



**T.C.
ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA VE ÇEVRESİNDEKİ KENELERDE
THEİLERİA TÜRLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans

Ayşegül UĞUR ŞIK

Çankırı 2023

**ANKARA VE ÇEVRESİNDEKİ KENELERDE *THEILERIA*
TÜRLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ayşegül UĞUR ŞIK
208203008

Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans

TEZ DANIŞMAN
Dr. Öğretim Üyesi Banuçiçek YÜCESAN

Çankırı 2023

KABUL VE ONAY

ÇAKÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 208203008 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Ayşegül UĞUR ŞİK, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “Ankara ve Çevresindeki Kenelerde *Theileria* Türlerinin Araştırılması ” başlıklı tezini başarı ile sunmuştur.

Seminer Sunum Tarihi : 21.05.2021

Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Banuçiçek YÜCESAN

imza

Çankırı Karatekin Üniversitesi

ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans semineri olarak hazırlayıp sunduğum “Ankara ve Çevresindeki Kenelerde *Theileria* Türlerinin Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, tüm yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

21 Mayıs 2021

Ayşegül UĞUR ŞİK

ÖN SÖZ

Yüksek lisans eğitim sürecinde bana her türlü desteği sağlayan, bilimsel bilgi birikimi ile beni yönlendiren, yol gösteren danışman hocam sayın Dr. Banuçiçek YÜCESAN'a teşekkür ederim.

Bu süreçte beni cesaretlendiren, gayretlendiren ve her aşamada yardımlarını esirgemeyen dostluğu ile yanımda olan değerli meslektaşım uzman biyolog Sinem TUNÇER'e teşekkür ederim.

Son olarak aldığım kararlarda hep yanımda olan yüksek lisans eğitim sürecinde manevi desteğini ve sevgisini bir an olsun benden esirgemeyen sevgili eşim Orhan ŞIK ve oğlumuz herşeyimiz Uras'a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY	iii
ETİK BEYANNAMESİ.....	iv
ÖN SÖZ	v
KISALTMALAR VE SEMBOLLER	viii
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
ÖZET	xi
SUMMARY	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Çalışmanın Amacı.....	1
1.2. Problemler.....	2
1.3. Hipotezler.....	2
1.4. Sınırlılıklar.....	2
1.5. Sayıtlar.....	2
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Keneler.....	3
2.1.1. Kenelerin sistematigi.....	3
2.1.2. Kenelerin morfolojik ve biyolojik özellikleri.....	4
2.1.3. Epidemiyoloji.....	6
2.1.4. Kene vektörlüğü ile bulaşan hastalıklar.....	7
2.2. Kene Kaynaklı Theileriosis.....	8
2.2.1. Theileriosis'in tarihçesi.....	9
2.2.2. <i>Theileria</i> spp.'nin sınıflandırmadaki yeri.....	10
2.2.3. <i>Theileria</i> spp. türleri	10
2.2.4. Epidemiyoloji.....	14
2.2.5. <i>Theileria</i> spp. yaşam döngüsü.....	16
2.2.6. Klinik bulgular ve patogenezi.....	18
2.2.7. Tanı.....	19
2.2.8. Tedavi.....	21

2.2.9. Kontrol ve korunma.....	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	22
3.1. Kullanılan Biyolojik ve Kimyasal Maddeler.....	22
3.2. Kullanılan Cihazlar ve Gereçler.....	23
3.3. Kenelerin Toplanması.....	24
3.4. Kenelerin Tiplendirilmesi.....	24
3.5. Kenelerin Eksraksiyonu.....	24
3.6. PCR Karışımının Hazırlanması.....	26
3.7. DNA Amplifikasyonu.....	27
3.8. Agaroz Jel Elektroforezi.....	27
3.8.1. Agaroz jelin hazırlanması	27
3.8.2. Elektroforez işlemi.....	28
3.9. Görüntüleme İşlemi.....	28
3.10. Sekans analizi.....	28
3.11. Filogenetik Analiz.....	28
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇ VE ÖNERİ.....	38
KAYNAKLAR.....	39
ÖZGEÇMİŞ.....	42

KISALTMALAR VE SEMBOLLER

- DNA** : Deoksiribo N kleit Asit
ELISA : Enzim  şaretli  mmunosorbant Testi
IFAT :  ndirekt Floresan Antikor Testi
LAMP : Loop Aracılı  zotermal  oğaltma
MgCl₂ : Magnezyum klor r
NGS : Next Generation Sequencing
PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RLB : Reverse Line Blotting
rRNA : Ribozomal RNA

