını derinin dermis tabakasının üst katlarında konumlandırarak beslenme sürecinde bu konumu bozmazlar. Tutunma hipostom üzerinde bulunan ters dişçiklerin açılması ile ve salgıladıkları yapışkan tükürük salgısı ile gerçekleşir. Kenenin konağa tutunmasını takiben salgıladığı tükürük salgısı hipostomun tam olarak ulaşamadığı kılcal damarlarda tahribat gerçekleştirir. Kılcal damarlardan sızan kan dermisin içinde olan keliserler ve hipstom civarında birikir ve kene hipstomu ile biriken kanı emerek beslenir. Kenelerin tükürük salgılarının anestezi etkisi ile keneler çoğu zaman konak tarafından fark edilmezler (Sonenshine 1991, Sonenshine 1993, Tu 2005).

Keneler, tropikal yağmur ormanları, çorak araziler ve çöller gibi hem Subarktik hem de Antarktik bölgelerde çok çeşitli ortam koşullarında yaşamlarını sürdürmektedirler (Dantas-Torres 2010). Kenelerin tercih ettikleri nem, sıcaklık, genel iklim tipi ve habitat, bunlara bağlı olarak da coğrafi bölgeler türden türe değişiklikler göstermektedir. *Ixodes ricinus*, *H. inermis* gibi türler yüksek nemli, ormanlık alanları tercih ederken, *H. marginatum*, *B. annulatus*, *Rhipicephalus bursa* gibi türler ise kurak, sıcak, daha karasal iklimleri tercih etmektedirler. *D. marginatus*, *H. punctata*, *R. sanguineus* gibi türler ise bu iki ortam arası özellikteki geçiş bölgelerini tercih etmektedirler (Castella ve ark. 2001, Uspensky 2002, Hornok ve ark. 2009). Bu ortam tercihlerinin yanında, *H. marginatum*, *H. rufipes* gibi türlerin özellikle larvaları yerden beslenen kuşları konak olarak tercih ettikleri için göç eden kuşlarla farklı bölgelere gidebilmektedir (Walker 2003); bu nedenle bu türlerin, özellikle erginlerine beklenmedik bölgelerde rastlamak mümkündür. Ek olarak, kenelerin sıcaklık değerlerine olan dayanıklılıkları da türden türe değişir; bu yüzden kene türlerinin mevsimsel dinamikleri türlere özgü olabilmektedir. Örnek olarak; ülkemiz şartlarında benzer koşullarda *Hyalomma* spp., *Boophilus* spp. ve *R. bursa* sıcak mevsimleri, *R. sanguineus* ve *R. turanicus* nemli, ılık ve sıcak bahar aylarını, *Dermacentor*, *Haemaphysalis* ve *Ixodes* cinslerine bağlı türler ise serin bahar aylarını daha çok tercih ederler (Castella ve ark. 2001, Uspensky 2002, Hornok ve ark. 2009). Yine, kenelerin konaklarını aradıkları bölgeler de türden türe değişiklik göstermektedir.

Keneler ekoloji ve yaşam şekilleri açısından meskene bağımlı (nidicolous) ve mera-sahada yaşayan (non-nidicolous) olarak iki tipte olabilirler. Mikro- ve makro iklimsel değişkenler kenelerdeki bu tercihin en önemli mekanizmasıdır (Pfaffle ve ark. 2013, Estrada-Pena ve ark. 2014). Ixodidler genellikle açık arazilerde konak ararken, argasidler meskene yerleşirler. Diğer yandan, bazı mera keneleri (*R. sanguineus*, *Hyalomma anatolicum*, *Hyalomma dromedari*, *Hyalomma detritum*, *B. annulatus*) de meskene yerleşebilmektedir (Estrada-Pena 2004). Meskene bağımlı yaşayan keneler yaşam alanı olarak bazı omurgalı yuvalarını tercih ederek evrimleşmişlerdir ve bu tip keneler konak olarak genellikle yuva yapan kuşları ve tünel kazın karnivorları tercih ederler. Ayrıca, bu kene türleri beslenme ve beslendikten sonra konaktan ayrılma zamanlarını konağın yuvada bulunduğu zaman diliminde gerçekleştirecek şekilde senkronize etmiştir. Bu özellik sayesinde kene korunaklı bir bölge olan konağın yuvasında gömlek değiştirecek veya yumurtlayacağından; bu davranış hayatta kalma ve neslini devam ettirebilme içgüdüğü ile evrimleşmiştir (Estrada-Pena ve ark. 2014). Keneler en fazla enerjiyi konak ararken harcadıkları için konak ve habitat tercihlerinde bazı stratejiler geliştirirler. Mesken keneleri ahır, ağıl, kuş yuvası ve kemirgen yuvaları gibi tercih ettikleri konağın yuvasının olduğu bölgelerde yaşamlarını sürdürdükleri için konak bulmak için fazla enerjiye ihtiyaç duymazlar; ancak bazen uzun süre aç beklediklerinden dolayı enerji depolama gereksinimleri vardır. Mesken keneleri aç kalmaya ciddi anlamda direnç gösterirler. Örnek olarak, *Ornithodoros delanoei* erginleri 5 yıl, *Argas brumpti* erginleri 12 yıl, *O. lahorensis* kenesinin ise 18 yıla kadar aç kalabildiği laboratuvar şartlarında ispatlanmıştır (J H Oliver 1989, Sonenshine 1991, Gray ve ark. 2013).

Mera kenelerinde habitat tercih ettikleri konakların yuvalarına bağımlı değildir ve çeşitli ekolojik bölgelere adapte olmuşlardır. Konak tercihleri genellikle varyasyonlar içerir. Mera keneleri mevsimsel aktiviteler gösterdiklerinden yılın belirli bir zaman diliminde inaktif (uyku halinde, diapause) bekleyebilirler. Bu diapause durumu ortam koşulları kenenin yaşam koşulları ile örtüşmediğinde başlar ve kenenin tekrar aktive olması ortam koşullarının normalleşmesi ile gerçekleşir. Mera kenelerinin çoğu hayatlarının büyük bir kısmını konak dışında (konak arama, gömlek değiştirme, yumurtlama ya da diapause) geçirirler. Mera keneleri su ihtiyaçlarını atmosferdeki nemi adsorbe ederek karşılamaktadırlar (J H Oliver 1989, Klompen 2005, Vatansever 2008, Pfaffle ve ark. 2013). Mera keneleri konak bulmak için aktif (hunter) veya pasif (ambush) olmak üzere iki farklı davranışa adapte olmuşlardır. Pasif konak aramaya örnek olarak; *Rhipicephalus* spp., *Haemaphysalis* spp., *Ixodes* spp. gibi bazı sert keneler toprakta gömlek değiştirirler ve civardaki yüksekçe otlara tırmanarak konaklarının

geçmesini beklerler. *Hyalomma* spp. erginleri ise konaklarını aktif şekilde dolaşarak ararlar (Sonenshine 1993, Spielman 2000, Balashov 2005). Mera kenelerinin çoğu pusu davranışını tercih etmektedirler. Bu keneler ortamlarını nadiren terk ederler, genellikle bir otun üzerinde ya da bazen yerde birinci üyelerini kaldırarak konaklarının geçmelerini beklerler. Tırmanılan bitkinin boyu kenenin konak tercihi ile direkt ilişkilidir. Genç formlar daha küçük canlıları tercih ettikleri için uzun otlara tırmanmazlar. Konak pusuda bekleyen kenenin yakınından geçtiğinde kene konağa geçer ve kan emmek için uygun bir bölge aramaya başlar. Bu davranışa adapte olmuş keneler uygun şartlarda günlerce konağın geçmesini bekleyebilir; ancak su ihtiyacını karşılamak için periyodik olarak bitkinin nemli toprağa yakın kısımlarına inmeli ve su adsorbe etmelidirler. Avcı davranışı sergileyen mera keneleri konağa doğrudan kendisi gider. Bu keneler kuru yaprakların altı, topraktaki yarık ve çatlaklar, taş altları gibi korunaklı bölgelerde en az enerji ve su harcayacak şekilde konaklarını beklerler. Konakları yaklaştığında aktifleşerek doğrudan konağın üzerine hareket ederler ve konağa tırmanırlar. Eğer kenenin vücudundaki su miktarı azalmış ise çok daha agresif davranırlar ve konak spesifiteleri düşer. Beslenmek zorunda olan kene konak önceliği tanımadan karşılaştığı ilk omurgalıda beslenmeyi hedefler. Bu tip keneler konaklarını gözleri, kimyasal ve ısı almaçları ile bulurlar. Ayrıca avcı keneler 500 metre gibi uzun mesafeleri konaklarının peşinde kat edebilirler. *H. marginatum*'un ergin formları avcı davranış sergileyen kenelere ideal bir örnektir (Spielman 2000, Wall 2001, Klompen 2005, Vatansever 2008, Pfaffle ve ark. 2013, Randolph 2013).

Kenelerin ilk üyelerinin tarsuslarında bulunan Haller organı konak bulmada en etkin kullanılan duyu sistemidir. Keneler tıpkı böceklerin antenleri gibi kullandıkları Haller organı ile konağa ait koku, ısı, titreşim gibi verileri analiz ederler (Sonenshine 1991).

Haller organı kemo-, mekano- ve termo-almaçlar ile donatılmış haldedir. Bu almaçlar ile keneler uygun konak bulma anında karbondioksit, amonyak, laktat ve diğer hayvan kokularını hızlı bir şekilde analiz ederler (Sonenshine 1991). *Amblyomma* cinsi altındaki türler için CO₂ aktive edici bir uyarıcı olmasına karşın; *I. ricinus* gibi bazı türlerde etkili değildir. Buna karşın ruminantların ağzından çıkan rumen metabolitlerinin *Amblyomma* ve *Ixodes* cinslerine ait türler için çekici etkileri vardır (Randolph 2013).

2.2.1. Argasidae - Yumuşak keneler

Argasid kenelerin çoğu meskene bağımlıdır. Bu kenelerin tipik morfoloji özellikleri olarak; vücutlarındaki kitin miktarının homojen ve Ixodid kenelere nazaran daha az olması ve skutumun bulunmaması, nimf ve erişkinlerinde ağız organellerinin median hatta “camerostom” adı verilen bir boşlukta bulunması ve bu yüzden dorsalden ağız organellerinin görülememesi, stigmaların 3. ve 4. koksalar arasında bulunması, nimf ve erginlerinde pulvillumun bulunmaması sayılabilir. Argasid kenelerde kitin miktarı vücutta homojen ve daha az olduğu için yumuşak keneler olarak da adlandırılmaktadır. Yumuşak keneler Ixoditler gibi uzun süre ve tek seferde kan emmezler; aksine sık sık kısa süreli beslenmeye adapte olmuşlardır. Bununla birlikte konak dışında kan emme işleminden önce erkekleri çiftleşen dişiler her beslenme işleminden sonra ortalama 500 adet yumurta bırakırlar. Ayrıca argasidlerin nimf evreleri birden fazladır (Hoogstraal 1985, Sonenshine 1991, Nicholson 2009, Estrada-Pena 2010). Argasid kenelerde gelişim şöyledir; larvalar yumurtadan çıkar ve buldukları konağa tutunup 15-30 dk gibi bir sürede hızla beslenirler (genelde 15-30 dakika) ve düşerler. Buldukları habitatta korunaklı bir yerde (yarık, çatlak gibi) gömlek değiştirerek birinci aşama nimf (N1) olurlar. Birinci aşama nimfler tekrar konak bulurlar ve larva aşamasındaki gibi hızla beslenirler. Doymuş N1 konaktan ayrılır ve yine korunaklı bir yerde gömlek değiştirerek N2 (ikinci aşama nimf) olur. Argasid kenelerin nimf aşaması bu siklusun peş peşe beslenme-gömlek değiştirme şeklinde gerçekleşmektedir. Erkek argasidler dişilere göre yaklaşık 1-2 kez daha az gömlek değiştirirler. Son nimf evresinde gömlek değiştirip ergin olan argasidler cinsel olarak aktiflerdir, yani gamet oluşumu için kan emmelerine gerek yoktur. Bu nedenle çiftleşme kan emmeden önce gerçekleşmektedir; ancak, bazen konak üzerinde de çiftleşebilirler (Sonenshine 1991). Argasid kenelerin buldukları yuvalar tek bir konağa veya aynı türe ait birkaç bireye ait olduğundan, hayatları boyunca tek bir birey ya da aynı türe ait birkaç birey üzerinde beslenirler (Klompfen ve ark. 1996).

2.2.2. Ixodidae - Sert keneler

Ixodidae ailesine ait keneler 2-20 mm arasında değişen boylarda, açken dorsoventral basık anteriorda gnatosoma (capitulum) ve posteriorda idiosoma olmak üzere iki ana bölümden oluşan; bacaklar ile çevrili bir vücuda sahiptir. Gnatosoma dıştan içe doğru 2 çift palp, 2 çift keliser ve 1 hipostomdan oluşan ağız organellerini içerir ve basis capitulum ile idiosomaya

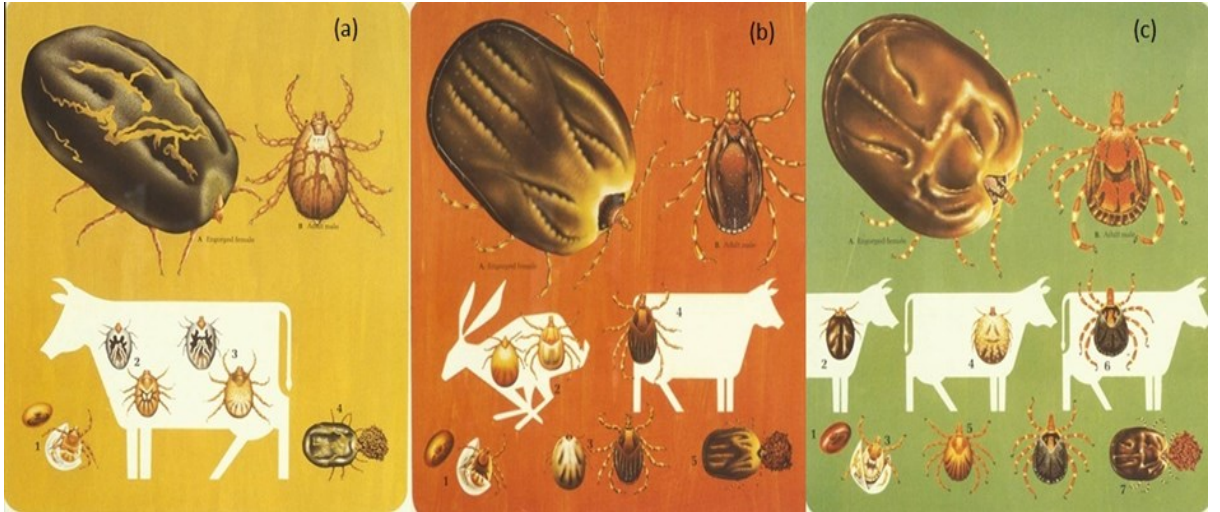
bağlıdır. Basis capitulumun şekli cinslere bağlı olarak dikdörtgen, üçgen ve altıgen formda farklılıklar göstermektedir. Idiosoma, bacakların bulunduğu podosoma ve bacakların gerisinde kalan bölge olan opistosoma olmak üzere iki bölgeye ayrılır. Her bacak koksa ile gövdeye bağlanmaktadır. Koksalar ventral mahmuzlar içerebilir ve bu mahmuzların şekli, sayısı ve boyutu tür tanımlamada etkin olarak kullanılmaktadır. Bacakların tarsusunda pulvillum adı verilen pürüzsüz yüzeylere tutunmayı sağlayan yastıklar bulunur. İlk iki üyenin tarsusunda kimyasal almaçlar içeren konağın konumunu belirlemede etkin olan Haller organeli bulunur. Kimyasal reseptörler ayrıca skutum, keliserler ve palplerde de bulunur. Erkek ixodidler genellikle dişilerinden daha küçük boyuttadır. Dorsallerinde skutum adı verilen kitince yoğun bir zırh bulunur. Dişilerde skutum gnatosomanın hemen gerisinde yaka şeklindedir, erkeklerde ise tüm dorsali kaplar ve konskutum adını alır. Ventrallerinde birkaç adet genişçe oluk bulunur ve bu oluklar yine tür ayırımında kullanılmaktadır. Ayrıca yine ventralde vücudun proksimalinde tekdüze dikdörtgen yapılar bulunur ve festum adını alır. Festumlar oluklar ile birbirlerinden ayrılırlar. Keneler solunumu trakeal sistem ile yaparlar ve 4. koksaların gerisinde bir çift stigma bulunur. Kenelerin tüm gelişim evreleri benzerdir; fakat larvalar 3 çift üyeye sahiptir. Genç evreler aseksüeldir. Erginlerde genital açıklık olan gonopor gnatosomanın gerisinde idiosomada ve genellikle 2. koksaların arasında konumlanır. Gonopordan başlayan bir çift genital oluk anal oluğun gerisinde sonlanır. Anüs ventralde 4. koksaların gerisinde konumlanmıştır ve etrafını anal oluk sarmaktadır. Ixodit kene örneği Şekil 2.6'da verilmiştir (Wall 2001, Sonenshine 2002, Klompen 2005, Guglielmone 2014).

Ixoditlerin çoğu konak yuva veya barınaklarına bağımlı değildir. Bu yüzden mera keneleri de denmektedir. Ixoditlerin yaşam alanları türden türe nemli ormanlardan bozkıra, mağaralardan ahırlara kadar değişiklik gösterir. Sadece konak spesifitesi yüksek olan ixoditler (*Boophilus annulatus*, *Ixodes vespertilionis* vb.) konağın bulunduğu yuvada yaşamaya adapte olmuşlardır. Hayat döngüleri türe göre üç, iki veya tek konakta tamamlanabilmektedir. *Ixodes* cinsine ait bazı türler hariç büyük bir çoğunluğu konak üzerinde dişi beslenirken çiftleşmektedir. Beslenen ve çiftleşen dişi ixodit konaktan düşer ve korunaklı bir bölgede (topraktaki yarıklar ve çatlaklar gibi) yumurtlar, yumurtadan çıkan larvalar uygun bir konağa çıkar ve beslenirler. Beslenen larva konak üzerinde (tek ve iki konaklı yaşam) veya konaktan düşerek korunaklı bir yerde (üç konaklı yaşam) gömlek değiştirir. Gelişen nimf tek ve iki konaklı yaşam biçiminde konaktan kan emmeye devam eder, üç konaklı yaşam biçimine sahip nimf yeni konak olarak beslenir. Doyan nimf konaktan ayrılır ve korunaklı bir yerde gömlek değiştirerek ergin dişi veya erkek kene haline gelir. Ergin kene uygun konağı bulduğunda tutunur ve beslenir. Dişi

beslenirken erkek kene ile çiftleşir. Erkek kene birkaç dişi ile çiftleştikten sonra ölür, dişi doyup konaktan düşer ve korunaklı bir bölgede yumurtlar (Şekil 2.7) (Sonenshine 1993, Kolonin 2007, Hornok 2017).



Şekil 2.6. Ixodid kene örneği: *Hyalomma marginatum* (Karaer ve Kar 2009).



Şekil 2.7. Kene-Konak ilişkileri. Tek konaklı (a), iki konaklı (b), üç konaklı (c) (Sonenshine 1993, Kolonin 2007, Hornok 2017)

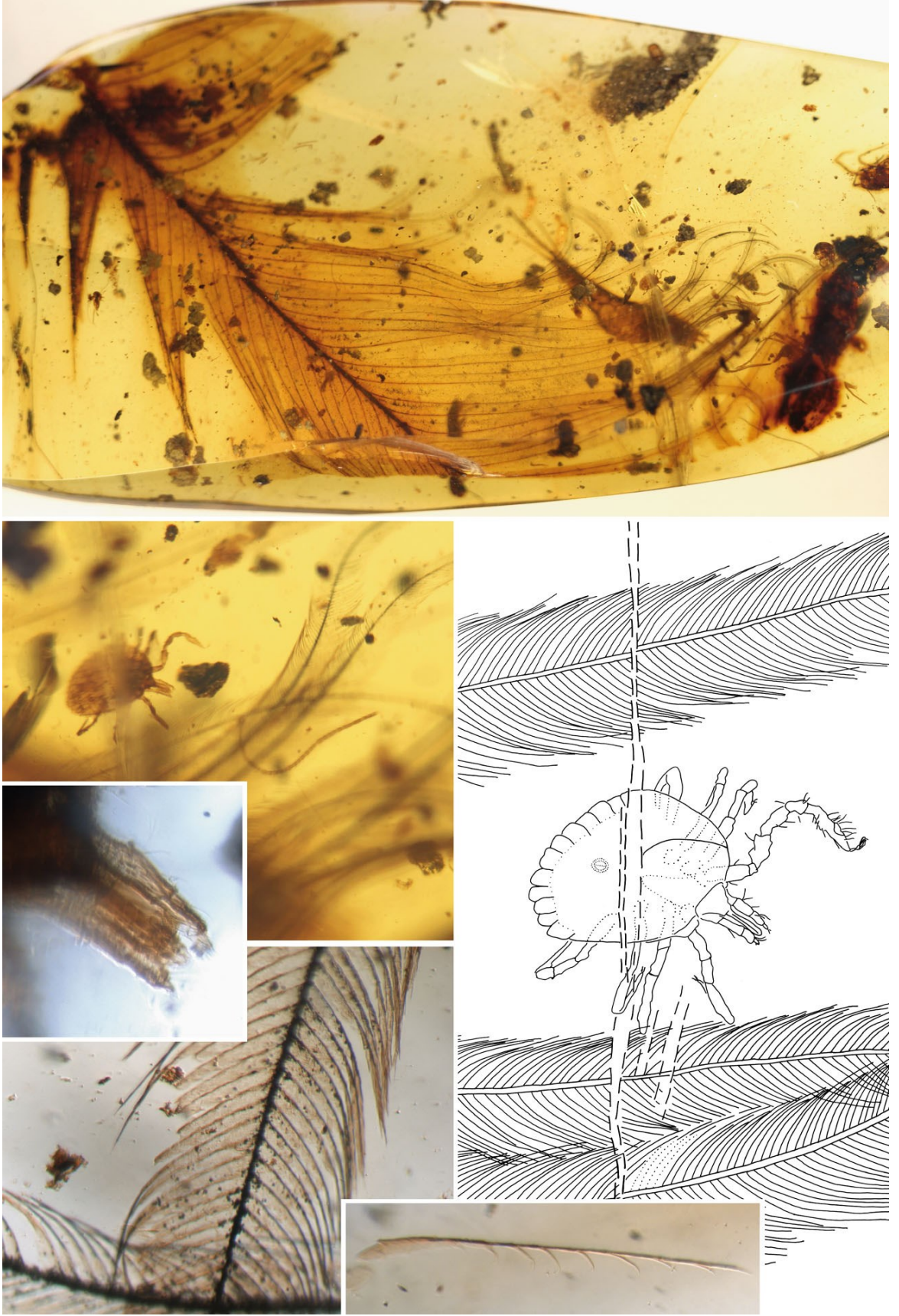
2.2.3. Nuttalliellidae - Nama keneleri

Bilim insanları Nuttalliellidae ailesi hakkında çok az bilgiye sahiptir. Ailenin tek türü olan *Nuttalliella namaqua* Güney Afrika'da Cape şehrinin Namaqualand adlı yarı kurak bölgesinde bildirilmiştir. Bununla birlikte bu tür Namibya ve Tanzanya'da da toplanmıştır. Nama keneleri olarak da bilinen Nuttalliellidae ailesi Argasid ve Ixodid kenelerin bir takım özelliklerini barındırırken, kendisine özgü özellikleri de vardır. Bu kene türünde ixodid keneler ile ortak bir özellik olarak görülebilecek pseudoskutum mevcuttur. Ayrıca gnatosomaları argasidlerde olduğu gibi venral apikal konumlanmış olsa da, ixoditlerde olduğu gibi kenenin dorsalinden bakıldığında görülmektedir. Konak çeşitliği tam olarak ortaya konmasa da öncelikli olarak tercih ettikleri kertenkelelerin yanında kuşlar ve kemirgenler de bulunmaktadır (J H Oliver 1989, Sonenshine 1991, Mans ve ark. 2011).

2.2.4. Deinocrotonidae - Fosil Dinazor Keneleri

Modern keneler Argasidae, Ixodidae ve Nuttalliellidae olmak üzere 3 ailede sınıflandırılmıştır. Penalver ve ark (2017) Myanmarın kuzeyinde bulunan 99 milyon yıllık amberin içinde korunmuş keneleri incelediklerinde farklı bir aileye ait olduğunu anlamışlardır (Şekil 2.8). Ayrıca amberin içinde dinazora özgü kıllar olan hastisetaların bulunması bu kenelerin konağının dinazorlar olduğu hipotezini de güçlendirmektedir.

Deinocroton cinsinin etimolojisine bakıldığında yunanca “deinos=müthiş” ve “kroton=kene” kelimelerinin birleşiminden kaynaklandığı görülmektedir. İlgili cinse ait tek tür tanımlanmıştır. *Deinocroton draculi* türünün morfolojisine bakıldığında ise; integümeni sıkı, düz, derin çukurları olan ve mikro oyuklardan yoksundur. Pseudoskutum belirgin fakat yüslememiş ve gözler yoktur. Hipostom subterminalde yerleşiktir ve basis capituli birinci koksaya ile sınırlandırılmamıştır. Palpler uzamıştır ve tamamen hareketlidir. Genital açıklık diyagonal yerleşiktir, erkeklerde kapituluma yakın, dişilerde hafif posteriore doğru konumlanmıştır. Stigmalar düz, orta boyutta 4. koksanın hizasında konumlanmıştır. Genital oluk belirgin, ikiye bölünmüş ve posteriore uzanan yapıdadır. Anal delik terminaldedir ve preanal oluk posteriore doğru uzamış ve yanlarda sonlanmıştır. Bacaklar kıvrıktır ve tüm koksalar kısa mahmuzlu ve sıralıdır. Festum yoktur. Haller organının proksimal kapsülü tamamen açıktır (Penalver ve ark. 2017).



Şekil 2.8. Myanmar'da bulunmuş 99 milyon yıllık amber içinde korunmuş kene ve hastiseta örneği (Penalver ve ark. 2017).

2.3. Türkiye’de bulunan keneler

Aydın ve Bakırcı (2007) tarafından yapılan çalışmada, Türkiye’de kene türlerinin 28’i Ixodidae ailesine, diğer 4’ü Argasidae ailesine mensup olduğu bildirilmiştir. Bu türler: Ixodes—*Ixodes ricinus*, *Ixodes hexagonus*; Amblyomma—*Amblyomma variegatum*; Haemaphysalis—*Haemaphysalis parva*, *Haemaphysalis punctata*, *Haemaphysalis sulcata*, *Haemaphysalis inermis*, *Haemaphysalis concinna*, *Haemaphysalis numidiana*; Hyalomma—*Hyalomma aegyptium*, *Hyalomma anatolicum anatolicum*, *Hyalomma anatolicum excavatum*, *Hyalomma marginatum*, *Hyalomma detritum*, *Hyalomma dromedarii*; Rhipicephalinae (subfamilies)—*Boophilus*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Boophilus annulatus*, *Boophilus kohlsi*, *Dermacentor marginatus*, *Dermacentor niveus*, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus turanicus*; Ornithodoros—*Ornithodoros lahorensis*; Argas—*Argas persicus*, *Argas reflexus*; Otobius—*Otobius megnini* olarak bildirilmiştir (Aydın ve ark. 2007). Bununla birlikte ülkemizde kene kaynaklı hastalıkların önem kazanması ile gerçekleştirilen saha taramaları tür sayısının bu değerin çok daha üzerinde olabileceğini öngörmektedir. Bursali ve ark (2012) tarafından yapılan saha ve literatür taramalarını içeren bir çalışma Türkiye’de 1915 ve 2011 yılları arasında görülmüş kene türlerinin 38’i Ixodidae ve 8’i Argasidae ailelerine dahil olmak üzere 46 tür olduğunu bildirmektedir. Bu türler: Argasidae ailesinden *Argas persicus*, *A. reflexus*, *A. vespertilionis*, *Ornithodoros lahorensis*, *O. erraticus*, *O. coniceps*, *O. tholozani* ve *Otobius megnini*; Ixodidae ailesinden *Hyalomma aegyptium*, *H. anatolicum*, *H. excavatum*, *H. marginatum*, *H. scupense*, *H. asiaticum*, *H. dromedarii*, *H. impeltatum*, *H. rufipes*, *H. turanicum*, *H. franchinii*, *Dermacentor marginatus*, *D. daghestanicus* *D. Niveus*, *D. Reticulatus*, *Haemaphysalis concinna*, *H. parva*, *H. punctata*, *H. sulcata*, *H. ibrikliensis*, *H. aksarensis*, *H. yalvacı*, *H. erinacei*, *Rhipicephalus bursa*, *R. sanguineus*, *R. turanicus*, *R. rossicus*, *Boophilus annulatus*, *Boophilus kohlsi*, *Ixodes crenulatus*, *I. frontalis*, *I. gibbosus*, *I. hexagonus*, *I. laguri*, *I. redikorzevi*, *I. ricinus*, *I. simplex*, *I. vespertilionis*, *Amblyommavariegatum* olarak açıklanmıştır (Bursali ve ark. 2012). Bu türlerden *A. variegatum* Mimoğlu ve Yarar (1961) tarafından Hatay’da Suriye sınırında bir atın üzerinden toplanmıştır. İlgili türün bir Afrika türü olması, ülkemizde hatta Avrupa ve Asya’da bulunma ihtimalinin çok düşük olması sebebi ile rastlantısal olarak karşılaşıldığı düşünülmektedir (Mimoglu 1969). *Haemaphysalis ibrikliensis*, *H. aksarensis*, *H. yalvacı* türleri Ozkan (1978) tarafından yeni tür olarak raporlanmış olsa da; yayın Türkçe yapıldığı için birçok akaroloğun gözünden kaçmıştır ve onaylanmış tür listesine girememiştir (nomen neglectum) (Guglielmone 2014).

2.4. Kenelerin Vektörlükleri ve Aktardıkları Önemli Hastalıklar

Zoonoz hastalıkların %22'si vektörler tarafından aktarılır ve Smith ve Kilbourne (1893) bu patojenlerin omurgalılara artropodlar vasıtasıyla aktarılabilirdiğini göstermiştir (Taylor ve ark. 2001, Anderson ve ark. 2008). Kenelerin tahminen %10'u kadarı 200 farklı patojenin bir omurgalıdan başka bir omurgalıya aktarılmasından sorumludur (Jongejan ve ark. 2004, Labuda ve ark. 2004).

Kenelerin taşıdıkları hastalık etkenleri türden türe farklılıklar gösterir. Ayrıca hastalık taşımayan keneler de olabilir. Hastalık taşıma yetisini belirleyen kenelerin patojenlere özgü bireysel vektörlük yetenekleridir (vector competence). Bir kene eğer larva ya da nimf döneminde hastalık etkeni taşıyan bir canlıdan kan emerek ilgili patojeni alıp, gömlek değiştirme esnasında patojeni vücudunda canlı olarak muhafaza edip, ergin dönemde kan emdiği konağına aktarabiliyor ise ilgili patojene vektörlük yapabiliyordur (transstadial nakil) (Kahl 2002, Jongejan ve ark. 2004). Ayrıca yine bir kene, ergin aşamada konağından aldığı bir patojeni yumurtalarına aktarıyor ve yumurtadan çıkan larvalar başka bir konağına ilgili patojeni aktarabiliyor ise vektörlük yeteneğine sahiptir (transovarial nakil). Bununla birlikte, vektörlük yeteneğine sahip kenelerin seçtikleri konakların da ilgili patojenleri bulduran ya da üreten bir omurgalı olması kenenin vektörlüğünde etkilidir (Spielman 2000, Jongejan ve ark. 2004, Turell 2007).

Keneler taşıdıkları patojenleri farklı yollarla konağına aktarabilmektedirler. Tükürük salgısı ile arboviruslar, *B. burgdorferi*, benekli humma grubu rickettsialar, coxal sıvı ile relapsing fever grubu rickettsialar, kusma ile *Ehrlichia ruminantium*, bazen *B. burgdorferi* ve dışkı ile *Coxiella brunetti* gibi patojenler aktarılabilir de, kene kaynaklı hastalıkların en önemli bulaş yolu tükürük salgısıdır (Lane 1994). Tükürük salgısı ile patojenler hemen konağına aktarılmaz. Kene kan emmeye başladıktan 5-6 saat sonra virüsler, 10 saat sonra rickettsia türleri, 48 saat sonra *Borrelia* türleri verilebilmektedir (Lane 1994, Spielman 2000). Vektör kenelerin tükürük salgıları, konağın immünolojisini baskılayan bazı faktörleri içermesi ve patojenin konakta yaşayabilmesini ve enfeksiyon oluşturabilmesini sağladıkları için özeldir (Piesman ve ark. 1990, Labuda ve ark. 1993).

Vektör kaynaklı zoonotik hastalıkların epidemiyolojisini Evgeny N. Pavlovsky (1884-1965)'nin tanımladığı "Natural nidity of the infections= hastalıkların doğal odakları" kuramı açıklamaktadır. Zoonoz mikroorganizmalar ekosistemde varlıklarını yabani omurgalılar ve

artropodlar arasında döngüsel geçişler ile korurlar ve doğal konaklarında hiçbir patojenik etki göstermezler (Nuttall 2013). Kene kaynaklı hastalıklar belirli iklim ve coğrafyalar ile sınırlıdır. Bu hastalıkların ekosistemdeki odakları sabittir ve keneler ilgili patojenlerin hem vektörlüklerinde hem de doğal rezervuarlıklarında etkin rol alırlar. Döngüye insanlar girdikleri takdirde hastalıklar ile karşılaşılırlar (Kahl 2002, Balashov 2005). Kenelerle bulaştırılan hastalıkların yayılışı belli arazi yapıları ve iklimle sınırlıdır. Bu gibi hastalıkların doğal odakları zaman ve mekan içinde sabit olup, keneler buralarda hem vektör, hem de hastalık etkenlerinin rezervuarı olarak işlev görürler (Balashov 2005).

Dünyada kene kaynaklı hastalıklar her yıl önem kazanmaktadır. Geçtiğimiz 30 yıl içinde gerçekleşen birçok kene kaynaklı salgın ile yeni patojenler tanımlanmıştır ve global olarak yeni kene kaynaklı epidemiler meydana gelmeye devam etmektedir. Yakın zamanda Orta ve Doğu Avrupa'da görülen kene kaynaklı ensefalit, Hindistan'da görülen Kyasanur orman hastalığı, Türkiye ve Rusya'da görülen KKKK olguları, Birleşik Devletler ve Meksika'da görülen Rocky Dağları benekli ateşi bölge temelli epidemilere örnek verilebilir (Estrada-Pena ve ark. 2012). Bununla birlikte yalnız Almanya'da 1 yıl içinde *Borrelia* enfeksiyonlarından 60-100 bin insan etkilenmektedir (Dantas-Torres 2010).

Bahsi geçen bölgesel epidemilerin en sonuncusu Türkiye'de 2002 yılında başlayan ve günümüze kadar devam eden KKKK hastalığıdır (Anonim 2005, Ergonul 2006, Yılmaz ve ark. 2009). İlgili hastalık ülkemizde yaygın bir kene türü olan *Hyalomma marginatum* tarafından aktarılmaktadır (Vatansever 2007c). Kırım Kongo kanamalı ateşi Doğu Avrupa, Afrika, Asya, Orta Doğu'da görülmektedir ve bu kadar geniş bir yayılış ve suş çeşitliliğine sahip olup, Dengue ateşinden sonra Dünya'da en sık görülen ikinci arboviral (artropod borne virus) insan hastalığıdır (Ergonul 2007, Estrada-Pena ve ark. 2007, Bente ve ark. 2013).

Tüm Dünya'da görülen Kene-kaynaklı hastalıklar hayvan sağlığı açısından; erlikyoz, tayleryoz, babezyoz ve anaplazmoz, tularemi, insan sağlığı açısından; KKKK, kene-kaynaklı ensefalit, döneke ateş, Akdeniz Benekli Ateşi (ABA), Q ateşi ve Lyme hastalığı olarak sıralanabilir. Ayrıca; günümüzde önceden varlığı bilinmeyen birçok kene kaynaklı hastalığın varlığı tespit edilmektedir (Ergonul 2006, Altay ve ark. 2008, Sen ve ark. 2011, Aktas ve ark. 2012, Kuloglu ve ark. 2012, Orkun ve ark. 2014b, Orkun ve ark. 2014a).

Babezyoz, tayleryoz, anaplazmoz ve erlikyoz keneler vasıtasıyla çiftlik hayvanlarına aktarılan en önemli hastalıklardır. Dünya üzerinde yaşayan sığırların %80 kadarı kene

enfestasyonuna uğramış halde olduğu için keneler çiftlik hayvanlarında ekonomik zarar yaratabilecek en önemli artropod ektoparazitlerdir. Küresel olarak kene ve kenelerin vektörlük yaptığı hastalıkların kontrolü için kullanılan giderlerin maliyeti 7 milyar dolar civarındadır (Jongejan ve ark. 2004, Mans 2008).

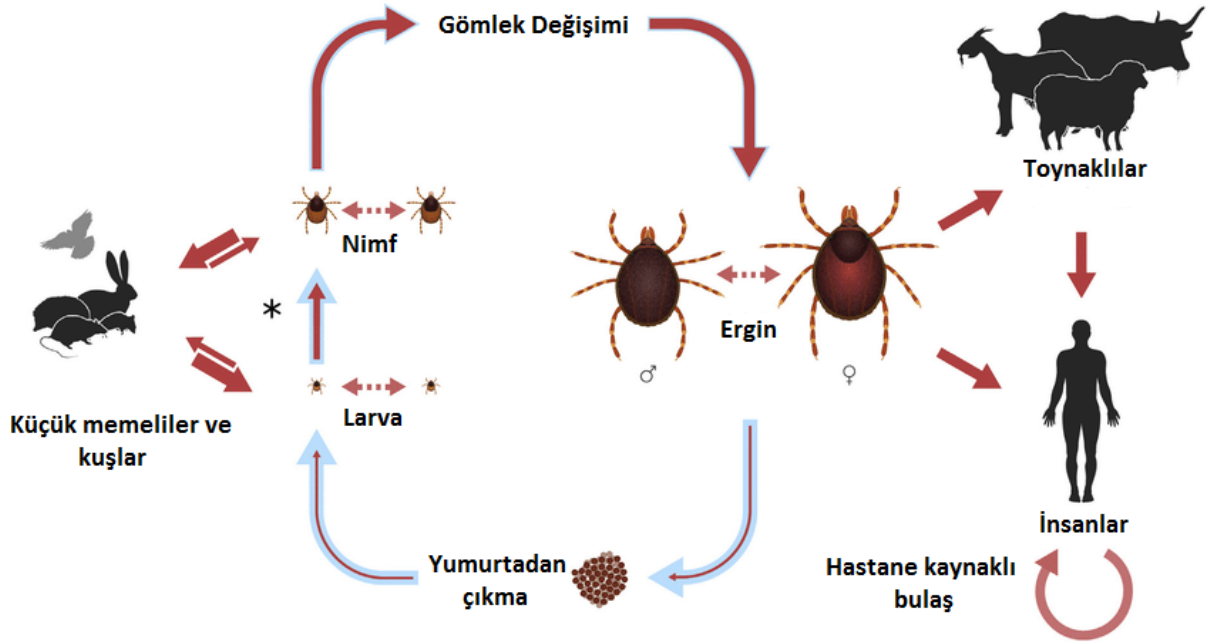
Yakın tarihte gelişen tanıya yönelik moleküler tekniklerin, özellikle polimeraz zincir reaksiyonunun (PZR), geliştirilmesi epidemiyolojik çalışmaları Dünya çapında hızlandırmıştır. Bu sayede bilinmeyen patojenleri tanımlamak ve kenelerin aktardığı mikroorganizmaları suş bazında belirleyebilmek olası hale gelmiştir (Sparagano ve ark. 1999, Tjisse-Klasen ve ark. 2014). Ayrıca, moleküler teknikler ile gerçekleştirilen filogenetik analizler sayesinde kenelerin taksonomisi, türün belirlenmesi, popülasyondaki çeşitliliğin anlaşılması daha kesin verilere dayandırılmıştır (Meyer 2013).