ÇİZELGELER LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1: Sığırlarda theileriosis'e neden olan <i>Theileria</i> spp.....	16
vektörleri ve coğrafik dağılımı	
Çizelge 4.2: Ankara merkez ve komşu illerden, tabiat ve konaklardan.....	30
toplanan erkek ve dişi kenelerin dağılımı	



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Ixodidea kene a) Erkek, dorsal b) Erkek, ventral5 c)Dişi, dorsal d)Dişi, ventral	
Şekil 2.2: Sığırlarda hastalık oluşturan <i>Theileria</i> spp. Dağılımı7	
Şekil 2.3: <i>Theileria parva</i> piroplasm safhası, lenfosit proliferasyonu12	
Şekil 2.4: <i>Theileria annulata</i> piroplasm safhası, lenfosit proliferasyonu13	
Şekil 2.5: <i>Theileria</i> spp. genel yaşam döngüsü.....17	
Şekil 3.1: ICTTD 2004 kene atlası programı kullanılarak kenelerin tür teşhisi.....24	
Şekil 4.1: Amplifikasyon sonrası bazı pozitif ve negatif numunelerin yer31 aldığı jel elektroforez görüntüsü	
Şekil 4.2: <i>Theileria</i> spp. maximum likelihood yöntemiyle moleküler32 filogenetik analizi	

Ankara ve Çevresindeki Kenelerde *Theileria* Türlerinin Araştırılması

ÖZET

UĞUR ŞIK, Ayşegül. Ankara ve Çevresindeki Kenelerde *Theileria* Türlerinin Araştırılması, Yüksek Lisans, Çankırı, 2023.

Dünyanın birçok yerinde kene kaynaklı hastalıklar önemli sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Tüm dünyada parazit kökenli patojenler insanları ve hayvanları enfekte etmekte olup, bu patojenler vektör keneler aracılığıyla taşınır.

Bu çalışmanın amacı, Ankara ve çevresinden toplanan kenelerde hastalıklara ve ciddi ekonomik kayıplara neden olan *Theileria* spp. moleküler düzeyde araştırılmasıdır.

Bu amaçla öncelikle Ankara ve çevresinden 191 kene örneği toplanmıştır. 18S RNA geni kullanılarak toplanan kene örneklerinden konvansiyonel PCR yöntemiyle *Theileria* spp. türleri incelenmiştir.

Bu çalışma sonucunda 4 örnek pozitif (4/191) (%2,1) bulunmuştur. Sekans analizi sonucunda 4 örnek *Theileria* spp. olarak tanımlanmıştır *Theileria* spp. Bartın ilinde köpekten toplanan erkek *Rhipicephalus sanguineus* kenesinde saptanmıştır.

Bu çalışma sonucunda *Theileria* spp. Ankara ve çevresindeki kenelerde yaygınlıkları ile ilgili güncel veriler elde edilmiştir. Ayrıca kene mücadelesi için gerekli önlemlerin alınması uygun görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Theileria* spp., Kene, Parazit.

Investigation of Theileria Species in Ticks in Ankara and Surroundings

SUMMARY

UĞUR ŞİK, Ayşegül. Investigation of *Theileria* spp. Species in Ticks in Ankara and Surroundings, Master Degree, Çankırı, 2023.

Tick-borne diseases cause significant health problems in many parts of the world. Parasitic pathogens infect humans and animals all over the world, and these pathogens are carried by vector ticks.

The aim of this study is to investigate at the molecular level the *Theileria* spp. species that cause diseases and serious economic losses in ticks collected from Ankara and its surroundings.

For this purpose, first of all, 191 tick samples were collected from Ankara and its surroundings. *Theileria* spp. species were examined using the conventional PCR method from the tick samples collected using the 18S RNA gene.

As a result of this study, 4 samples were found positive (4/191) (%2.1). As a result of sequence analysis, 4 samples were found to be *Theileria* spp. It is defined as. *Theileria* spp. was detected in male *R.sanguineus* sacs collected from dogs in Bartın province.

As a result of this study, up-to-date veri on the prevalence of *Theileria* spp. species in ticks in Ankara and its surroundings was obtained. It is also appropriate to take the necessary precautions for tick control.

Key Words: *Theileria* spp., Tick, Parasite.

1.GİRİŞ

Theileriosis, keneler aracılığıyla omurgalı bir konaktan diğerine transfer edilen parazitlerin neden olduğu hastalıktır. Türkiye'nin ve dünyanın hemen her bölgesinde görülen ve uzun zamandır mücadele edilen önemli protozoer bir hastalıktır. Ixodidae (sert) ve az olarak da Argasidae (yumuşak) ailelerinden bazı kenelerin vektör oldukları *Theileria* spp. zorunlu hücre içi protozoonlardır (Köse, 2017).