Vektör kaynaklı hastalıkların görülme sıklığı global olarak giderek artmaktadır. Yaban hayatı ve kenelerin ilişkisi ile insan ve evcil hayvan sağlığı açısından tehlike arz eden mikroorganizmalar doğada bir döngü halindedir. Bu yüzden bu döngünün gerçekleştiği ekoloji en az kene kaynaklı hastalıkların kontrolü kadar önemlidir ve dikkate alınmalıdır. Kene kaynaklı hastalıkların ekolojisinin daha iyi anlaşılabilmesi için yeni çalışmalara şiddetle ihtiyaç duyulmaktadır (Dantas-Torres ve ark. 2012).

2.4.1. Kırım Kongo kanamalı ateşi

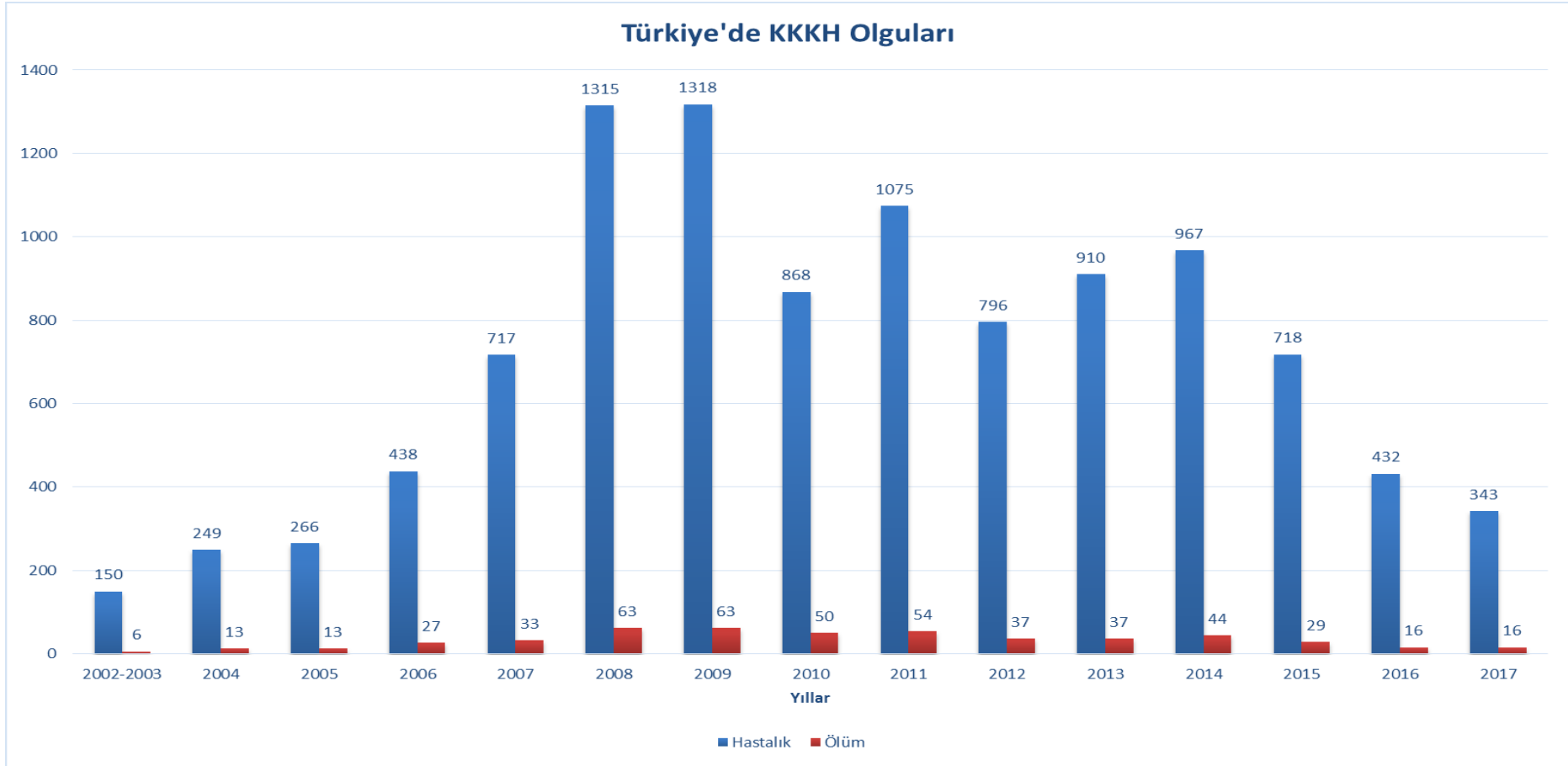
Kırım-Kongo kanamalı ateşi virüsü yaklaşık 30 kene ve bir sinek türünden izole edilmiş olsa da, yeterli vektör olarak belirlenmiş türlerin sayısı sınırlı olup (*Amblyomma variegatum*, *Hyalomma marginatum*, *Hyalomma rufipes*, *Hyalomma anatolicum*, *Hyalomma asiaticum*, *Hyalomma truncatum*, *Hyalomma impeltatum*, *Dermacentor marginatus*, *Rhipicephalus evertsi*, *Rhipicephalus rossicus*), bu türlerden özellikle bazı *Hyalomma* türlerinin KKKA epidemilerinde çok etkin rol oynadığı kabul edilmektedir (Korsunova 1949, Hoogstraal 1979, Logan ve ark. 1989, Dohm ve ark. 1996, Turell 2007). Balkanlar, Kırım, Güney Rusya Federal Eyaletleri ve Türkiye’de KKKA epidemilerinden sorumlu kene *H. marginatum*’dur (Hoogstraal 1979, Emelianova 2006, Tonbak ve ark. 2006, Vatansever 2007c). Vektör *Hyalomma* türleri virüsü transstadial yol ile gelişme dönemleri arasında; transovarial yol ile gelecek nesile aktarılabilir (Pak 1974, Hoogstraal 1979, Logan ve ark. 1989, Dohm ve ark. 1996, Faye ve ark. 1999, Turell 2007). Bununla birlikte, enfekte keneler enfekte olmayan bir konaktan kan

emerken, virüsü aynı konakta kendileri ile eşzamanlı kan emen enfekte olmayan kenelere de aktarabilmektedirler (non-vireamic transmission) (Logan ve ark. 1989, Gonzalez ve ark. 1992, Gordon ve ark. 1993). Ayrıca bazı çalışmalar KKKA virüsünün erkek ve dişi keneler arasında venereal yolla aktarıldığını da desteklemektedir (Gonzalez ve ark. 1992). Hastalığın döngüsü Şekil 2.9’da verilmiştir.



Şekil 2.9. KKKA hastalığının hayat döngüsü (Spengler ve ark. 2016).

Dünyanın birçok yerinden bildirilen hastalık ülkemizde 2002 yılında Tokat ve Sivas illerinde klinik belirtiler ile ortaya çıkmıştır ve aynı yıl sonunda Sağlık Bakanlığı verilerine göre 150 insan hastalığa yakalanmış ve 6’sı hastalığa yenik düşmüştür. İnsidans ve mortalite 2009 yılına kadar artarak devam etmiş 2010-2014 arasında plato evresine geçmiş ve 2015-2018 yılları arasında düşüş trendine başlamıştır (Şekil 2.10) (Gargılı 2007, Vatansever 2007c, Vatansever 2007b, Anonim 2018).



Şekil 2.10. KKKH kaynaklı vaka ve ölümlerle ilgili 2002-2017 yılları arası veriler (Anonim 2018).

Kırım Kongo kanamalı ateşi virüsü, evcil ve yabani hayvanlarda genellikle enfeksiyon oluşturur; fakat hastalık çok hafif seyreder. Kuşların çoğu virüse direnç gösterir ve hastalığın farklı coğrafyalara taşınmasında etkin rol oynar. Hastalık, vektör özellikleri nedeni ile mevsimsel olduğundan ve vektörün aktivitesi sıcak mevsimlerde arttığından hastalık da bu mevsimlerde vektör kenenin tutunup insandan kan emmesi ile görülür (Vatansever 2007b).

Hastalık ilk olarak 12. yüzyılda bugünkü Tacikistan topraklarında idrar, dışkı, diş eti, balgam, kusmuk ve karın boşluğunda kan görülmesi semptomları ile görülmüştür. Hastalığı aktaran artropodun kene ya da bite benzediği ve normalde siyah bir kuşu enfeste ettiği bildirilmiştir (Hoogstraal 1979, Ergonul ve ark. 2006).

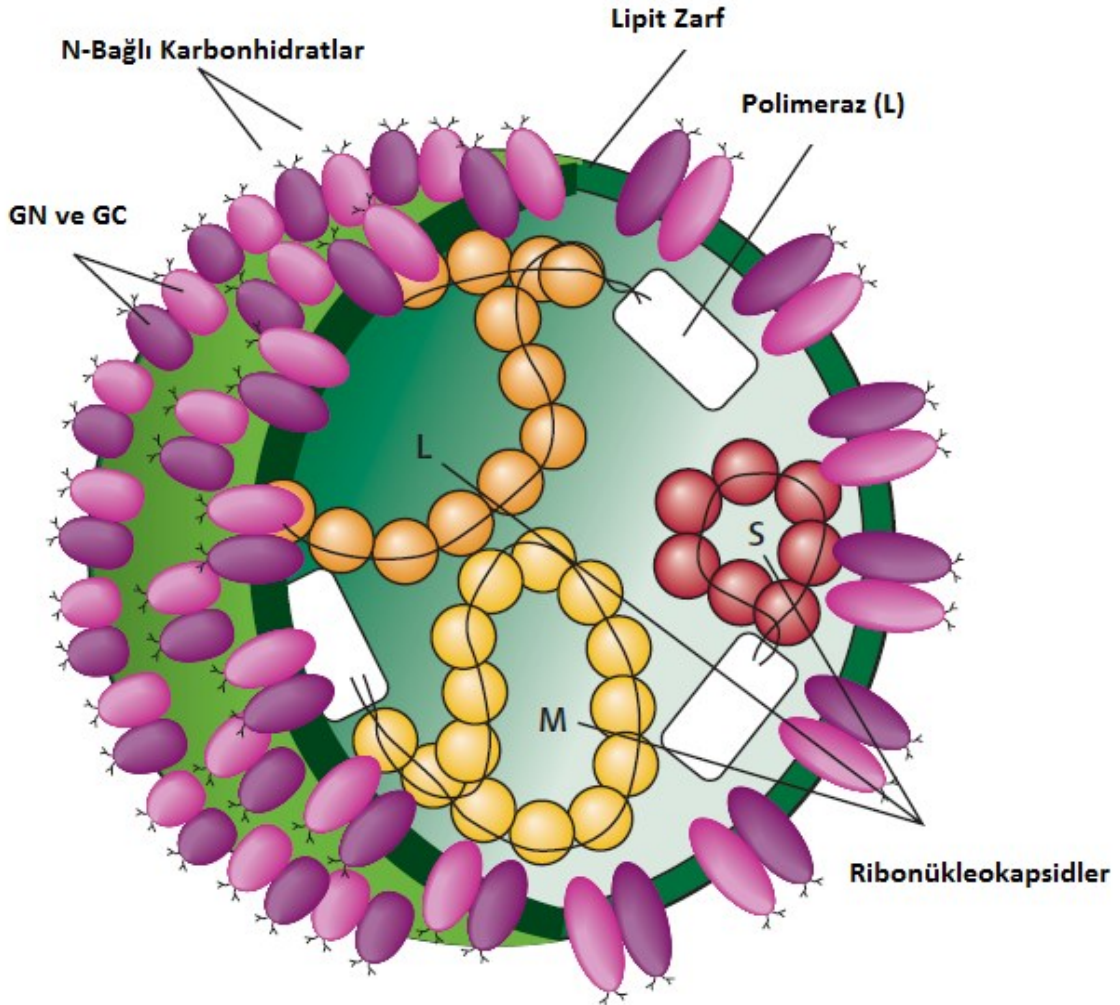
Kırım Kongo kanamalı ateşi bilimsel anlamda ilk kez kırım yarım adasında 2. Dünya savaşının sonlarında 1944-45 yıllarında yaklaşık 200 Sovyet askerinin köylülere yardım ederken hastalanması ile ortaya çıkmış ve Kırım Kanamalı Ateşi olarak tanımlanmıştır (Hoogstraal 1979, Simpson 1979, Watts 1988). Virüs ilk kez 1967 yılında yenidoğan beyaz farelere intra serebral aşılama sonrası kan ve dokularından izole edilmiştir. Elde edilen virüsün antijenik cevabı 1956 yılında tanımlanan Kongo virüsü ile aynı olduğu bulunmuştur. Kırım kanamalı ateşi virüsü ile Kongo virüsünün aynı virüs olduğu anlaşıldığında hastalık önce Kırım kanamalı ateşi Kongo virüsü sonra da en son haliyle Kırım-Kongo kanamalı ateşi olarak adlandırılmıştır (Simpson ve ark. 1967, Woodall ve ark. 1967, Casals 1969, Begum ve ark. 1970, Causey ve ark. 1970, Hoogstraal 1979, Watts 1988, Ergonul 2006).

Hastalık ilerleyen zamanlarda Güney, Doğu ve Batı Afrika'da yaygın olarak görüldüğü ve İran, Pakistan, Çin'in güneyi, Hazar Denizi çevresi ve Arap yarımadası, Rusya'nın Güneyi ve Avrupa'nın Güneydoğusunda da görüldüğü bildirilmiştir (Elaldi 2004).

Türkiye'de ilk kez 2002 yılında Tokat ilinde kanamalı ateş belirtisi ile tedavi gören hastalarda tespit edilmiştir. Başta Tokat olmak üzere Çorum, Sivas, Yozgat illeri ve civarından benzer belirtilere sahip bildirimler gelmeye başlamıştır. Hastalığın KKKA olduğu 2003 yılında kesinleşmiştir (Ergonul ve ark. 2004, Anonim 2005, Bakir ve ark. 2005, Ozkurt ve ark. 2006).

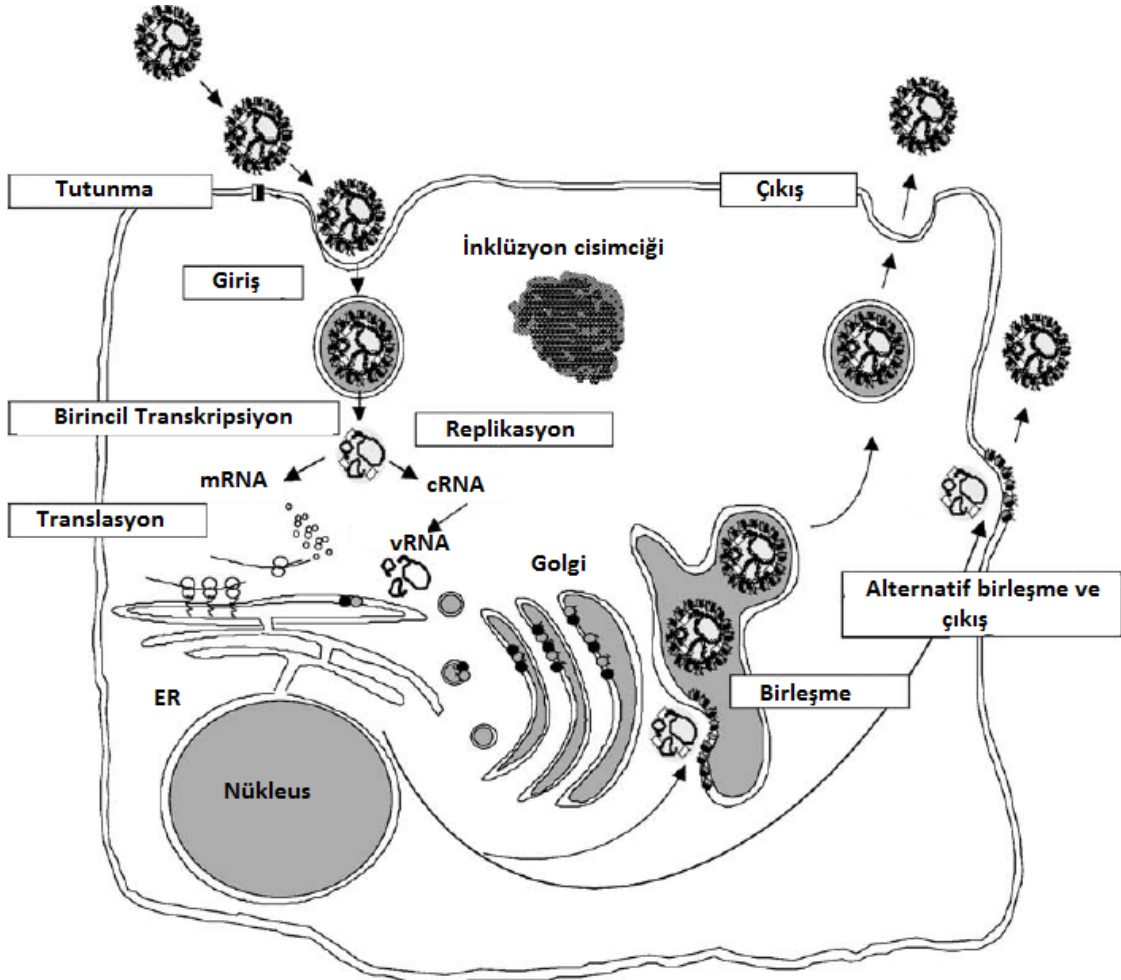
Kırım Kongo kanamalı ateşi virüsü, kenelerin vektörlüğünü yaptığı, Bunyaviridae ailesine bağlı *Nairovirus* cinsi altında yer alır; gerçekleştirdiği hastalık insanlar için patojenitesi yüksektir ve mortalitesi %40'a kadar çıkabilir (Özdarendeli 2007, Gargili ve ark. 2013). Nairovirüsler ortalama 80-100 nm çapındadır, üç segmentli RNA'ya sahiptir, sarmal kapsüllüdür ve zarflı virüslerdir (Whitehouse 2004). İnsanlarda enfeksiyon kenenin kan emmesi

veya enfekte olmuş hayvan/insan dokusu ve kanı ile temas ile gerçekleşir (Bente ve ark. 2013). *Nairovirus* cinsinin altında olan KKKA virüsü 5-7 nm kalınlığında bir zarfa sahip olan ve tek zincirli negatif polariteli ve L, M ve S segmentlerinden oluşan RNA virüsüdür. Sahip olduğu segmentler boyutlarına göre sınıflandırılmıştır ve kodladığı proteinler; L (Large=Büyük) segment: RNA polimeraz, M (Medium=Orta) segment: C-terminal glikoprotein (GC) ve N-terminal glikoprotein (GN), S (Small=Küçük) segment: nükleokapsit (yapısal protein) proteini şeklindedir. Nükleokapsid proteini RNA segmentlerini sararak korur. RNA polimeraz viral RNA'ya bağımlıdır ve hem replikasyon hem de transkripsiyonda rol alır (Şekil 2.11) (Ergonul 2006).