Türkiye 36-42 kuzey enlemleri ile 26-45 doğu boylamları ile, Avrupa, Asya ve Afrika kıtalarının arasında, 78.562 km²'lik yüzölçümüne sahiptir. Bu sebeple ılıman iklim kuşağında bulunduğundan dolayı parazitler etkenlerin yaşam ve üremeleri için uygun ortama sahiptir. *Theileria* spp. tanımlanması için enfekte olan hayvandan alınan kan yaymaları Giemsa ile boyanarak mikroskop altında incelenir. Mikroskopik yöntem geleneksel bir yöntem olup, hastalıklardan şüphelenildiğinde hızlı, ucuz, pratik olması nedeniyle ilk kullanılan yöntemdir. Mikroskopik yöntem enfekte hayvan için tek tek uygulanıp ve çoğunlukla akut enfeksiyonların tanısında yeterlidir. Taşıyıcı hayvanların tanısında veya parazitemi düşük olduğunda eksik kalmaktadır. Tanımlanan türlerin patojen ya da apatojen olup olmadığının tanısı kesin olarak konulamamaktadır. Teknolojinin de ilerlemesine birlikte güvenilir yöntemler geliştirilmekte olup, günümüzde hızlı bir ilerleme kaydeden moleküler testlerden, türlere spesifik polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve PCR'a dayalı reverse line blot hibridizasyon testi (RLB) *Theileria* spp. tanısında sıklıkla kullanılan testlerdendir (Köse, 2017; Pekel, 2014).

Bu çalışmada mikroskopik yöntem ve serolojinin dezavantajları göz önünde bulundurularak, daha güvenilir olan moleküler yöntemler tercih edilmiştir.

1.1 Çalışmanın Amacı

Ankara bölgesi ve komşu illerdeki kenelerde *Theileria* spp. varlığının belirlenmesi için, tabiat ve konaklardan toplanan kenelerde moleküler yöntemle *Theileria* spp. tespiti ve dağılımı amaçlanmıştır.

1.2 Problemler

Kene kaynaklı Theleriosis; dünya çapında dağılan vektör kaynaklı bir hastalıktır. *Theileria* spp. Dünya ve Türkiye’de geniş bir yayılıma sahiptir. Büyük ve küçükbaş hayvanlarda hastalığa neden olarak büyük ekonomik zararlara neden olmaktadır. Bu nedenle ülke çapında çözüme kavuşabilmesi için kene kontrol programlarına önem verilmelidir.

1.3 Hipotezler

H0: Çalışma sırasında Theleriosis vakasına rastlanmamaktadır.

H1: Bu çalışmada Theleriosis’e rastlanmıştır ve hayvan sahiplerine hastalık ile ilgili bilgi verilmiş ve yayılım için önlem alınmıştır.

1.4 Sınırlıklar

Bu çalışmada moleküler yöntem olarak konvansiyonel metot kullanılmıştır. Moleküler analiz maliyetli, tecrübe gerektiren, yapılması zor ve zaman alan bir yöntemdir. Bu nedenle analizlerin daha geniş çaplı yapılabilmesi zorlaşmıştır. Theleriosis bugün önlem alınması gereken bir durum olduğundan tespit edilmesi de oldukça önemli bir konudur.

1.5 Sayıtlar

Tüm testlerin doğru yapıldığı varsayılmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Keneler

Kutup bölgeleri dışında dünyanın her tarafında yayılım gerçekleştiren kenelerin beslenmeleri insan ve hayvanlardan kan emme şeklindedir. Ixodidae, Argasidae ve Nuttalliellidae olmak üzere üç farklı aile içerisindedirler (Çiçek, 2009). Dünya’da 896 kene türü tanımlanmış olup, Ixodidae ailesinde 702, Argasidae ailesinde 193 ve Nuttalliellidae ailesine ait bir tür mevcuttur. Türkiye’de; Ixodidae ailesinde altı soyda 39 ve Argasidae ailesinde üç soyda sekiz olmak üzere toplam 47 kene türü mevcuttur (Aydın ve Çoşkun, 2019; İnci ve diğ., 2016).

Hastalığa neden olan etkeni keneler konaklarından kan emme sırasında taşırlar. Transovarial, transstadial, venereal ve nonviremik transfer şekilleriyle de nesillerini, gelişim evrelerini, çiftleşme esnasında birbirlerini ve aynı konak üzerindeki beslenen (co-feeding) enfekte olmayan keneleri de enfekte etmektedirler. Sonucunda kene vektörlüğüyle aktarılan hastalık etkenleri, bir nesilden diğerine, bir canlı türünden diğer bir canlı türüne, hatta değişik coğrafi bölgelere taşınmaktadır (Aydın ve Çoşkun, 2019).

2.1.1 Kenelerin sistematigi (Taksonomi)

Keneler ökaryot hücre yapısındadır. Parazit olarak yaşayan kenelerin, sistematik olarak yerine bakıldığında; hayvanlar âleminin eklembacaklılar şubesinden olup, Arachnida sınıfının akarlar alt sınıfında yer alırlar (Över, 2009).

Üst Âlem: Eukaryota

Âlem: Animalia

Alt Âlem: Eumetazoa

Şube: Arthropoda

Alt şube: Chelicerata

Sınıf: Arachnida

Alt sınıf: Acarina

Üst Takım: Parasitiformes

Takım: Ixodida

Üst familya: Ixodoidea

Familya: Ixodidae (Sert keneler olup yaz keneleridir)

Argasidae (Yumuşak keneler olup kış keneleridir)

Nuttalliellidae (Nama keneleridir) (Över, 2009).

2.1.2. Kenelerin morfolojik ve biyolojik özellikleri

İxodoidea kenelerin morfolojileri, gelişim evrelerine, kan emmelerine cinsiyetlerine göre farklıdır. Tek parçadan oluşan vücutlarının ön kısmında ağız organelleri vardır. Larva formunda 6, nimf ve erişkin formlarında 8 bacakları bulunur. Vücut yüzeyleri, scutum adı verilen kitin tabakası ile kaplıdır. Kitin tabakası, erkek kenelerin vücudunu kaplamakta olup, larva, nimf ve dişilerde ise vücudun ön tarafında yaka şeklinde bir tabakadır. Erkek kenelerin çok miktarda kan emmesine bu tabaka engel olur. Kan emen dişi keneler erkek kenelere oranla daha büyüktürler. Ergin keneler birkaç mm uzunluğunda olup, kan emen dişilerin ise büyüklükleri 30 mm'ye kadar olabilir. Vücudun ön tarafında capitulum adı verilen ağız organelleri, bir çift palp, bir çift chelicer ve hipostomdan meydana gelmektedir. İxodoidea kenelerin her üç gelişim evresinde capitulum vücudun ön tarafında bulunmaktadır ve üstten görünmektedir. Kenenin konağa tutunması ve kan emmesinde capitulum etkilidir. Capitulumun arkasında ve scutumun lateral kenarlarında bir çift göz bulunmaktadır. Vücudun karın tarafında bacaklar ve ön tarafında genital delik, arka kısmında anüs mevcuttur (Aktaş ve diğ., 2016)



Şekil 2.1: Ixodidea kene a) Erkek, dorsal b) Erkek, ventral c) Dişi, dorsal d) Dişi, ventral (Aktaş ve diğ., 2016)

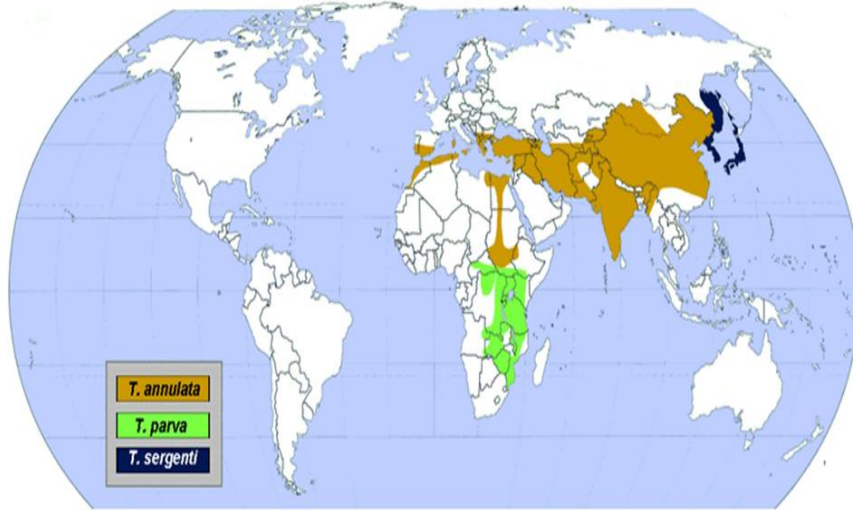
Argasidea keneler, kanatlı hayvanlardan kan emmekte olup, memelilerden kan emen türleri de bulunmaktadır. Kan emme çok defa tekrarlanmaktadır. Bundan dolayı Argasidea ailesindeki keneler çok konaklı kenelerdir. Konak üzerinde bulunan ve kan emmeye başlayan kene, belirli süre sonunda doymadan konaktan ayrılır ve aynı konak ya da farklı bir konaktan kan emmeye devam eder. Örneğin, yumurtadan çıkan larva bazı türlerde tek, bazı türlerde ise birden fazla konakta gelişmesini tamamlar. Doyan larvalar gömlek değiştirerek nimf evresine geçerler. Nimf evresinde türlere bağlı olarak 2-7 kez gömlek değiştirebilirler. Erişkin Argasidea keneler, ortalama 200-300 yumurta bırakırlar ve konak üzerine dönerek kan emme ve yumurtlamaya devam ederler (Aktaş ve diğ., 2016)