Şekil 2.11.: KKKA virüsünün şematik yapısı (Ergonul 2006).

M segmentin kodladığı GN ve GC glikoproteinleri hedef hücrelerdeki reseptörleri tanıyarak virüsün hücreye girişini sağlar. Virüsün hücreye girişi endositoz ile gerçekleşir. Nükleokapsitten ayrılan genetik materyallerden (-ssRNA) virüs için gerekli olan proteinler sentezlenir ve genetik materyalin replikasyonu gerçekleşir. Sentezlenen GN golgide, GC ise endoplazmik retikulumda (ER) lokalize olur. Viral replikasyon sitoplazmada gerçekleşerek asidite artar ve glikoproteinlerin üç boyutlu yapısı değişerek ER ve golgiden tomurcuklanan zarf konak hücre zarı ile füzyon gerçekleştirir. Yeni nükleokapsidler ve viral genom birleşir ardından konak hücre zarının GN ve GC glikoproteinleri içeren bölgesini tanıyarak zarf ile birleşir, olgunlaşan virüs hücreden ayrılır (Şekil 2.12) (Whitehouse 2004, Haferkamp ve ark. 2005, Ergonul 2006).



Şekil 2.12. KKKH virüsünün hücre içi döngüsü (Whitehouse 2004).

Kırım Kongo kanamalı ateşi virüsünün genetik çeşitliliğinin anlaşılmasında genetik materyalin gelişen nükleik asit dizi analizi teknikleri ile incelenmesinin etkisi çok büyük olmuştur. İlgili virüsün tiplendirilmesinde daha çok S segmentindeki varyasyonlar temel alınsa da, son zamanlarda M segmentinin nükleik asit dizisi analiz edilmektedir. Avrupa'dan izole edilen virüs suşları düşük genetik varyasyonlar içerdiğinden (Yunanistan'dan izole edilen AP92 suşu hariç) aynı grupta sınıflandırılmaktadır. Türkiye'den izole edilen virüs suşları Kosova ve Güneybatı Rusya suşları ile yakından ilişkilidir; ancak 2009 yılında KKKA enfeksiyonuna sahip hastalardan alınan kanlar ile yapılan bir çalışmada AP92 suşuna çok benzeyen bir virüse rastlanmıştır (Ergonul 2006, Midilli ve ark. 2009).

Hazara ve Dugbe virüsüne benzerlik gösteren Kırım Kongo kanamalı ateşi virüsü Doğu Avrupa, Kosova ve Türkiye izolatlarını içeren Avrupa 1; Yunanistan izolatu olarak da anılan AP92 ve AP92 benzeri suşları içeren Avrupa 2; Irak, Umman, Pakistan, Afganistan ve İran izolatlarını içeren Asya 1; Çin, Özbekistan ve Tacikistan izolatlarını ve önemli bir suş olan Hodzha suşunu da içeren Asya 2; Senegal izolatu içeren Afrika 1; Kongo ve Uganda izolatlarını içeren Afrika 2; Nijerya, Güney Afrika ve Moritanya izolatlarını içeren Afrika 3 olmak üzere 7 klada ayrılmıştır (Atkinson ve ark. 2012). Türkiye'de şimdiye kadar rastlanan KKKA virüs suşları Avrupa 1 kladında sınıflandırılmıştır; ancak 2 hastada AP92 benzeri bir virüse (EU057975 ve FJ392604 genbank erişim numaralı) rastlanmıştır (Midilli ve ark. 2007, Midilli ve ark. 2009). Bununla birlikte Türkiye'nin (özellikle Hatay, Kelkit vadisi ve Trakya'nın kuzeyi) Afrika'dan Doğu Avrupa ve Kuzey Doğu Asya'ya göç eden kuşların dinlenme veya üreme bölgeleri olduğundan farklı KKKA virüs suşlarının görülebilmesi beklenen bir durumdur. Bilindiği üzere *Hyalomma* larvaları yerden beslenen kuşları konak olarak sıklıkla tercih edebilmektedir (Zeller ve ark. 1994, Jameson ve ark. 2012, Leblebicioglu ve ark. 2014). Ayrıca, Leblebicioglu ve ark. (2014) göç eden kuşlardan topladıkları kenelerin türlerini tayin etmişler, sıklıkla *Hyalomma* cinsine ait nimflere rastlamışlar ve KKKA virüs varlığını taramışlardır. Topladıkları 186 keneden 2 tanesinin (*Hyalomma* ve *Ixodes* nimfi) KKKA virüsü taşıdığı anlaşılmış, yapılan dizi analizi sonucuna göre suşların Avrupa 1 kladı altında olduğu bildirilmiştir (Leblebicioglu ve ark. 2014).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Sıvı azot

Agaroz

Tris

Borik asit

EDTA

Etil alkol

Etidyum bromid

Distile su

Amonyum asetat

3.2. Kullanılan Cihazlar

Thermalcycler, Applied Biosistems, ABD.

Yatay elektroforez tankı, Thermo, ABD.

Yatay elektroforez tankı, Cleaver, İngiltere.

Transillüminatör, Vilber Lourmat, Fransa.

- 20°C derin dondurucu, Vestel, Türkiye.

Güç kaynağı, Cleaver, İngiltere.

Otoklav, Tek-Bal, Türkiye.

Buz makinesi, IMS-70, Türkiye.

Distile su cihazı, GFL 2102, Türkiye.

Fotoğraf makinesi, Canon, Japonya.

Mikrosantrifüj, Sigma, ABD.

+4°C soğutucu, Beko, Türkiye.

Hassas Terazî, Ohaus, ABD.

pH metre, Hanna HI221, ABD.

3.3.Kullanılan Kitler

QIAamp Viral RNA Mini Kit, Qiagen®, Germany.

One Step RT-PCR kit, Qiagen®, Germany.

Taq DNA Polymerase Kit, Thermo Scientific, ABD.

dNTP set, Thermo Scientific, ABD.

GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder, Thermo Scientific, ABD.

GenomeLab™ Dye Terminator Cycle Sequencing with Quick Start Kit, Beckman Coulter, ABD.

3.4. Örneklerin Toplanacağı Konumların Belirlenmesi

İlk olarak kenelerin toplanmasının planlandığı Kırklareli civarında KKKA hastalığı görülen ve KKKA nedeni ölümlerin gerçekleştiği köylerin arazilerine keşif ziyareti gerçekleştirilmiştir. Bölgedeki keneler için potansiyel konaklar belirlenip, bölgede bulunma ihtimali olan ve literatürle desteklenen kene türleri belirlenmiştir. Ayrıca her arazi bölgesinde bulunma ihtimali olan her kene türü için uygun habitatlar belirlenip koordinatları alınmıştır. Bölgeye yapılan keşif ziyaretinde elde edilen verilere ve yapılan literatür araştırmalarına göre bir arazi programı oluşturulmuştur. Belirlediğimiz arazi programına göre her ay meteoroloji verileri göz önünde bulundurularak saha çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.5. Sahadan Toplanan Keneler ve Morfolojik Analizleri

Keneler adapte oldukları konak bulma yöntemlerine göre pasif (ambush, pusucu) ve aktif (hunter, avcı) olmak üzere iki ana grupta toplanırlar. Bölgedeki keneleri sahadan toplama yöntemleride kenelerin bu özellikleri göz önünde bulundurularak geliştirilmiştir. Pusucu keneler (*Rhipicephalus*, *Haemaphysalis*, *Dermacentor*, *Ixodes*) pamuklu beyaz bir bez parçasının kenelerin konaklarını bekleyebileceği otların üzerinde sürüklenmesiyle (bayraklama yöntemi); avcı keneler ise (*Hyalomma*) konak taklidi (yerde titreşim oluşturma, ışık-gölge değişimi, konak kokusu kullama) ile saklandıkları yerden çıkartılarak toplanmıştır (Şekil 3.1). Her arazi programında keneler toplandıkları konum ve türlerine göre ayrı ayrı -80°C'ye dayanıklı tüplere alınmış ve tüplerin üzerine konum bilgileri, tarih, kene türü ve sayısı yazılarak numaralandırılmıştır.



Şekil 3.1. Bayraklama yöntemi ile pusucu kenelerin aranması.

Her arazi çalışması sonunda laboratuvara getirilen keneler stereo mikroskop altında morfolojik olarak incelenerek tür bazında ayrılmış ve viral RNA ile ilgili çalışmalar yapılmak üzere -80°C'de muhafaza edilmiştir.

3.6. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Virüsü Araştırması İçin Seçilen Keneler

Odaklar, toplanma tarihleri, insanlarda görülen KKKA olguları, odaklardan toplanan kene yoğunluğu ve cinsiyet dağılımı gibi parametreler dikkate alınarak, -80°C derin dondurucuda saklanan vektör kenelerden 200 tanesi seçilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Seçilen *H. marginatum* erginleri ile ilgili odaklar ve sayısal veriler.

Şehir	Köy	Tarih	Saha No	♂	♀	Toplam	Seçilen Erkek	Seçilen Dişi	Seçilen Toplam
Kırklareli	Armağan	5.5.2013	s-23	16	26	42		5	5
Kırklareli	Armağan	5.5.2013	s-24	41	52	93	10	10	20
Kırklareli	Armağan	5.5.2013	s-25	26	22	48		5	5
Kırklareli	Çayırılı	4.5.2013	s-26	11	15	26	10	10	20
Kırklareli	Çayırılı	2.7.2014	s-50	29	39	68		10	10
Kırklareli	Devletliagaç	1.7.2014	s-52	24	17	41	10	15	25
Kırklareli	Düzorman	26.5.2013	s-27	5	3	8		2	2
Kırklareli	Düzorman	18.5.2014	s-44	25	18	43	10	18	28
Kırklareli	Kıyıköy	6.5.2013	s-21	3	1	4	3	1	4
Kırklareli	Kızılağaç	6.5.2013	s-22	72	83	155	10	10	20
Kırklareli	Koruköy	10.6.2014	s-46	76	64	140	6	11	17
Kırklareli	Kömürköy	27.5.2013	s-30	68	90	158	10	20	30
Kırklareli	Kuzulu	10.6.2014	s-47	10	11	21	6	8	14
Toplam				406	441	847	75	125	200

3.7. Viral RNA Ekstraksiyonu

Çeşitli materyallerden çeşitli yöntemler ile RNA ekstrakte edilebilmektedir. İlgili yöntemlere örnek olarak: guanidyum-asit-fenol ekstraksiyon yöntemi, sezyum klorid ve sezyum triflorasetat yoğunluk gradiyenti santrifüj yöntemi, geleneksel total nükleik asit-protein ekstraksiyon yöntemi, silika membran yöntemi, SDS-sodyum asetat yöntemi, manyetik boncuk yöntemi verilebilir (Farrell 2010a). Tezde kullandığımız RNA ekstraksiyon kiti viral RNA ekstraksiyonu için standardize edilmiş silika membran temelli bir yöntemi içeren ticari bir kittir. Çalışmayı riske atmamak adına özellikle viral RNA ekstraksiyonu için global olarak sıklıkla kullanılan bir kit tercih edilmiştir.

Her kene 7 cm çaplı seramik havan içerisinde sıvı nitrojen ile dondurularak çok küçük parçalara ayrılana kadar ezilip, 1 ml steril saf su ile süspande edilip kriyotüplere alınmıştır. Oluşan süspansiyondan alınan örneklerden kit direktiflerine uyarak (QIAamp Viral RNA Mini Kit, Qiagen®, Germany) RNA ekstraksiyonu yapılmıştır.

3.8. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

İlk kez Kary Mullis tarafından tanımlanan Polimeraz zincir reaksiyonu hedef DNA bölgesine veya RNA'ya spesifik oligonükleotit (20-30nt) primerler ve özel polimeraz enzimi ile hedef bölgenin in vitro şartlarda çoğaltılmasına dayanan bir yöntemdir (Mullis ve ark. 1986). Bu yöntem DNA'nın denatürasyonu, primerlerin DNA üzerindeki spesifik bölgelerine bağlanması ve boş kalan 5' uca nükleotitlerin eklenmesi ile ilgili bölgenin çoğalması olmak üzere basitçe üç aşamadan oluşur.

Reaksiyonun ilk aşamasında 94-95°C sıcaklığa yükseltile ortamda çift iplikli DNA denatüre olur ve karşılıklı nükleotitler arasındaki hidrojen bağları koparak tek zincirli DNA'lar oluşur. İkinci aşamada ortam çoğaltılmak istenen bölgeye spesifik olarak tasarlanan primerlere özgü bağlanma sıcaklığına düşürülerek primerler DNA üzerindeki kendilerine özgü bölgelerine bağlanır. Üçüncü ve son aşamada primerlerin boş kalan 5' ucuna kalıp zincire uyumlu olarak Taq DNA polimeraz tarafından nükleotitler eklenmeye başlar. Hedef zincir 3. döngüden sonra oluşur ve sonraki her döngü sonunda kopya sayısı iki katına çıkar (Schochetman ve ark. 1988).

3.8.1. RT-Nested-PZR

Nested polimeraz zincir reaksiyonu (Nested PZR) bir çeşit polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) modifikasyonu olup, hedef bölgedeki beklenmeyen primer bağlanma bölgelerine non spesifik olarak primerlerin bağlanmasını azaltmayı, amplifiye edilecek bölgeye spesifiteyi ve hassaslığı arttırmayı hedefler. Yöntem iki farklı primer seti ve reaksiyon içerir. İlk primer seti ikinci primer setine göre hedef bölgeyi içine alacak şekilde daha geniş bir alanı amplifiye etmek için tasarlanır ve ilk reaksiyonda kullanılır. İkinci reaksiyon için ilk reaksiyon ürünü ve ilk reaksiyon ürünündeki spesifik bölgeler için tasarlanmış ikinci primer seti kullanılarak hedeflenen bölge amplifiye edilir. Bu şekilde reaksiyondaki hassaslık ve spesifite önemli derecede arttırılmış olur (van Pelt-Verkuil 2008, Carr ve ark. 2010).

Ters transkripsiyon (Reverse Transcription=RT) polimeraz zincir reaksiyonu kalıp olarak kullanılan RNA molekülünün ters transkriptaz enzimi ile komplementer DNA'ya (cDNA) dönüştürülmesi ve oluşturulan cDNA üzerindeki hedef bölgenin standart PZR protokolleri ile çoğaltılması olarak tanımlanan bir teknolojidir. Genellikle gen ifadesi çalışmalarında kullanılmakla birlikte çeşitli RNA virüslerinin teşhisinde de kullanılmakta olan bu yöntem global olarak RT-PZR olarak adlandırılır. İki aşamadan oluşan RT-PZR tekniğinde ilk aşamada saflaştırılmış RNA molekülü ters transkriptaz enzimi ile cDNA'ya dönüştürülür ve ikinci aşamada kalıp olarak kullanılır. Bahsi geçen iki aşama tek tüpte birbirini takip eden 2 reaksiyon ile ya da iki tüpte ve ayrı iki reaksiyon ile gerçekleştirilebilir (Farrell 2010b).

Ekstrakte edilen RNA'lar, kit ve belirlenen primer setleri (Eecf-F1 ve Eecf-R1) kullanılarak RT-PZR aşaması; oluşan RT-PZR ürünleri, belirlenen primer setleri (Eecf-F2 ve Eecf-R2) ve kit kullanılarak nested PZR aşaması gerçekleştirilmiştir (Tablo 3). RT-PZR aşaması üretici firma direktiflerine göre yapılmış olup PZR şartları ve Nested PZR aşaması Midilli ve ark., (2009) tarafından verilen yöntemin modifiye edilmiş şekli ile gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.2, 3.3, 3.4, 3.5)

Çizelge 3.2.: Kullanılan primerler.

Primer	Sekans	Amplikon
Eecf-F1	TTG TGT TCC AGA TGG CCA GC	307 bp
Eecf-R1	CTT AAG GCT GCC GTG TTT GC	
Eecf-F2	GAA GCA ACC AAR TTC TGT GC	211 bp
Eecf-R2	AAA CCT ATG TCC TTC CTC C	

Çizelge 3.3.: Nested PZR aşamasında kullanılan reaktiflerin miktarları ve konsantrasyonları.

Reaktifler	Miktar/konsantrasyon
Tampon (10x)	5 µl/1x
MgCl ₂ (25mM)	3 µl/1,5mM
dNTP mix (200mM)	1 µl/4mM
Primer F (10pmol/µl)	1 µl/0,2pmol/µl
Primer R (10pmol/µl)	1 µl/0,2pmol/µl
Taq DNA polimeraz (10U/µl)	0,2 µl/1U
RT-PZR ürünü	5 µl
Steril Saf Su	33,8 µl
Toplam	50 µl

Çizelge 3.4.: RT-PZR aşamasında uygulanan şartlar.

Sıcaklık (°C)	Süre (sn-dk)	Döngü
50	30 dk	1
95	15 dk	1
94	30 sn	35
60	30 sn	
72	1 dk	
72	10 dk	1

Çizelge3.5.: Nested PZR aşamasında uygulanan şartlar.

Sıcaklık (°C)	Süre (sn-dk)	Döngü
95	2 dk	1
94	30 sn	35
57	1 dk	
72	1 dk	
72	10 dk	1

3.9. Agaroz Jel Elektrofrez

Ekstrakte edilen DNA'nın veya PZR ürünlerinin boyutlarının belirlenmesi için sıklıkla agaroz jel elektrofrez yöntemi kullanılmaktadır. Yöntem elektriği ileten bir tampon, bu tampon ile hazırlanan agaroz jel, DNA'nın UV ışık altında görünmesini sağlayan etidyum bromür (EtBr), sistemde elektriksel bir akım oluşturabilen düzenek ve güç kaynağından oluşmaktadır. Hazırlanan agaroz jelin yoğunluğu içerdiği porların büyüklüğü ile ters orantılıdır. Yoğunluğu, beklenen DNA parçalarının büyüklüğüne göre hazırlanan agaroz jel içerisinde küçük boyutlu DNA parçaları büyük boyutlu DNA parçalarından daha hızlı olmak üzere + uca doğru ilerler. Agaroz jel hazırlanırken eklenen EtBr agaroz jel içinde DNA'ya ters yönde - uca doğru ilerler. Etidyum bromür DNA'nın hidrofobik bölgesine ve nükleotit çiftlerinin arasına bağlanmaktadır. Bu nedenle interkalatlayıcı ajan olarak adlandırılmaktadır. Nükleotit çiftlerinin arasına van der Waals bağlarına benzer bir bağ ile bağlanan EtBr 300-360 nm UV ışık altında parlar ve DNA görünür hale gelir. Agaroz jelle analiz edilecek DNA örnekleri ile eş zamanlı olarak yüklenen, boyutları bilinen DNA parçalarından oluşan marker DNA'da yüklenir ve elektrofrez sonunda örnekler marker DNA ile mukayese edilerek boyutları belirlenir (Sambrook 1989).