İxodidea keneler ilkbahar, yaz ve sonbahar dönemlerinde aktif olmaktadır. Kış mevsimini ise toprağın içinde, hayvan barınaklarındaki yarıklar gibi yerlerde

inaktif bir şekilde sürdürürler. Keneler 6 ay ile 3 yıl arasında yaşarlar. Yaşam süreleri konakta serbest, konak arayarak, gömlek değiştirerek, yumurtlayarak ve kışlayarak sürdürürler. Dört farklı yaşam süreleri olmakta olup bunlar; yumurta, larva, nimf ve erişkindir. Gelişme evrelerinin her birinde konaklarından doygunluğa ulaşınca kadar kan emmeye devam ederler. Larvadan nimfe, nimften erginliğe geçiş sürelerinde gömlek değiştirmektedirler. Çiftleşmeyle birlikte biyolojik döngü başlamaktadır. Çiftleşme genellikle kan emme sırasında konak üzerindeyken başlar. Fakat Ixodea ailesindeki bazı türlerin konak dışında da çiftleşebildikleri de bildirilmiştir. Çiftleşme zamanı, türlere göre değişiklik gösterir. Erkek keneler tarafından dişi kenenin yumurta kanalına bırakılan spermiler, dişi kenenin üreme kanalına gelerek olgunlaşır ve yumurtanın içine girer. Dişi keneler yumurtlamak için konağı terk ederler, erkek keneler ise çiftleşmeye devam etmek için konak üzerinde kalırlar. Dişi keneler genellikle bir erkekle çiftleşir. Ancak, birden fazla erkek keneye çiftleşen türlerde mevcuttur. Yumurtlama, dişi kenenin doyup, konaktan ayrılıp, yere düşmesiyle başlamaktadır. Yumurtlama sonrasında dişi keneler ölmektedir. Yumurta miktarı, 2 bin ile 20 bin arasında olmaktadır. Yumurtadan çıkan 3 çift bacaklı larvaların 2-3 hafta sonunda kitinizasyonu tamamlayarak, konak aramaya başlarlar. Sonraki gelişim evreleri ise türlere göre bir, iki veya üç konaktan kan emerek tamamlandıkları bilinmektedir. Buna göre ixodidea keneler bir, iki ve üç konaklı yaşamlarını sürdürürler (Altay ve diğ., 2016).

2.1.3. Epidemiyoloji

Keneler kutup bölgeleri hariç dünyanın her bölgesinde yayılış gösteren canlılardır. Aynı türlerin belirli zoocoğrafya bölgelerinde yayılış gösterdiği ve göçmen kuşlarla başka ülkelere taşınabildiği bildirilmiştir (Çiçek, 2009).



Şekil 2.2: Sığırlarda hastalık oluşturan *Theileria* spp. dağılımı
www.Theileria.org/ahdw/pictures/largemap.gif

Türkiye, Avrasya bölgesinde subtropikal bir bölgede bulunmaktadır. Yaklaşık olarak 84 milyon nüfusa ve 50 milyondan fazla besi hayvanına sahiptir. Türkiye'nin ekonomik olarak endüstriyel ve çiftçilikten yararlanan bir yapısı vardır. Türkiye coğrafi konumu ile kuş göçünün ana hatları üzerinde yer almaktadır. Bu değişkenlerin hepsi çeşitli kenelerin, farklı bölgelerde bulunması, aktif olması ve potansiyel olarak vektörlük yapmasını sağlamaktadır (İnci ve diğ., 2016).

2.1.4. Kene vektörlüğü ile bulaşan hastalıklar

Keneler aracılığıyla insanlara taşınan mikrobiyal hastalık etkenleri; sebep olduğu hastalık, vektör, epidemiyoloji, hastalığın ve tedaviler açısından viral, protozoal, bakteriyel, hastalıklar olarak incelenmiştir (Aydın ve Coşkun, 2019)

Viral Hastalıklar

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA)-Kene Kaynaklı Ensefalitis (TBE)

Powassan Ensefalitis

Kyasanur Orman Hastalığı

Colorado Kene Ateşi

Protozoal Hastalıklar

Babesiosis

Theileriosis

Hepatozoon canis

Bakteriyel Hastalıklar

Tularemia

Akdeniz lekeli ateşi (MSF)

Q ateşi

Kayalık Dağlar lekeli ateşi

Lyme borreliosis

İnsan granülositik anaplasmosis

İnsan monositik erlichiosis (Aydın ve Coşkun 2019).

2.2 Kene Kaynaklı Theileriosis

Theileriosis, *Theileria* spp. hemoprotozoan parazitlerin büyük ve küçükbaş hayvanlarda görüldüğü kene kökenli protozoal bir hastalıktır. Bu hastalıklar hayvancılıkla ilgili ciddi kayıplara sebep olarak dünya genelinde süt üretiminde önemli kısıtlamalara neden olurlar. Hayvanlarda theileriosis nedenli ölüm, azalmış süt verimi, ciddi kilo kayıplarıyla birlikte hastalığın kontrol ve önleme maliyetleri düşünüldüğünde theileriosisin küresel açıdan önemli ekonomik etkileri bulunmaktadır. (Abdela ve Bekele, 2016). *Theileria* spp. sporozoitler tarafından lökositlerin enfeksiyonu, şizontların merozoitlere dönüşmesi ve piroplazmaları meydana getiren eritrositlerin enfeksiyonu ile diğer parazitlerden ayrılır (Mans ve diğ., 2015; Yakarsönmez, 2017).

Theileria spp. yaşam döngüsü, besleme bölgesi içerisinde kenenin beslenmesi esnasında enfekte olan sporozoitlerin salgılanmasını içermektedir. Daha sonra sporozoitler lökositleri enfekte ederek ve merogoni geçirip çoğalırlar. Çoğalma sonucu salınan merozoitler eritrositlere giderek piroplazm basamağını oluştururlar. Beslenme döngüsünün sonraki basamağında vektör keneler piroplazmaları içlerine çekip ve salınan parazitler kene midesi içerisinde singami geçirerek zigotu meydana getirirler. Zigot hareketli kinetlere bölünüp, vücut sıvısında hareket ederek tükürük bezlerine gelir. Kene tarafından beslenme sonrasında tükürük bezlerinde sporogoni geçirerek

sporozoitleri oluştururlar. Döngü erişkin kenelerin beslenme bölgelerine sporozoitleri enjekte etmesiyle devam etmektedir (Mans ve diğ., 2015; Yakarsönmez, 2017). Ekonomik olarak sığır ve küçükbaş hayvanları enfekte eden önemli *Theileria* spp. *Rhipicephalus* spp., *Amblyomma* spp., *Hyalomma* spp. ve *Haemaphysalis* spp. kenelerle nakledilirler. Kene kaynaklı hastalıklar sonrasında tarım ve hayvancılıkta ciddi ekonomik sorunlar olmaktadır (Bishop ve diğ., 2004; Mans ve diğ., 2015).

Theileriosis, hayvancılığın önünde önemli bir etken olarak görölmektedir. Özellikle bu hastalık sığırlarda önemli ölçüde hastalığın bulaşmasına neden olmakta ve ölümlere yol açmaktadır. Bu sebeple gelişmiş sığırların, endemik bölgelere yayılımı daha az seviyelerde seyretmektedir. Bu bölgelerde kaliteli sığır sayısının az olması, sığırlara yönelik sanayinin gelişimini, bu sektörde faaliyet gösteren üreticilerin ve ailelerin ekonomisine katkısını azaltmaktadır. Bu sebeple theileriosis kontrol altına alınarak yayılımının önlenmesine yönelik çeşitli stratejilerin ortaya konulması önemli görölmektedir (Abdela ve Bekele, 2016).