Nested PCR ürünleri %2'lik agaroz jel elektrofrezinde marker DNA, pozitif ve negatif kontroller eşliğinde kalitatif olarak incelenmiştir. Hedef ampliconların görüldüğü örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.10. DNA Dizi Analizi

Sanger dizileme oligonükleotid primerler ile hedeflenmiş özel DNA bölgelerinin nükleotid dizilerini ortaya çıkarmayı hedefleyen bir tekniktir. Çift zincirli DNA'nın denatürasyonu ile başlayan dizileme reaksiyonu spesifik primerlerin hedef bölgelere yapışması ile devam eder. Reaksiyon içeriğinde bulunan deoksिनükleotid trifosfatlar (dNTPs) primer yapışmasını takiben taq polimeraz enzimi ile 3'uca eklenmeye başlar ve yeni çift zincirli yapı oluşur. Polimeraz zincir reaksiyonuna benzeyen procesteki fark reaksiyon içeriğinde zincir sonlandırıcı ve floresan işaretli dideoksिनükleotid trifosfatların (ddNTP) (ddATP: yeşil, ddCTP: mavi, ddGTP: siyah ve ddTTP: kırmızı) bulunmasıdır. Rastlantısal olarak dNTP yerine ddNTP geldiğinde uzama sonlanır. Bu sayede farklı uzunluklarda DNA fragmanları oluşur. Reaksiyon sonunda dizileme cihazında kapiller elektrofrez gerçekleştirilen DNA fragmanları uzundan kısaya sıralanır. Lazer dedektör floresan ışınları analiz ederek grafiksel bir veri

oluşturur ve dört farklı ddNTP'ye ait pikler analiz edilerek ilgili bölgenin DNA dizisi ortaya çıkar (Gomes ve ark. 2018).

Polimeraz zincir reaksiyonu sonucunda %2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelenerek pozitif olarak değerlendirilen bazı örneklerin DNA dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. Seçilen örneklerin kriterleri aşağıdaki gibidir.

- Her köyden pozitif örnek seçmeye dikkat edilmiştir.
- RT-Nested PZR sonucunda non-spesifik bant içermeyen örnekler tercih edilmiştir.

Seçilen ürünler PEG-Etanol yöntemi ile primer ve dNTP artıklarından arındırılarak saflaştırılmıştır(Paithankar ve ark. 1991).Saflaştırılan ürünler %2'lik agaroz jelde kontrol edilmiş ve marker DNA'nın miktarları bilinen bantları ile mukayese edilerek dizileme reaksiyonu için gerekli olan ürünmiktarına(en az 50ng) karar verilmiştir. Dizileme reaksiyonu içeriği ve şartları kit direktiflerine göre oluşturulmuştur (GenomeLab™ Dye Terminator Cycle Sequencing with Quick Start Kit, Beckman Coulter, ABD).

Dizileme reaksiyonu gerçekleştirilen örnekler kit direktiflerine göre primer, dNTP ve ddNTP artıklarından arındırılarak dizileme cihazına yüklemeye hazır hale getirilmiştir (GenomeLab™ Dye Terminator Cycle Sequencing with Quick Start Kit, Beckman Coulter, ABD). DNA dizilerinin okuma işlemi Namık Kemal Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarından hizmet alınarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler BioEdit Sequence Allignment Editor ile düzenlenmiştir (Hall 1999). Düzenlenen DNA dizileri National Center for Biotechnology Information veritabanından elde edilen referans diziler ile MEGA-X programı kullanılarak analiz edilmiş ve filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Filogenetik ağaç oluşturulurken Kimura-2 parametre modeline dayanan Maximum-Likelihood yöntemi tercih edilmiştir; ayrıca boşluk ve eksik veri içeren pozisyonlar elenmiştir (Kimura 1980, Kumar ve ark. 2018).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Sahadan Toplanan Keneler ile İlgili Bulgular

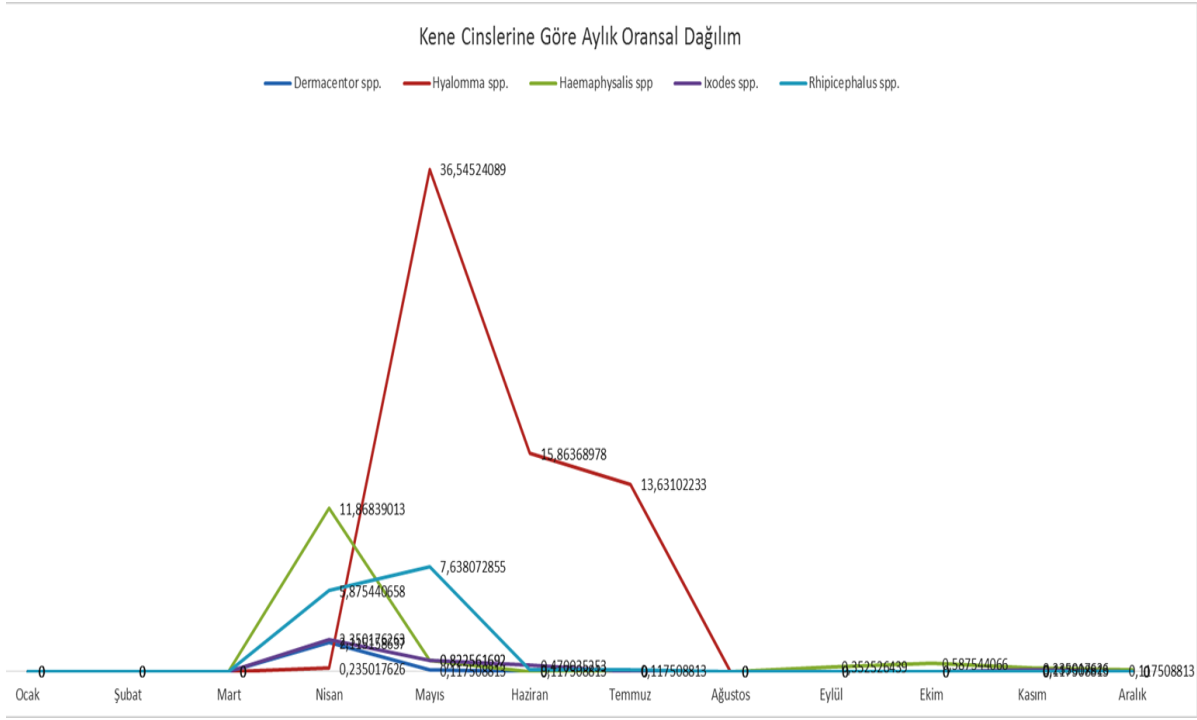
Yapılan morfolojik incelemelere göre belirlenen kene türleri sırası ile *Dermacentor marginatus*, *Dermacentor* sp. larva, *Hyalomma aegyptium*, *Hyalomma marginatum*, *Haemaphysalis inermis*, *Haemaphysalis parva*, *Haemaphysalis punctata*, *Haemaphysalis* sp. nimf, *Ixodes acuminatus*, *Ixodes ricinus*, *Ixodes* sp. nimf, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus turanicus*'tur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Trakya sahasından toplanan kene türleri ve sayısal veriler. Sayısal veriler daha önceden gerçekleştirmiş olduğumuz araştırma projesinin verileri ile birleştirilerek tür bazında yıllık ortalama kene sayıları oluşturulmuştur (Kar 2016).

Kene Türü	Köy	Genç (ort.)	Dişi (ort.)	Erkek (ort.)	Toplam (ort.)
<i>D. marginatus</i>	Çayırli, Düzorman, Kömürköy		5	12	17
<i>Dermacentor</i> sp. larva	Kömürköy	1			1
<i>H. aegyptium</i>	Armağan, Kömürköy, Çayırli, Düzorman, Koruköy, Kuzulu, Karahamza, Devletliagaç		18	8	26
<i>H. inermis</i>	Çayırli, Düzorman, Kömürköy		13	17	30
<i>H. marginatum</i>	Armağan, Kömürköy, Çayırli, Düzorman, Koruköy, Kuzulu, Karahamza, Devletliagaç, Kızılköy, Çeşmeköy, Kızılağaç		262	277	539
<i>H. parva</i>	Çayırli, Düzorman		4	3	7
<i>H. punctata</i>	Armağan, Kömürköy, Çayırli		28	47	75
<i>Haemaphysalis</i> sp. nimf	Kömürköy, Çayırli	6			6
<i>Haemaphysalis</i> sp. Larva	Çayırli	1			1
<i>I. acuminatus</i>	Çayırli			1	1
<i>I. ricinus</i>	Kızılağaç, Armağan, Düzorman, Çayırli		6	21	27
<i>Ixodes</i> sp. Nimf	Çakıllı	4			4
<i>R. bursa</i>	Çayırli		1		1
<i>R. turanicus</i>	Armağan, Çayırli, Düzorman, Koruköy, Devletliagaç		25	34	59
Toplam		12	362	420	794

Elde edilen verilere göre sahadan toplanan kenelerde bölgede en yüksek tür yoğunluğu ülkemizdeki KKKA virüsü vektörü olan *H. marginatum*'a aittir ve kenelerin toplanma zamanlarına göre yapılan analiz sonucunda bu türün en aktif olduğu ay Mayıs ayı olduğu belirlenmiştir. Arazi çalışması planlanan tüm köylerde ilgili türe rastlanmıştır. Tür çeşitliliği

açısından en zengin köy Çayırılı köyü olarak belirlenmiştir. Genel olarak kenelerin aktif olarak geçirdikleri periyot yılın Mart-Ağustos ayları arasında olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında *Haemaphysalis* cinsine ait türlerin Eylül-Kasım aylarında da aktif olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1)



Şekil 4.1. Kene cinslerine göre aylık oransal dağılım.

4.2. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Virüsü ile İlgili Bulgular

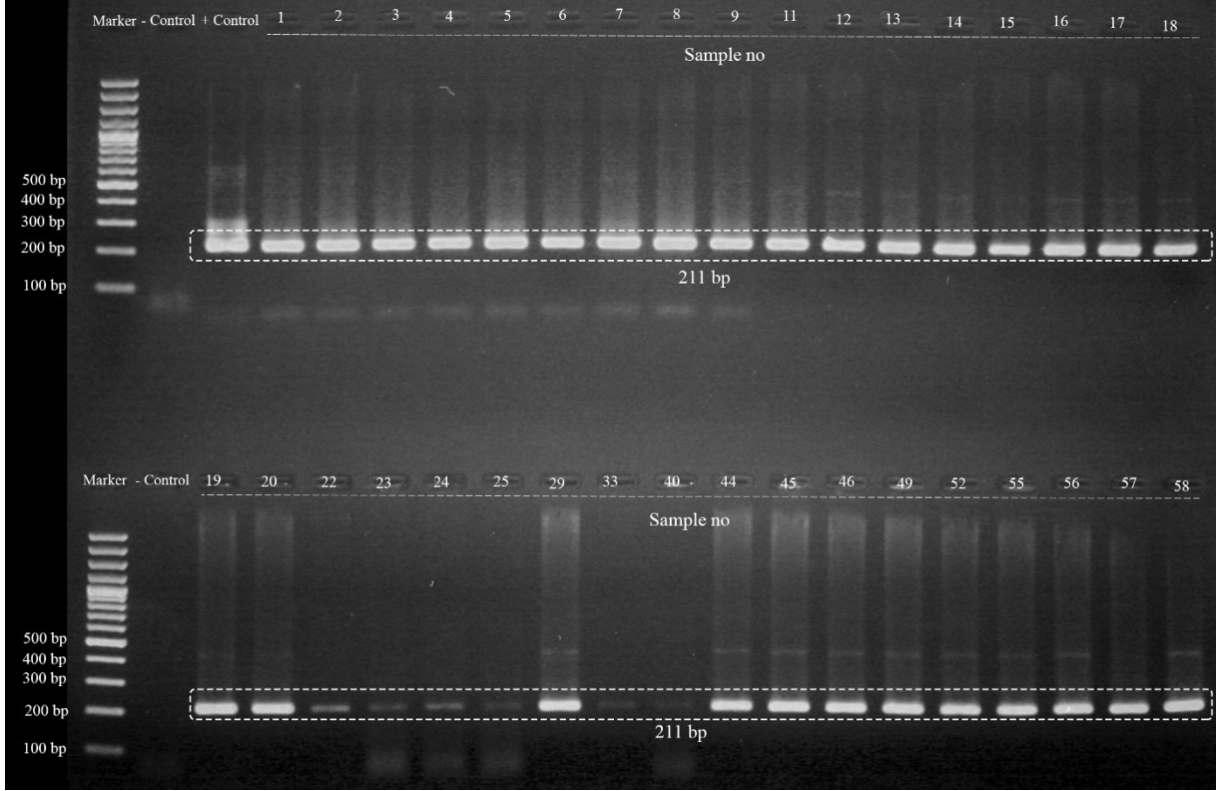
Moleküler analizleri yapılan 75'i erkek 125'i dişi olarak seçilen 200 *H. marginatum*'un %51,5'inin KKKA virüsü taşıdığı belirlenmiştir. Kırklareli'ye bağlı *H. marginatum*'un hayat döngüsüne uygun konaklara ve arazilere sahip, KKKA görülmüş ve/veya KKKA riski taşıyan köyler ve bu köylerin arazilerinden toplanmış olan *H. marginatum* türü kenelerin virüs taşıma yüzdeleri sırasıyla Armağan %56,67, Çayırılı %86,67, Koruköy %42,86, Devletliagaç %28, Düzorman %50, Kıyıköy %0, Kızılağaç %50, Kömürköy %53,33, Kuzulu %42,86 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2). İlgili pozitif örneklerin ve 3 adet negatif örneğin (149,154,157) RT-Nested PZR ürünleri marker DNA, pozitif ve negatif kontrol eşliğinde agaroz jelde analiz

edilip fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 4.2, 4.3, 4.4, 4.5). Ayrıca ilgili türün erkek (75 birey, %50,67 pozitiflik) ve dişileri (125 birey, %52 pozitiflik).

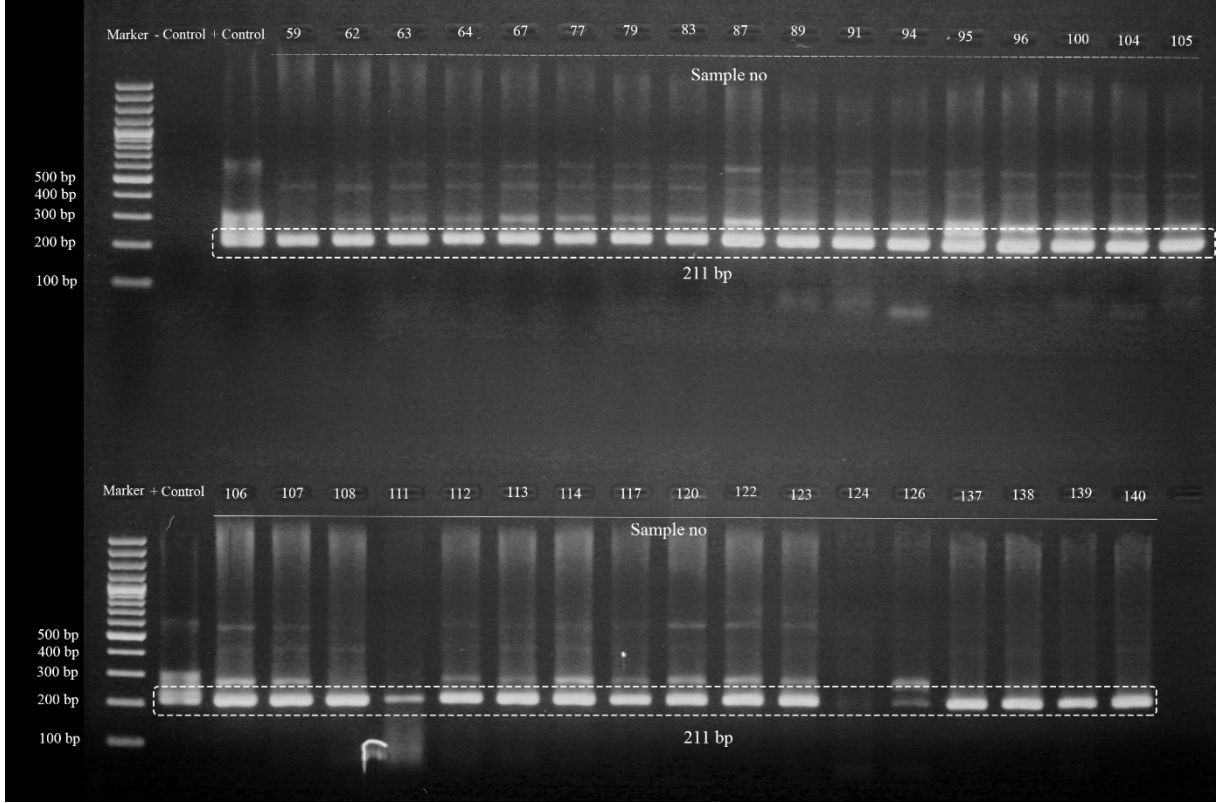
Çizelge 4.2. Seçilen *H. marginatum* türü kenelerin lokasyon bazında KKKA pozitifliği bakımından karşılaştırılması.

Konum	Erkek	Dişi	Toplam	Pozitif Erkek	Pozitif Dişi	Toplam pozitif
Armağan	10	20	30	2	15	17 (%56,67)
Çayırılı	10	20	30	9	17	26 (%86,67)
Koruköy	6	11	17	0	6	6 (%42,86)
Devletliagaç	10	15	25	4	3	7 (%28)
Düzorman	10	20	30	8	7	15 (%50)
Kıyıköy	3	1	4	0	0	0 (%0)
Kızılağaç	10	10	20	6	4	10 (50)
Kömürköy	10	20	30	6	10	16 (%53,33)
Kuzulu	6	8	14	3	3	6 (%42,86)
TOPLAM	75	125	200	38	65	103 (%51,5)

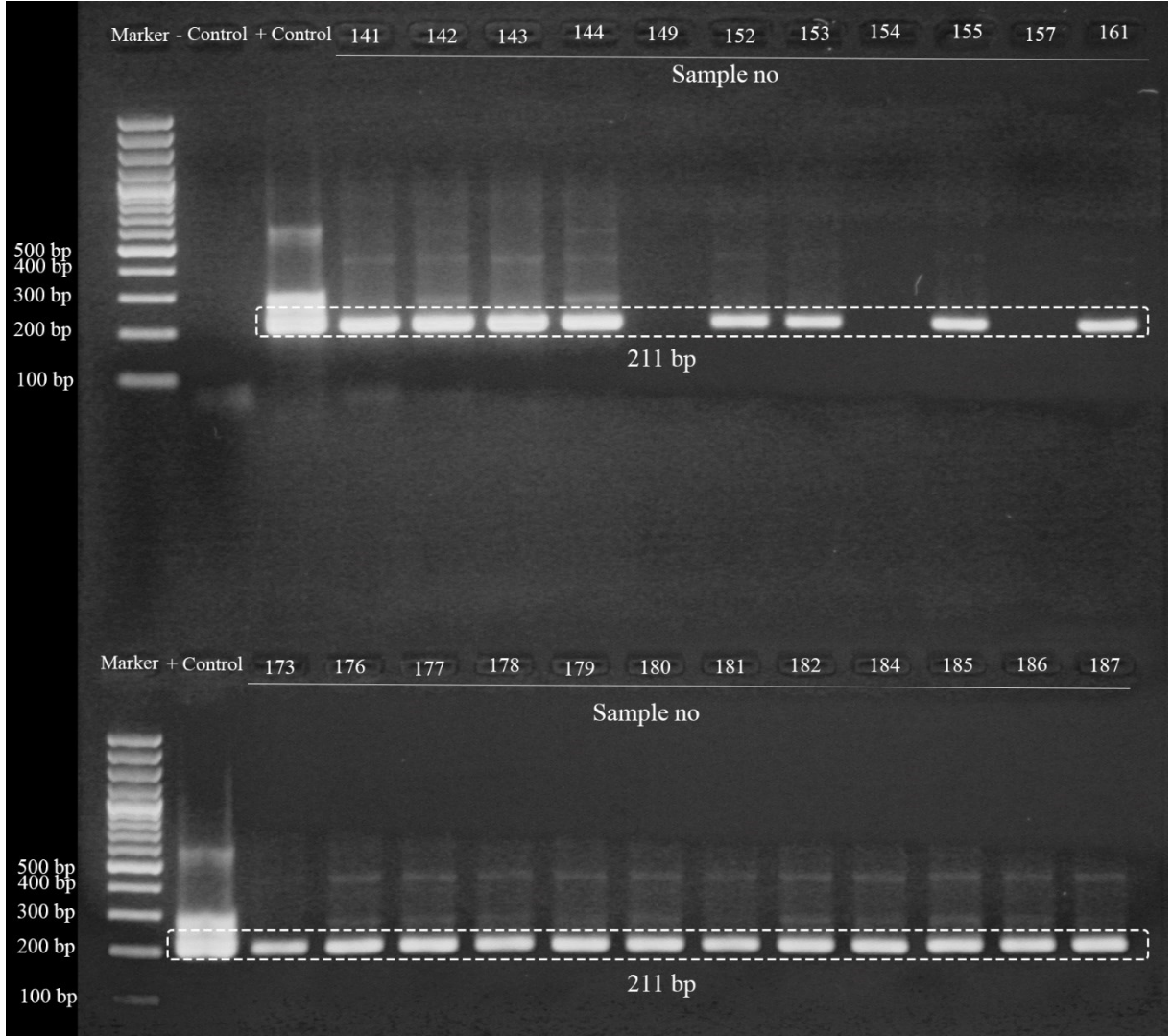
Pozitif çıkan örneklerden 9 tanesi seçilerek DNA dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Dizi analiz sonucuna göre 8 izolat Türkiye’de sıklıkla görülen Kosovo Hoti virüs suşuna, 1 izolat ise Rusya/Stavropol suşuna yakın bulunmuştur (Çizelge 4.3) (Şekil 4.6).