2.2.1. Theileriosis'in tarihçesi

Koch 1897'de sığırlarda "Redwater" hastalığı üzerine çalışmalar yaparken sığır eritrositlerinde *Babesia bigemina*'dan daha küçük, oval yapılı organizmalar bulunduğunu gözlemlemiştir. Bunları 'Koch cisimcikleri' olarak bilinen plazma cisimcikleri adında tanımlamıştır. Theiler bu plazma cisimciklerini araştırmış ve bunlara *T. parva* demiştir. Gonder sonrasında bu cisimcikleri *T. parva*'nın şizogoni dönemine ait olduğunu bulmuştur (Pekel, 2014; Neitz, 1957). 1904 yılında Dschunkowsky ve Luhs adlı araştırmacılar ilk kez Kafkasya sığırlarında Doğu Sahil Hummasına neden olan *T. parva*'nın eritrositlerinde çubuk formuna benzeyen *T. annulata*'yı gözlemlemiştir. Fakat eritrosit içindeki halka formlarının daha fazla bulunması sebebiyle *Piroplasma annulatum* olarak isimlendirmişlerdir. Bettencourt, Franca ve Borges 1907 yılında *Theileria* spp. cins adını önererek *T. annulata* demiştir (Pekel, 2014; Neitz 1957). 1924 yılında Sergent ve arkadaşları Kuzey Afrika'da hastalığa neden olan organizmanın başka bir hastalığın etkeni olduğunu düşünerek *Theileria dispar* demiştir. Dschunkowsky ve Delpy'nin önerileriyle 1948-1949 yıllarında parazitlerin tek tek söylenmesi yerine *T. annulata* olarak ifade etmişlerdir (Pekel, 2014).

Türkiye’de *T. annulata*’nın Samuel ve Raif tarafından bulunması 1930 yılında olmuştur. Lestoquard ve Ekrem Erbin sonraki yıl ikinci kez *T. annulata* bildirmişlerdir. İlerleyen zamanlarda ülkenin çeşitli yerlerinde yürütülen çalışmalarla *T. annulata*’nın varlığının araştırılması farklı tanı yöntemleri kullanılarak ortaya çıkmıştır (Köse, 2017).

2.2.2. *Theileria* spp.’nin sınıflandırmadaki yeri

Theileria spp. sınıflandırmadaki yerinin belirlenmesinde; morfoloji, hayat döngüsü, vektörler, coğrafi dağılım, omurgalı konak gibi bazı biyolojik özellikler ve faktörlere göre yapılmaktadır (Köse, 2017).

Theileria spp. sınıflandırması aşağıdaki şekildedir (Kreier ve Baker, 1987; Levine, 1988; Uilenberg, 1981).

Alem: Protista

Alt alem: Protozoa

Şube: Apicomplexa

Sınıf: Sporozoea

Altsınıf: Piroplasmia

Takım: Piroplasmida

Aile: Theileriidae

Cins: *Theileria*

Theileria spp.’lerin genetik farklılıklara göre yapılan çalışmalarda sistematikteki yerinin tam olarak identifiye edilemediği görülmektedir. Apikompleksa kökündeki türlerin genom dizilimlerinin sonucunda ve bu konuda çeşitli genlerin (small subunit ribosomal RNA ve major piroplasm surface protein) filogenetik analizleri sonucunda kökteki türlerin sistematikteki yerleriyle yeni bilgiler vermektedir (Altay ve Aktaş, 2004).

2.2.3. *Theileria* spp. türleri

Theileriosis, *Theileria* spp.’li kenelerin sığır, koyun, keçi ve ruminantlara etkeni bulaştırmasıyla oluşan, yüksek hastalık ve ölüm hızına sahip, kan ve lenf

sistemini etkileyen bir hastalıktır. *Theileria* spp. sporozoitleri 0,75-1,5 µm çapında yuvarlağa benzeyen şekilleri vardır (Özkan ve diğ., 2019).

Hastalık, dünyada hastalık genellikle tropik ve subtropik iklime sahip bölgelerinde rastlanmakta olup, ciddi ekonomik kayıplara sebep olur (Özkan ve diğ., 2019).

Hastalığın bulaşmasında yumuşak Argasidae (*Ornithodoros* spp.) ve sert Ixodidae (*Amblyomma* spp., *Dermacentor* spp., *Hyalomma* spp., *Haemaphysalis* spp., *Ixodes* spp. ve *Rhipicephalus* spp.) kene türleri etkilidir (Özkan ve diğ., 2019).