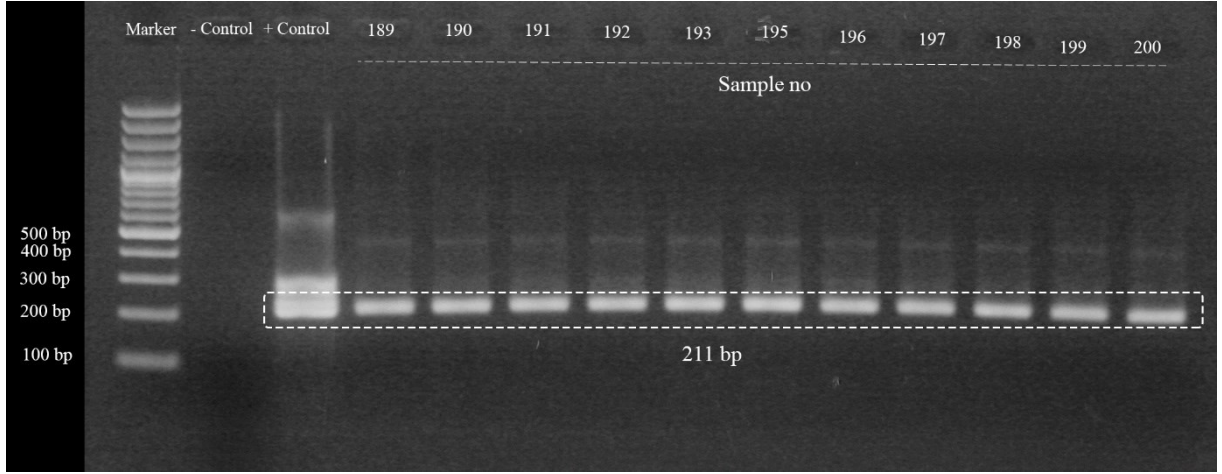
Şekil 4.2.:RT-Nested PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüleri.1-9 no'lu örnekler s-50 kodlu arazi, 11-15 no'lu örnekler s-23 kodlu arazi, 16-20 no'lu örnekler s-25 kodlu arazi, 22-40 no'lu örnekler s-24 kodlu arazi, 44-58 no'lu örnekler s-22 kodlu araziye ait pozitif örneklerdir.



Şekil 4.3.:RT-Nested PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüleri. 59 no'lu örnek s-22 kodlu arazi, 62-83 no'lu örnekler s-52 kodlu arazi, 87-96 no'lu örnekler s-47 kodlu arazi, 100-126 no'lu örnekler s-30 kodlu arazi, 137-140 no'lu örnekler s-44 kodlu araziye ait pozitif örneklerdir. Pozitif örneklerde 211 bp bant belirgin olarak görülmektedir.



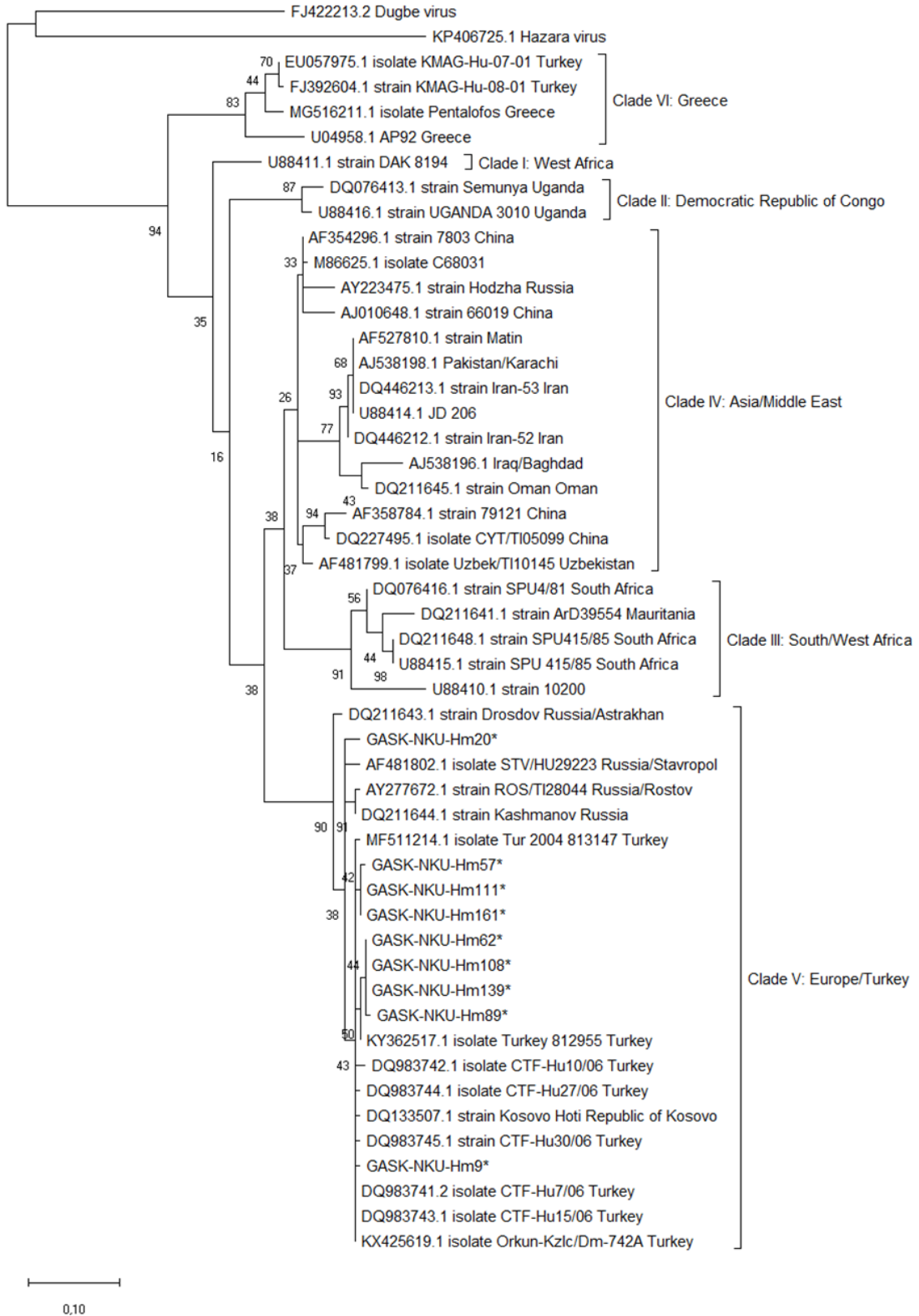
Şekil 4.4.:RT-Nested PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüleri. 141-144, 152-153, 155 ve 161 no'lu örnekler s-44 kodlu arazi, 173-180 no'lu örnekler s-46 kodlu arazi, 181-187 no'lu örnekler s-26 kodlu araziye ait pozitif örneklerdir. 149, 154 ve 157 no'lu örnekler s-44 kodlu araziye ait negatif örneklerdir. Pozitif örneklerde 211 bç bant belirgin olarak görülmektedir.



Şekil 4.5.: RT-Nested PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüleri. 189-200 no'lu örnekler s-26 kodlu araziye ait pozitif örneklerdir. Pozitif örneklerde 211 bç bant belirgin olarak görülmektedir.

Çizelge 4.3. DNA Dizi analizi yapılan KKKA virüsü S segmentindeki bölgenin en fazla benzerlik gösterdiği izolatlar.

İzolat	Kene	Toplandığı Arazi	İl	Benzerlik (%)	İzolat	GenBank Erişim No
GASK-NKU-Hm9	<i>H. marginatum</i>	Çayırılı	Kırklareli	99	Orkun-Kzlc/Dm-742A	KX425619.1
GASK-NKU-Hm20	<i>H. marginatum</i>	Armağan	Kırklareli	98	4558-STV/HU-2008	KR815283.1
GASK-NKU-Hm57	<i>H. marginatum</i>	Kızıllağaç	Kırklareli	99	Orkun-Kzlc/Dm-742A	KX425619.1
GASK-NKU-Hm62	<i>H. marginatum</i>	Devletliagaç	Kırklareli	99	Turkey_812955	KY362517.1
GASK-NKU-Hm89	<i>H. marginatum</i>	Kuzulu	Kırklareli	99	Turkey_812955	KY362517.1
GASK-NKU-Hm108	<i>H. marginatum</i>	Kömürköy	Kırklareli	99	Turkey_812955	KY362517.1
GASK-NKU-Hm111	<i>H. marginatum</i>	Kömürköy	Kırklareli	99	Orkun-Kzlc/Dm-742A	KX425619.1
GASK-NKU-Hm139	<i>H. marginatum</i>	Düzorman	Kırklareli	99	Turkey_812955	KY362517.1
GASK-NKU-Hm161	<i>H. marginatum</i>	Düzorman	Kırklareli	99	Orkun-Kzlc/Dm-742A	KX425619.1



Şekil 4.6. DNA dizi analizi sonuçlarına göre oluşturulan filogenetik ağaç.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Tür çeşitliliği açısından 30-48 kadar kene türüne sahip olduğundan söz edilen Türkiye, kenelerin yerleşmeleri ve efektif bir şekilde üreyebilmeleri için oldukça uygun coğrafik ve iklimsel özelliklere sahiptir (Aydın ve ark. 2007, Bursali ve ark. 2012). Trakya, Kuzeyi dağlık ve Karadeniz ikliminin hakim olduğu; Güneyi ise parçalı araziye sahip ova şeklinde ve karasal iklimin hakim olduğu zoolojik tür çeşitliliği yüksek olan bir bölgemizdir. Bölgede ve komşu ülkelerde daha önce yapılmış araştırmalar göz önünde bulundurulduğunda sahadan topladığımız kenelerin bölge keneleri ile örtüştüğü görülmektedir (Pavlidou ve ark. 2008, Gargili 2010, Gargili ve ark. 2011, Kar ve ark. 2015, Nader ve ark. 2018). Mevcut çalışmalarda daha çok konak üzerinden kene toplandığından, meskene yerleşen *H. scupense*, *H. detritum*, *R. sanguineus*, *B. annulatus* gibi keneler de bildirilmiştir. Tez çalışmasında, bölgede daha önce görülmüş bu kenelere rastlanmamasının sebebi çalışmanın sahadaki aç kenelere yönelik olmasıdır. Dolayısıyla meskene yerleşen ixoditlere sahada rastlamak beklenmemektedir. Bölgede daha önce özellikle kene türlerinin tanımlanmasına ait bir çalışmaya rastlanmamıştır ve bölgede keneler ile ilgili yapılan diğer çalışmalar da zayıftır.

Konağa tutunduktan sonra 400'den fazla özel molekül içeren tükürük salgılayan keneler, bu işlemi beslenme süresince devam ettirir. Özel moleküller sayesinde konaktaki tutunma bölgesi hissizleşir, bölgeye düzenli kan akışı gerçekleşir ve lokal immüneyi baskılayıcı özelliği ile uzun zaman alan beslenme süresi boyunca kene kendini konağın immün sisteminden korur. Bu durum sayesinde kene kaynaklı patojenler immün sistemden kaçarak hastalık oluşturma potansiyellerini arttırmaktadır. Ayrıca bu durum konak (kene) – parazit (patojen) birlikte evrimine güzel bir örnektir (Sonenshine 1991, Tu 2005). Kenelerin tükürük salgılarının bu özelliği keneleri bilinen en başarılı vektörlerden biri yapmaktadır. Dünya üzerinde bilinen kene türlerinin %10'unun 200'den fazla hastalığı aktarabilmesi bu durumu kanıtlar niteliktedir (Jongejan ve ark. 2004, Labuda ve ark. 2004). Diğer taraftan, bir kenenin bir patojenin vektörü olabilmesi için biyolojisine göre genç evrelerinden birinde ilgili patojen ile enfekte bir konaktan kan emerek patojeni almış olması gerekmektedir. Ayrıca taşıdığı patojeni tükürük salgısı ile konağa aktarabilmesi için patojenin cinsine göre değişen bir süre zarfında konak üzerinde beslenmesi ve yeteri kadar patojen içeren tükürük salgısını konağa aktarmış olmalıdır. Bunların yanında her kene türünün her patojen için vektörlük yeteneği yoktur. Bu duruma örnek olarak; KKKA için Türkiye'de sadece *H. marginatum*'un vektörlüğü kesindir. Küresel olarak birçok farklı kene türünden ve artropodlardan KKKA virüsü izole edilmiş olsa da pratikte önem

taşımamaktadır. Yapılan çalışmalar Balkanlar, Kırım, Güney Rusya Federal Eyaletleri ve dünyadaki en büyük epidemiyeye sahip olan Türkiye’de KKKA’dan sorumlu kenenin *H. marginatum* olduğunu bildirmektedir (Hoogstraal 1979, Emelianova 2006, Tonbak ve ark. 2006, Turell 2007, Vatansever 2007c).

Ülkemizde Kırım-Kongo kanamalı ateşinden sorumlu kenenin *H. marginatum* olmasından dolayı, bu tezde, bölgedeki hastalık yoğunluğunun belirlenmesi ve hastalıktan sorumlu virüs suşlarının belirlenmesi için toplanan aç keneler içinden bu tür hedef alınmıştır ve ilgili türün hastalık ile ilgili vektörlüğü bir kez daha ispatlanmıştır. Yapılan çalışmalarında bildirdiği gibi zaten *Hyalomma* türleri ilgili virüsü hem transstadial hem de transovarial yolla gelişme dönemleri ve nesiller arası aktarabilmektedir (Pak 1974, Hoogstraal 1979, Logan ve ark. 1989, Dohm ve ark. 1996, Faye ve ark. 1999, Turell 2007). Bununla birlikte, enfekte olmayan bir konak üzerinde beslenen enfekte keneler patojeni aynı anda birlikte beslendikleri enfekte olmayan diğer kenelere de aktarabilmektedirler (non-vireamic transmission) (Logan ve ark. 1989, Gonzalez ve ark. 1992, Gordon ve ark. 1993). Ek olarak, yapılan bazı çalışmalar sonucunda KKKA virüsünün cinsiyetler arası venereal yolla da bulaştığı bildirilmektedir (Gonzalez ve ark. 1992). Yukarıdaki tüm bilgilerin ışığında, enfekte kenelerde ve enfekte kenelerin beslendiği konakta aynı anda beslenen tüm keneler ve diğer ektoparazitik artropodlarda ilgili etkene rastlamak olasıdır. Birçok çalışma konak üzerinden toplanmış farklı türlerde kenelerde KKKA virüsü taramak amacıyla yapılmış ve farklı türlerde virüse rastlanarak bazı spekülatif sonuçlar ortaya konmuştur. Bu tezde, ilgili çıkarımlardaki soru işaretlerini gidermek adına Türkiye’deki kesin vektör olan *H. marginatum*’un epidemiyolojik açıdan ve özellikle insan enfeksiyonları için önemli gelişim formu olan aç erginleri (Hoogstraal 1979, Whitehouse 2004) incelenmiştir.

Ülkemizde, insanlarda ilk KKKA olgusu 2002 yılında gerçekleşmiştir. İlk olgudan günümüze kadar 300’den fazla ilçeye ait 3000’i aşkın köyde 10562 olgu ve 501 ölüm gerçekleşmiştir. Odağı Kelkit vadisi olmak üzere özellikle Orta Anadolu’da görülen hastalık, diğer bölgelerde az da olsa görülmektedir. Örnek olarak, KKKA’ya Trakya’da ilk kez 2005’de rastlanmış ve 2016’ya kadar Kırklareli’de 22 olgu 3 ölüm, Edirne’de 10 olgu ve Tekirdağ’da 6 olgu olmak üzere hastalığa 38 kez rastlanmıştır. Türkiye’de konu ile ilgili yapılmış bazı çalışmaların verileri Çizelge 5.1.’de verilmiştir.

Çizelge 5.1.: Türkiye’de KKKA yaygınlığı ile ilgili yapılmış çalışmalarla ilgili veriler (Tonbak ve ark. 2006, Vatansever 2007c, Gunes ve ark. 2009, Gargili ve ark. 2011, Gunes ve ark. 2011, Albayrak ve ark. 2012, Hekimoglu ve ark. 2012, Tekin ve ark. 2012, Yesilbag ve ark. 2013).

Lokalite	Materyal	Yöntem	Pozitiflik	Kaynak
Trakya	<i>H. marginatum</i>	PCR	%51,5	Mevcut Tez Verileri
	Hayvanlardan toplanan keneler	PCR	%0,74-1,67	Gargılı ve ark. 2011
	İnsan	Seroloji	%10,9	Gargılı ve ark. 2011
Güney Marmara	Hayvanlardan toplanan keneler	PCR	%12,3	Yesilbag ve ark. 2013
Orta Karadeniz	Hayvanlardan toplanan keneler	PCR	%11,76	Albayrak ve ark. 2012
Orta Anadolu	Hayvanlardan toplanan keneler	PCR	%6,88	Albayrak ve ark. 2010
	Hayvanlardan toplanan keneler	PCR	%0,91-3,11	Gunes ve ark. 2011
	Hayvanlardan toplanan keneler	PCR	%22,7	Hekimoglu ve ark. 2012
	Hayvanlardan toplanan keneler	PCR	%2	Tekin ve ark. 2012
	Hayvanlardan toplanan keneler	PCR	%3,22-9,09	Tonbak ve ark. 2006
	İnsan	Seroloji	%12,8	Güneş ve ark. 2009
	Hayvan	Seroloji	%79	Vatansever ve ark. 2007

Çizelge 5.1.'de de görüldüğü üzere, yapılan ilgili çalışmalarda birbirinden oldukça farklı sonuçlar ortaya konmuştur. Bu farklılığa sebep olarak, virüsün genetik materyalinin RNA olması ve RNA bazlı çalışmalarda sorunlarla sıklıkla karşılaşılabilmesi ve RNA eldesinde yanlış yöntem seçimi vb. durumların olma olasılığı göz önünde bulundurulmalıdır. Diğer taraftan, riskli bölgelerde yaşayan insanlar ile yapılan serolojik çalışmaların beklenmedik şekilde sonuçlanması dikkat çekmektedir. İnsan olgularının daha düşük olduğu Trakya'da yapılan insan bazlı serolojik çalışmalarda %10,9 pozitiflik belirlenmişken (Gargili ve ark. 2011), hastalığın merkezi olarak görülen Orta Anadolu'da yapılan insan bazlı serolojik çalışmalarda pozitiflik %12,8'dir (Gunes ve ark. 2009). İnsanlarda hastalık açısından çok farklı insidans gösteren iki bölge arasındaki düşük fark düzeyini açıklamak ilk aşamada oldukça zor görünmektedir. Şimdiye kadar hastalığın Türkiye'deki doğal rezervuarı olan *H. marginatum* (Hoogstraal 1979, Elaldi 2014) aç erginleri ile yapılmış ayrıntılı bir çalışma olmasa da, bu tez çalışmasında saptanan yüksek pozitiflik beklenmedik bir durumdur.

Kırım-Kongo kanamalı ateşine, tez çalışmasının yapıldığı bölgeye komşu olan Bulgaristan'da ilk kez 1952'de rastlanmış olup günümüze kadar 1600'ün üzerinde olgu gerçekleşmiştir. Diğer bir komşu ülke olan Yunanistan'da ise şimdiye kadar sadece 2008'de tek olgu gerçekleşmiştir (Papa ve ark. 2010). Bununla birlikte, Batı Trakya'da yapılan insan bazlı serolojik çalışmalar sonucunda ilgili hastalık için geliştirilmiş antikorlar açısından %3,1 pozitif sonuç elde edilmiştir. İlginç olarak, ilgili virüsün farklı, büyük ihtimalle düşük patojeniteli ve yine büyük ihtimalle subklinik hastalık seyrinden sorumlu AP92 isimli bir suşu Yunanistan'dan bildirilmiştir (Papa ve ark. 2011, Uyar 2011).

Dizi analizinden elde ettiğimiz verilere göre bölgede hastalıktan sorumlu virüs suşları, genellikle Türkiye'de Orta Anadolu'da KKKA'dan sorumlu olan Kosovo-Hoti suşuna yakın izolatlardır (%99). Sadece Armağan köyünden toplanan *H. marginatum*'dan elde edilen izolat Rusya/Stavropol suşuna genetik olarak %98 oranında benzer çıkmıştır ve Türkiye'de ilk kez bu suşa bu denli yakın bir izolata rastlanmıştır. İlgili izolata bölgede rastlanması bazı göçmen kuşlar ile bölgeye gelebileceğini düşündürmektedir. Bu noktada, kuşlardan toplanan keneler ile ilgili yapılan bir çalışmada toplanan keneler KKKA açısından analiz edilmiştir. Büyük kamışçın (*Acrocephalus arundinaceus*) ve kızılgerdan (*Erithacus rubecula*) üzerinden toplanan kenelerden Türkiye'de sıkça rastlanan Kosovo-Hoti suşuna yakın izolatlarla rastlanmıştır. İlgili kuş türlerinin kışlama, dinlenme ve üreme bölgeleri incelendiğinde büyük kamışçın Orta ve Güney Afrika'da kışlarken, Kuzey Afrika'nın küçük bir kısmı, Avrupa, Rusya ve Türkiye'de

üreme alanlarına sahiptir. Kızılgerdan ise Kuzey Afrika, Orta Doğu ve Anadolu'nun Güney'inde kışlamakta, Türkiye'nin Kuzey'i, Trakya, Kafkasya, Balkanlar ve Avrupa'da yerli olarak bulunan ve özellikle Rusya, Ukrayna ve Doğu Avrupa'da üreme alanlarına sahip olan bir kuş türüdür. Bilindiği üzere *H. marginatum* larvaları yerden beslenen kuşları sıklıkla tercih etmektedir ve tez çalışmamızda karşılaştığımız Stavropol suşu Rusya'da üreyen kuşlar ile Trakya'ya gelmiş olma ihtimaline sahiptir. Yine bilindiği üzere Trakya'da önemli kuş göç yolları mevcuttur (Leblebicioğlu ve ark. 2014).

Yapılan literatür taramalarına göre daha önce Türkiye'de aç *H. marginatum*'larda KKKA virüs varlığı araştırılmamıştır ve tez çalışması bir ilk niteliğindedir. Şimdiye kadar yapılan çalışma verileri ve bu tez çalışması ile elde edilen sonuçlar ışığında, KKKA epidemiyolojisi ve doğal dinamiği ile ilgili cevaplanması beklenen bazı soruların gündeme geldiğini ve bu soruların açıklığa kavuşması için Trakya'nın önemli bir alan olabileceğini söylemek mümkündür. Çalışma sonunda elde edilen yüksek pozitifliğin nedenleri şöyle sıralanabilir:

- Önemli bir kuş göç rotasında bulunan Trakya'da, aralarında çapraz bağışlıklar olan patojenitesi birbirinden farklı virüs suş çeşitliliği olabilir.
- Çalışma sonucunda saptanan virüslerin farklı suşlardan oluşan bir çeşitliliğe sahip olabileceği ve dolayısıyla bu durumun bölgede farklı patojeniteler doğurabileceği düşünülebilir.
- Türkiye şartları göz önüne alındığında, Trakya daha modern bir tarım sistemine sahiptir. Bu nedenle insan aktiviteleri ve hastalığın büyük bir çoğunlukla görüldüğü kırsal alanda yaşayan insanların mera ve tarla ilişkisinin daha az olması vektör kenelerdeki yüksek pozitifliğe karşın insanlarda görülen düşük insidans tezatını açıklayabilir.

Söz konusu iddiaların açıklığa kavuşturulması adına saptanan tüm virüslerin S, M ve L segmentelerinin dizi analizleri yapılarak daha kapsamlı filogenetik ağaçlarının oluşturulması ve AP92 için olası vektör olduğu bildirilen *Rhipicephalus bursa* üzerinde taramaların yapılıp, en azından ilgili suşun yaygınlığının ortaya konması gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Aktas M, Altay K, Ozubek S ve Dumanli N (2012). A survey of ixodid ticks feeding on cattle and prevalence of tick-borne pathogens in the Black Sea region of Turkey. *Vet Parasitol*, 187: 567-571.
- Albayrak H, Ozan E ve Kurt M (2012). Serosurvey and molecular detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV) in northern Turkey. *Trop Anim Health Prod*, 44: 1667-1671.
- Altay K, Aydin MF, Dumanli N ve Aktas M (2008). Molecular detection of Theileria and Babesia infections in cattle. *Vet Parasitol*, 158: 295-301.
- Anderson JF ve Magnarelli LA (2008). Biology of ticks. *Infect Dis Clin North Am*, 22: 195-215, v.
- Anderson RM ve May RM (1982). Coevolution of hosts and parasites. *Parasitology*, 85 (Pt 2): 411-426.
- Anonim (2005). T.C. Sağlık Bakanlığı, Kırım Kongo Kanamalı Ateşi. Onur Matbaacılık Ltd. Şti, Ankara.
- Anonim (2018). KKKA İstatistik Verileri 2002-2017. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Zoonotik ve Vektörel Hastalıklar Dairesi Başkanlığı, <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/zoonotikvektorel-kkka/zoonotikvektorel-kkka-istatistik> https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoonotik-vektorel-hastaliklar-db/zoonotik-hastaliklar/1-KKKA/7-Sunumlar/KKKA_Sunum_Hekimler_Icin_02_02_2018.pdf (03.09.2018).
- Apanaskevich DA (2003). [Towards a diagnostic view of Hyalomma (Hyalomma) aegyptium (Acari, Ixodidae)]. *Parazitologiya*, 37: 47-59.
- Arthur DR (1960). Ticks. A Monograph of the Ixodoidea. Part V. On the Genera Dermacentor, Anocentor, Cosmiomma, Boophilus and Margaropus. London: The Syndics of the Cambridge University Press, Bentley House, 200, Euston Road, N.W.I., xviii + 251 pp.
- Arthur DR (1965). Ticks in Egypt in 1500 B.C.? *Nature*, 206: 1060.
- Assadian O ve Stanek G (2002). Theobald Smith--the discoverer of ticks as vectors of disease. *Wien Klin Wochenschr*, 114: 479-481.
- Atkinson B, Latham J, Chamberlain J, Logue C, O'Donoghue L, Osborne J, Carson G, Brooks T, Carroll M, Jacobs M, Hopkins S ve Hewson R (2012). Sequencing and phylogenetic characterisation of a fatal Crimean - Congo haemorrhagic fever case imported into the United Kingdom, October 2012. *Euro Surveill*, 17.
- Aydin L ve Bakirci S (2007). Geographical distribution of ticks in Turkey. *Parasitol Res*, 101 Suppl 2: S163-166.
- Baer JG (1951). *Ecology of Animal Parasites*. Urbana: Univ. Illinois Press, 224, Illinois, USA.
- Bakir M, Ugurlu M, Dokuzoguz B, Bodur H, Tasyaran MA ve Vahaboglu H (2005). Crimean-Congo haemorrhagic fever outbreak in Middle Anatolia: a multicentre study of clinical features and outcome measures. *J Med Microbiol*, 54: 385-389.
- Balashov YS (2005). Bloodsucking insects and ticks and mites, vectors of transmissible infections of humans and domestic animals. *Entomological Rev*, 58: 990-1007.

- Barker SC ve Murrell A (2004). Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology*, 129 Suppl: S15-36.
- Begum F, Wisseman CL, Jr. ve Casals J (1970). Tick-borne viruses of West Pakistan. IV. Viruses similar to or identical with, Crimean hemorrhagic fever (Congo-Semunya), Wad Medani and Pak Argas 461 isolated from ticks of the Changa Manga Forest, Lahore District, and of Hunza, Gilgit Agency, W. Pakistan. *Am J Epidemiol*, 92: 197-202.
- Bente DA, Forrester NL, Watts DM, McAuley AJ, Whitehouse CA ve Bray M (2013). Crimean-Congo hemorrhagic fever: history, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. *Antiviral Res*, 100: 159-189.
- Bursali A, Keskin A ve Tekin S (2012). A review of the ticks (Acari: Ixodida) of Turkey: species diversity, hosts and geographical distribution. *Exp Appl Acarol*, 57: 91-104.
- Bush SE, Kim D, Reed M ve Clayton DH (2010). Evolution of cryptic coloration in ectoparasites. *Am Nat*, 176: 529-535.
- Carr J, Williams DG ve Hayden RT (2010). Chapter 24 - Molecular Detection of Multiple Respiratory Viruses. *Molecular Diagnostics*, Grody WW ve ark. Academic Press, San Diego, 289-300.
- Casals J (1969). Antigenic similarity between the virus causing Crimean hemorrhagic fever and Congo virus. *Proc Soc Exp Biol Med*, 131: 233-236.
- Castella J, Estrada-Pena A, Almeria S, Ferrer D, Gutierrez J ve Ortuno A (2001). A survey of ticks (Acari : Ixodidae) on dairy cattle on the island of Menorca in Spain. *Experimental and Applied Acarology*, 25: 899-908.
- Causey OR, Kemp GE, Madbouly MH ve David-West TS (1970). Congo virus from domestic livestock, African hedgehog, and arthropods in Nigeria. *Am J Trop Med Hyg*, 19: 846-850.
- Dantas-Torres F (2010). Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasit Vectors*, 3: 26.
- Dantas-Torres F, Chomel BB ve Otranto D (2012). Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends Parasitol*, 28: 437-446.
- Dobson SJ ve Barker SC (1999). Phylogeny of the hard ticks (Ixodidae) inferred from 18S rRNA indicates that the genus *Aponomma* is paraphyletic. *Mol Phylogenet Evol*, 11: 288-295.
- Dohm DJ, Logan TM, Linthicum KJ, Rossi CA ve Turell MJ (1996). Transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by *Hyalomma impeltatum* (Acari:Ixodidae) after experimental infection. *J Med Entomol*, 33: 848-851.
- Ehrlich PR, Raven, P.H. (1964). Butterflies and Plants: A Study in Coevolution. *Evolution*, 18: 586-608.
- Eichler W (1948). Some rules in ectoparasitism. *Annals and Magazine of Natural History (Series 12)*, 1.
- Elaldi N (2004). Kırım-Kongo hemorajik ateşi epidemiyolojisi. *Klimik Derg*, 17: 151-156.
- Elaldi N, Kaya, S. (2014). Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, 1: 1-9.

- Emelianova IN (2006). *Hyalomma Koch, 1844 (ACARI: IXODIDAE) ticks of Central Precaucasia and surrounding territories. (Distribution, ecology, role in the natural foci of Crimean-Congo haemorrhagic fever).* . M.Sc., Biology.
- Ergonul O (2006). Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Lancet Infect Dis*, 6: 203-214.
- Ergonul O, Celikbas A, Baykam N, Eren S ve Dokuzoguz B (2006). Analysis of risk-factors among patients with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection: severity criteria revisited. *Clin Microbiol Infect*, 12: 551-554.
- Ergonul O, Celikbas A, Dokuzoguz B, Eren S, Baykam N ve Esener H (2004). Characteristics of patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever in a recent outbreak in Turkey and impact of oral ribavirin therapy. *Clin Infect Dis*, 39: 284-287.
- Ergonul O, Whitehouse, C.A. (2007). Introduction. Crimean-Congo hemorrhagic fever: A global perspective, Ergonul O, Whitehouse, C.A. Springer, Dordrecht, Netherlands, 3-11.
- Estrada-Pena A, Bouattour, A., Camicas, J-L, Walker, A.R. (2004). *Tick of Domestic Animals in the Mediterranean Region: A Guide to Identification of Species.* University of Zaragoza, Atalanta, Houten, The Netherlands.
- Estrada-Pena A ve de la Fuente J (2014). The ecology of ticks and epidemiology of tick-borne viral diseases. *Antiviral Res*, 108: 104-128.
- Estrada-Pena A, Jameson L, Medlock J, Vatansever Z ve Tishkova F (2012). Unraveling the ecological complexities of tick-associated Crimean-Congo hemorrhagic fever virus transmission: a gap analysis for the western Palearctic. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 12: 743-752.
- Estrada-Pena A ve Jongejan F (1999). Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. *Exp Appl Acarol*, 23: 685-715.
- Estrada-Pena A, Mangold, A.J., Nava, S., Vebzal, J.M., Labruna, M., Guglielmone, A.A. (2010). A review of the systematics of the tick family Argasidae (Ixodida). *Acarologia*, 50: 317-333.
- Estrada-Pena A, Vatansever Z, Gargili A ve Buzgan T (2007). An early warning system for Crimean-Congo haemorrhagic fever seasonality in Turkey based on remote sensing technology. *Geospat Health*, 2: 127-135.
- Farrell RE (2010a). RNA isolation strategies. *RNA Methodologies.* Elsevier, London, U.K., 45-79.
- Farrell RE (2010b). RT-PCR: A Science and an Art Form. *RNA Methodologies Elsevier*, London, U.K., 385-443.
- Faye O, Fontenille D, Thonnon J, Gonzalez JP, Cornet JP ve Camicas JL (1999). [Experimental transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by *Rhipicephalus evertsi evertsi* (Acarina: Ixodidae)]. *Bull Soc Pathol Exot*, 92: 143-147.
- Gargili A, Kar, S., Yilmazer, N., Cerit, C., Sonmez, G., Sahin, F., Alp, H.G., Vatansever, Z. (2010). Evaluation of Ticks Biting Humans in Thrace Province, Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 16: 141-146.

- Gargili A, Midilli K, Ergonul O, Ergin S, Alp HG, Vatansever Z, Iyisan S, Cerit C, Yilmaz G, Altas K ve Estrada-Pena A (2011). Crimean-Congo hemorrhagic fever in European part of Turkey: genetic analysis of the virus strains from ticks and a seroepidemiological study in humans. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 11: 747-752.
- Gargili A, Thangamani S ve Bente D (2013). Influence of laboratory animal hosts on the life cycle of *Hyalomma marginatum* and implications for an in vivo transmission model for Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Front Cell Infect Microbiol*, 3: 39.
- Gomes A ve Korf B (2018). Chapter 5 - Genetic Testing Techniques. *Pediatric Cancer Genetics*, Robin NH ve ark. Elsevier, 47-64.
- Gonzalez JP, Camicas JL, Cornet JP, Faye O ve Wilson ML (1992). Sexual and transovarian transmission of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in *Hyalomma truncatum* ticks. *Res Virol*, 143: 23-28.
- Gordon SW, Linthicum KJ ve Moulton JR (1993). Transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in two species of *Hyalomma* ticks from infected adults to cofeeding immature forms. *Am J Trop Med Hyg*, 48: 576-580.
- Göksu K, Tüzer, E. (1981). Kenelerin ve neden oldukları hastalıkların önemi. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 7: 69-113.
- Granström M (1997). Tick-borne zoonoses in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, 3: 156-169.
- Gray J, Dantas-Torres F, Estrada-Pena A ve Levin M (2013). Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Ticks Tick Borne Dis*, 4: 171-180.
- Guglielmone AA, Robbins RG, Apanaskevich DA, Petney TN, Estrada-Pena A, Horak IG, Shao RF ve Barker SC (2010). The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. *Zootaxa*: 1-28.
- Guglielmone AA, Robbins, R.G., Apanaskevich, D.A., Petney, T.N., Estrada-Peña, A., Horak, I.G. (2014). *The Hard Ticks of the World*. Springer.
- Gunes T, Engin A, Poyraz O, Elaldi N, Kaya S, Dokmetas I, Bakir M ve Cinar Z (2009). Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in high-risk population, Turkey. *Emerg Infect Dis*, 15: 461-464.
- Gunes T, Poyraz O ve Vatansever Z (2011). Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in ticks collected from humans, livestock, and picnic sites in the hyperendemic region of Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 11: 1411-1416.
- Güralp N (1981). *Helmintoloji*. Ankara Üniv Basımevi, 368, Ankara, Türkiye.
- Haferkamp S, Fernando L, Schwarz TF, Feldmann H ve Flick R (2005). Intracellular localization of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) virus glycoproteins. *Virology*, 2: 42.
- Hafner MS ve Nadler SA (1988). Phylogenetic trees support the coevolution of parasites and their hosts. *Nature*, 332: 258-259.
- Hall TA (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.*, 41: 95-98.
- Hekimoglu O, Ozer N, Ergunay K ve Ozkul A (2012). Species distribution and detection of Crimean Congo Hemorrhagic Fever Virus (CCHFV) in field-collected ticks in Ankara Province, Central Anatolia, Turkey. *Exp Appl Acarol*, 56: 75-84.

- Hoogstraal H (1956). African Ixodoidea. Vol. I. Ticks of the Sudan (with special reference to Equatoria Province and with Preliminary Reviews of the Genera Boophilus, Margaropus, and Hyalomma). 1101 pp.
- Hoogstraal H (1979). The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *J Med Entomol*, 15: 307-417.
- Hoogstraal H (1985). Argasid and nuttalliellid ticks as parasites and vectors. *Adv Parasitol*, 24: 135-238.
- Hoogstraal H, Aeschlimann, A. (1982). Tick-host specificity. *Mitteilungen der schweizerischen entomologischen gesellschaft bulletin de la societe entomologique suisse*, 55: 5-32.
- Hopla CE, Durden LA ve Keirans JE (1994). Ectoparasites and classification. *Rev Sci Tech*, 13: 985-1017.
- Horak IG, Camicas JL ve Keirans JE (2002). The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names. *Exp Appl Acarol*, 28: 27-54.
- Hornok S (2017). *Ixodes vespertilionis* Koch, 1844 (Figs. 29–31). Ticks of Europe and North Africa, Estrada-Peña A, Mihalca, A., Petney, T. . Springer, Cham, Switzerland, 97-101.
- Hornok S ve Farkas R (2009). Influence of biotope on the distribution and peak activity of questing ixodid ticks in Hungary. *Medical and Veterinary Entomology*, 23: 41-46.
- J H Oliver J (1989). Biology and Systematics of Ticks (Acari:Ixodida). *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20: 397-430.
- Jameson LJ, Morgan PJ, Medlock JM, Watola G ve Vaux AG (2012). Importation of *Hyalomma marginatum*, vector of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus, into the United Kingdom by migratory birds. *Ticks Tick Borne Dis*, 3: 95-99.
- Jongejan F ve Uilenberg G (2004). The global importance of ticks. *Parasitology*, 129 Suppl: S3-14.
- Kahl O, Gern, L., Eisen, L., Lane, R.S. (2002). Ecological Research on *Borrelia burgdorferi* sensu lato: Terminology and Some Methodological Pitfalls. *Lyme Borreliosis: Biology, Epidemiology and Control*, Gray JS, Kahl, O., Lane, R.S., Stanek, G. CABI Publishing, 368.
- Kar S, Akyildiz G, Yilmazer N, Shaibi T, Gargili A ve Vatansever Z (2015). External morphological anomalies in ixodid ticks from Thrace, Turkey. *Exp Appl Acarol*, 67: 457-466.
- Kar S, Akyildiz, G. (2016). Kırklareli'nden Toplanan Vektör Kenelerde Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Virüsü Yaygınlığının Araştırılması. *Tekirdağ/Türkiye*.
- Kar S, Yilmazer N, Akyıldız G ve Gargılı A (2017). The human infesting ticks in the city of Istanbul and its vicinity with reference to a new species for Turkey. 2017: 11.
- Karaer Z, Guven E, Nalbantoglu S, Kar S, Orkun O, Ekdal K, Kocak A ve Akcay A (2011). Ticks on humans in Ankara, Turkey. *Exp Appl Acarol*, 54: 85-91.
- Karaer Z, Yukarı, B.A., Aydın, L. (1997). Türkiye Keneleri ve Vektörlükleri. *Artropod Hastalıkları ve Vektörler*, Özcel MA, Daldal, N. Türkiye Parazitoloji Derneği, İzmir, 363-434.
- Kimura M (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol*, 16: 111-120.

- Klompen H (2005). Ticks, the Ixodida. In: *Biology of Disease Vectors*. Elsevier Academic Press, London, UK.
- Klompen JS, Black WC, Keirans JE ve Oliver JH, Jr. (1996). Evolution of ticks. *Annu Rev Entomol*, 41: 141-161.
- Klompen JSH, Black WC, Keirans JE ve Norris DE (2000). Systematics and biogeography of hard ticks, a total evidence approach. *Cladistics-the International Journal of the Willi Hennig Society*, 16: 79-102.
- Kolonin GV (2007). Mammals as hosts of Ixodid ticks (Acarina, Ixodidae). *Entomological Review*, 87: 401-412.
- Korsunova OS, Petrova-Pointovskaya, S.P. (1949). A virus isolated from *Hyalomma marginatum* Koch, ticks. *Zool. Zh.*, 28: 186-187.
- Krauss H, Weber, A., Appel, M., Enders, B., v Graevenitz, A., Isenberg, H.D. (2004). *Zoonosen, von Tier zu Menschen übertragbare Infektionskrankheiten*. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag.
- Kuloglu F, Rolain JM, Akata F, Eroglu C, Celik AD ve Parola P (2012). Mediterranean spotted fever in the Trakya region of Turkey. *Ticks Tick Borne Dis*, 3: 298-304.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C ve Tamura K (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol Biol Evol*, 35: 1547-1549.
- Kurtpınar H (1960). Türkiye’de kene felci (Tick paralysis) üzerinde araştırmalar. *Türk Vet Hek Dern Derg*, 30: 737-745.
- Labuda M, Jones LD, Williams T ve Nuttall PA (1993). Enhancement of tick-borne encephalitis virus transmission by tick salivary gland extracts. *Medical and Veterinary Entomology*, 7: 193-196.
- Labuda M ve Nuttall PA (2004). Tick-borne viruses. *Parasitology*, 129 Suppl: S221-245.
- Lane RS (1994). Competence of Ticks as Vectors of Microbial Agents. *Ecological dynamics of tick-borne zoonoses*, Sonenshine DE, Mather, T.N. Oxford University Press, 45-67.
- Larson G ve Fuller DQ (2014). The Evolution of Animal Domestication. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 45: 115-136.
- Leblebicioglu H, Eroglu C, Erciyas-Yavuz K, Hokelek M, Acici M ve Yilmaz H (2014). Role of migratory birds in spreading Crimean-Congo hemorrhagic fever, Turkey. *Emerg Infect Dis*, 20: 1331-1334.
- Leblebicioglu H, Ozaras R, Irmak H ve Sencan I (2016). Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey: Current status and future challenges. *Antiviral Res*, 126: 21-34.
- Linné Cv ve Salvius L (1758). *Caroli Linnaei...Systema naturae per regna tria naturae :secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*. Impensis Direct. Laurentii Salvii, Holmiae : .
- Logan TM, Linthicum KJ, Bailey CL, Watts DM ve Moulton JR (1989). Experimental transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by *Hyalomma truncatum* Koch. *Am J Trop Med Hyg*, 40: 207-212.
- Mans BJ, de Klerk D, Pienaar R ve Latif AA (2011). *Nuttalliella namaqua*: a living fossil and closest relative to the ancestral tick lineage: implications for the evolution of blood-feeding in ticks. *PLoS One*, 6: e23675.

- Mans BJ, Gothe, R., Neitz, W.H. (2008). Tick toxins: perspectives on paralysis and other forms of toxicoses caused by ticks Ticks: biology, disease, and control, Bowman AS, Nuttall, P.A. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 108-126.
- Merdivenci A (1969). Türkiye Keneleri Üzerine Araştırmalar. Kurtulmuş Matbaahası, İstanbul.
- Meyer JM, Hill, C.A. (2013). Tick genetics, genomics, and transformation. Biology of Ticks, Sonenshine DE, Roe R.M. Oxford University Press, Oxford, U.K., 62-87.
- Midilli K, Gargili A, Ergonul O, Elevli M, Ergin S, Turan N, Sengoz G, Ozturk R ve Bakar M (2009). The first clinical case due to AP92 like strain of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever virus and a field survey. BMC Infect Dis, 9: 90.
- Midilli K, Gargili A, Ergonul O, Sengoz G, Ozturk R, Bakar M ve Jongejan F (2007). Imported Crimean-Congo hemorrhagic fever cases in Istanbul. BMC Infect Dis, 7: 54.
- Mimoglu M, Yazar, M.T. (1969). Türkiye'de ilk Amblyomma Koch, 1844 olayı. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 7: 55-57.
- Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G ve Erlich H (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 51 Pt 1: 263-273.
- Nader J, Krol N, Pfeffer M, Ohlendorf V, Marklewitz M, Drosten C, Junglen S ve Obiegala A (2018). The diversity of tick-borne bacteria and parasites in ticks collected from the Strandja Nature Park in south-eastern Bulgaria. Parasit Vectors, 11: 165.
- Neumann LG (1897). Révision de la famille des Ixodidés. Mémoires de la Société Zoologique de France, 10: 324-420.
- Neumann LG (1911). Ixodidae. R. Friedlander und sohn, Berlin : .
- Nicholson WL, Sonenshine, D.E., Lane, R.S., Uilenberg, G. (2009). Ticks (Ixodida). Medical and Veterinary Entomology, Mullen GR, Durden L.A. Academic Press, Elsevier, Amsterdam, Boston, Heiderlberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo, 493-542.
- Nuttall GHF, Cooper WF, Robinson LE ve Warburton C (1908). Ticks, a monograph of the Ixodoidea. University press, Cambridge.
- Nuttall GHF, Warburton, C. (1911). Ticks. A monograph of the Ixodoidea. Part 2. Clasification and the genus of Ixodes. Cambridge University Press, Edinburg, London, Berlin, Leipzig, New York.
- Nuttall PA (2013). Tick-borne viruses. Biology of Ticks, Sonenshine RM. Oxford University Press, Oxford, U.K., 180-210.
- Orkun O, Karaer Z, Cakmak A ve Nalbantoglu S (2014a). Identification of tick-borne pathogens in ticks feeding on humans in Turkey. PLoS Negl Trop Dis, 8: e3067.
- Orkun O, Karaer Z, Cakmak A ve Nalbantoglu S (2014b). Spotted fever group rickettsiae in ticks in Turkey. Ticks Tick Borne Dis, 5: 213-218.
- Ouhelli H (1994). Comparative development of Hyalomma marginatum (Koch, 1844), H. detritum (Schulze, 1919), H. anatolicum excavatum (Koch, 1844), H. lusitanicum (Koch, 1844) and H. dromedarii (Koch, 1844) under laboratory conditions. Acta Parasitol, 39: 153-157.

- Ozkurt Z, Kiki I, Erol S, Erdem F, Yilmaz N, Parlak M, Gundogdu M ve Tasyaran MA (2006). Crimean-Congo hemorrhagic fever in Eastern Turkey: clinical features, risk factors and efficacy of ribavirin therapy. *J Infect*, 52: 207-215.
- Özcel MA, Daldal, N. (1960). Parazitoloji'de artropod hastalıkları ve vektörler. Ege Üniv Basimevi, 527, İzmir, Türkiye.
- Paithankar KR ve Prasad KS (1991). Precipitation of DNA by polyethylene glycol and ethanol. *Nucleic Acids Res*, 19: 1346.
- Pak TP, Daniyarov, O.A., Kostyukov, M.A., Buluchev, V.P., Kuima, A.U. (1974). Biocenotic interrelationships between Crimean hemorrhagic fever, ixodid ticks, and their hosts. Report 1. Results from virological investigations of ixodid and argasid ticks in Tadzhik SSR. *Sborn Trud Ekol Virus*, 2: 135-139.
- Papa A, Dalla V, Papadimitriou E, Kartalis GN ve Antoniadis A (2010). Emergence of Crimean-Congo haemorrhagic fever in Greece. *Clin Microbiol Infect*, 16: 843-847.
- Papa A, Papadimitriou E, Bozovic B ve Antoniadis A (2005). Genetic characterization of the M RNA segment of a Balkan Crimean-Congo hemorrhagic fever virus strain. *J Med Virol*, 75: 466-469.
- Papa A, Tzala E ve Maltezou HC (2011). Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, northeastern Greece. *Emerg Infect Dis*, 17: 141-143.
- Pavlidou V, Gerou S, Kahrmanidou M ve Papa A (2008). Ticks infesting domestic animals in northern Greece. *Exp Appl Acarol*, 45: 195-198.
- Penalver E, Arillo A, Delclos X, Peris D, Grimaldi DA, Anderson SR, Nascimbene PC ve Perez-de la Fuente R (2017). parasitised feathered dinosaurs as revealed by Cretaceous amber assemblages. *Nat Commun*, 8: 1924.
- Petney TN, Robbins RG, Guglielmone AA, Apanaskevich DA, Estrada-Peña A, Horak IG ve Shao R (2011). A Look at the World of Ticks. *Progress in Parasitology*, Mehlhorn H. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 283-296.
- Pfaffle M, Littwin N, Muders SV ve Petney TN (2013). The ecology of tick-borne diseases. *Int J Parasitol*, 43: 1059-1077.
- Piesman J, Oliver JR ve Sinsky RJ (1990). Growth kinetics of the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*) in vector ticks (*Ixodes dammini*). *Am J Trop Med Hyg*, 42: 352-357.
- Poulin R (2007). *Evolutionary Ecology of Parasites* (Second Edition). Princeton University Press.
- Price PW (1977). General Concepts on the Evolutionary Biology of Parasites. *Evolution*, 31: 405-420.
- Randolph SE (2013). Ecology of non-nidicolous ticks. *Biology of Ticks*, Sonenshine DE, Roe, R.M. Oxford University Press, Oxford, U.K., 3-60.
- Rodriguez LL, Maupin GO, Ksiazek TG, Rollin PE, Khan AS, Schwarz TF, Lofts RS, Smith JF, Noor AM, Peters CJ ve Nichol ST (1997). Molecular investigation of a multisource outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever in the United Arab Emirates. *Am J Trop Med Hyg*, 57: 512-518.
- Sambrook J, Russell, D.W. (1989). *Molecular Cloning: a laboratory manual*. Cold spring harbor labrotory, 1546, New York, USA.

- Schochetman G, Ou C-Y ve Jones WK (1988). Polymerase Chain Reaction. *The Journal of Infectious Diseases*, 158: 1154-1157.
- Schumann H (1983). Hiepe, Th (Herausgeber): *Lehrbuch der Parasitologie. Band 4: Veterinärmedizinische Arachno-Entomologie* (von Hiepe, Th. & Ribbeck, R.). – 438 S., 190 z. T. mehrteilige Abb., 11 Tab., Leinen. Preis: DDR 60,00 M, Ausland 65,00 M, 1982. VEB Gustav Fischer Verlag Jena. *Deutsche Entomologische Zeitschrift*, 30: 244-244.
- Sen E, Uchishima Y, Okamoto Y, Fukui T, Kadosaka T, Ohashi N ve Masuzawa T (2011). Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* ticks from Istanbul metropolitan area and rural Trakya (Thrace) region of north-western Turkey. *Ticks Tick Borne Dis*, 2: 94-98.
- Simpson DI (1979). [Viral hemorrhagic fevers in man]. *Bull World Health Organ*, 57: 19-32.
- Simpson DI, Knight EM, Courtois G, Williams MC, Weinbren MP ve Kibukamusoke JW (1967). Congo virus: a hitherto undescribed virus occurring in Africa. I. Human isolations--clinical notes. *East Afr Med J*, 44: 86-92.
- Sonenshine DE (1991). *Biology of Ticks*. Oxford University Press.
- Sonenshine DE (1993). *Biology of Ticks*. Oxford University Press.
- Sonenshine DE, Lane, R.S., Nicholson, W.L. (2002). *Ticks (Ixodida). Medical and Veterinary Entomology*, Sonenshine DE, Nicholson, W.L., Lane, R.S., Gary, M., Lance, D. Academic Press, San Diego, 517-558.
- Sparagano OA, Allsopp MT, Mank RA, Rijpkema SG, Figueroa JV ve Jongejan F (1999). Molecular detection of pathogen DNA in ticks (Acari: Ixodidae): a review. *Exp Appl Acarol*, 23: 929-960.
- Spengler JR, Estrada-Pena A, Garrison AR, Schmaljohn C, Spiropoulou CF, Bergeron E ve Bente DA (2016). A chronological review of experimental infection studies of the role of wild animals and livestock in the maintenance and transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Antiviral Res*, 135: 31-47.
- Spielman A, Hodgson, J.C. (2000). *The Natural History of Ticks: A Human Health Perspective. Tickborne Infectious Diseases Diagnosis and Management*, Cunha BA. Marcel Dekker Inc., New York, USA, 281.
- Stafford KC (2007). *Tick management handbook*, The Connecticut Agricultural Experimentation Station Bulletin. The Connecticut Agricultural Experiment Station, 84, New Haven, USA.
- Taylor LH, Latham SM ve Woolhouse ME (2001). Risk factors for human disease emergence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 356: 983-989.
- Tekin S, Bursali A, Mutluay N, Keskin A ve Dundar E (2012). Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in various ixodid tick species from a highly endemic area. *Vet Parasitol*, 186: 546-552.
- Tijssen-Klasen E, Koopmans MP ve Sprong H (2014). Tick-borne pathogen - reversed and conventional discovery of disease. *Front Public Health*, 2: 73.

- Tonbak S, Aktas M, Altay K, Azkur AK, Kalkan A, Bolat Y, Dumanli N ve Ozdarendeli A (2006). Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: genetic analysis and tick survey in Turkey. *J Clin Microbiol*, 44: 4120-4124.
- Tu AT, Motoyashiki, T., Azimova, D.A. (2005). Bioactive compounds in tick and mite venoms (saliva). *Toxin Rev*, 24: 143-174.
- Turell M (2007). Role of Ticks in the Transmission of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus. *Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective*, Ergonul O, Whitehouse, C.A., 143-154.
- Uspensky I (2002). Preliminary observations on specific adaptations of exophilic ixodid ticks to forests or open country habitats. *Experimental and Applied Acarology*, 28: 147-154.
- Uyar Y, Christova, I., Papa, A. (2011). Current situation of Crimean Congo hemorrhagic fever (CCHF) in Anatolia and Balkan Peninsula. *Turk Hij Den Biyol Derg*, 68: 139-151.
- van Pelt-Verkuil E, van Belkum, A., Hays, J.P. (2008). *Principles and Technical Aspects of PCR Amplification*. Springer 330, Dordrecht, Netherlands.
- Vatansever Z (2007a). Keneler. <http://www.mig-b.org/images/keneler.pdf>, (25.06.2014).
- Vatansever Z (2008). Vektör kenelerin ekolojisi. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu, Kene Kaynaklı Enfeksiyonlar. TOBB Konferans Salonu, Ankara, 27-36.
- Vatansever Z, Uzun, R., Estrada-Pena, A., Ergönül, Ö. (2007c). Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in Turkey. *Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, A Global Perspective*, Ergönül Ö, Whitehouse, C.A. Published by Springer, Netherlands, 59-74.
- Waage JK (1979). The evolution of insect/vertebrate associations. *Biological Journal of the Linnean Society*, 12: 187-224.
- Walker AR, Bouattour, A., Camicas, J.L., Estrada-Pena, A., Horak, I.G., Latif, A.A. et al. (2003). *Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species*. Edinburgh.
- Wall R, Shearer, D. (2001). *Veterinary Ectoparasites: Biology, Pathology and Control*. Blackwell Science, 274.
- Watts DM, Ksiazek, T.G., Linthicum, K.J., Hoogstraal, H. (1988). Crimean-Congo hemorrhagic fever. *The arboviruses: epidemiology and ecology*, Monath TP. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 177-260.
- Webster JP (2002). *Parasitism: The Ecology and Evolution of Intimate Interactions*. By C. Combes, Translated by I. DeBuron & V. A. Connors pp. 522. The University of Chicago Press Ltd, Chicago, USA, 2001. ISBN 0 226 1145 7. \$US 55. (Originally published as *Interactions durables: Ecologie et evolution du parasitisme*. Masson, 1995.). *Parasitology*, 124: 475-476.
- White PS, Morran L ve de Roode J (2017). Phoresy. *Curr Biol*, 27: R578-R580.
- Whitehouse CA (2004). Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res*, 64: 145-160.
- Woodall JP, Williams MC ve Simpson DIH (1967). Congo virus: a hitherto undescribed virus occurring in Africa. Part 2. Identification studies. *East Afr Med J*, 44: 93-98.
- Yesilbag K, Aydin L, Dincer E, Alpay G, Girisgin AO, Tuncer P ve Ozkul A (2013). Tick survey and detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in tick species from a non-endemic area, South Marmara region, Turkey. *Exp Appl Acarol*, 60: 253-261.

- Yilmaz GR, Buzgan T, Irmak H, Safran A, Uzun R, Cevik MA ve Torunoglu MA (2009). The epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey, 2002-2007. *Int J Infect Dis*, 13: 380-386.
- Zeller HG, Cornet JP ve Camicas JL (1994). Experimental transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by west African wild ground-feeding birds to *Hyalomma marginatum rufipes* ticks. *Am J Trop Med Hyg*, 50: 676-681.

ÖZGEÇMİŞ

Gürkan AKYILDIZ 23.11.1986 tarihinde Çorlu/TEKİRDAĞ'da doğdu. İlköğrenimini Çakıllı İlköğretim Okulunda, lise eğitimini Vize Lisesinde tamamladı. Lisans eğitimini Dumlupınar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde 2009 yılında tamamladı. Yüksek lisans eğitimini 2012 yılında Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda tamamladı. 2014 yılından günümüze Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında doktora eğitimine devam etmektedir.