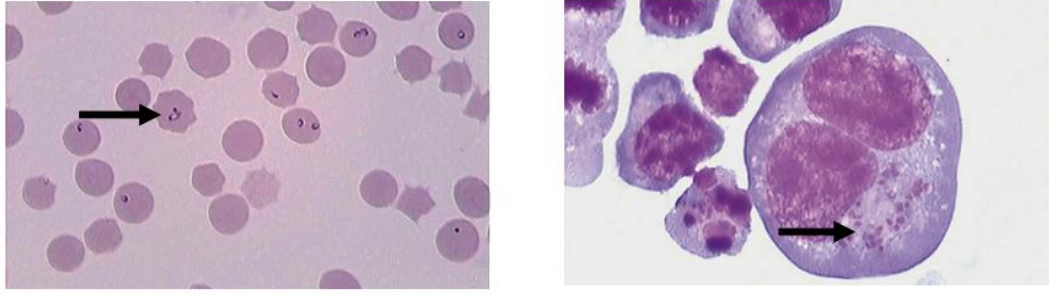
Theileria annulata, *T. parva*, *T. mutans*, *T. sergenti/buffeli/orientalis*, *T. taurotragi*, *T. velifera* ve *T. sinensis*, sığırlarda hastalığa neden olan türlerdir. En patojen olanları ise *T. annulata* ve *T. parva* türleridir (Özkan ve diğerleri, 2019). Yaşam döngüsü, boyutları, genetik yapı gibi çeşitli özellikler türler arasında farklılık gösterir. Morfolojilerinde farklı olsa da heterojen olmaları nedeniyle, Giemsa ile boyanan kan yaymalarında morfolojik olarak farklılıkları bulmak zordur. *T. parva* ve *T. annulata* patojenite açısından önemli iki türdür. İki türün sığırlarda bulaşma ve ölüm oranı yüksektir, diğer türler daha az patojeniteye sahiptirler ve oluşturdukları enfeksiyonlar hafif seyretmektedir (Köse, 2017).

Theileria mutans, *T. velifera* ve *T. taurotragi* iyi huylu theileriosis etkenleri olarak Afrika'da görülmektedir, *T. sergenti/buffeli/orientalis* ise dünyanın hemen hemen her yerinde bulunmaktadır. Çin'de ise *T. sinensis* mevcuttur (Köse, 2017).

Theileria parva; Orta, Doğu ve Güney Afrika'da (Sudan, Zaire, Kenya, Viktorya Gölü) sığır, manda ve antiloplarda görülür. Doğu Sahil Humması etkeni olarak kabul edilir. *R. appendiculatus*, *R. zambesiensis*, *R. duttoni*, *R. simus* ve *R. evertsi* vektörleridir. *T. parva*'nın son konaktaki çoğalma yeri lenfositlerdir (Altay ve Aktaş, 2004).

Morfolojilerine bakıldığında trofozoitler genellikle çomak, (1,5-2,0 × 0,1-1,0 µm) yuvarlak, oval veya virgül şeklindedir. Koch cisimcikleri dalakta lenfosit veya endotelial hücrelerde, lenf yumrularında oldukça fazla görülmektedir (Köse, 2017).

Theileria parva parva, *T. parva bovis* ve *T. parva lawrencei* *T. parva*'nın alt türleridir. Bunlar arasında morfolojik ve serolojik farklılıklar yoktur, fakat biyolojik ve epidemiyolojik farklılıklar vardır (Altay ve Aktaş, 2004).



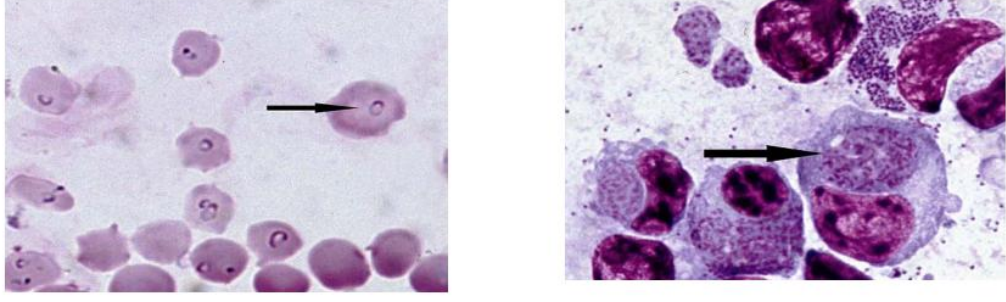
Şekil 2.3: *Theileria parva* piroplasm safhası, lenfosit proliferasyonu (Pekel, 2014).

Theileria annulata; tropikal theileriosis etkeni olarak kabul edilmektedir. Kuzey Afrika, Güney Avrupa, Orta Doğu, Hindistan, Çin, Asya'nın bir bölümü ile Nil Vadisi ve Sudan'da, manda ve zebularda görülür. *H. anaticum anaticum*, *H. excavatum*, *H. detritum* ve *H. marginatum* başta olmak üzere *Hyalomma* spp. keneler aracılığıyla bulaşır. Enfeksiyonlarında B-lenfositlerini ve monositleri etkilemektedir (Özkan ve diğ., 2019).

Eritrositer (piroplazmik) formlarını morfolojileri genellikle yuvarlak veya ovaldır. Boyutları yuvarlak formların 1-2 μm iken oval formların 1,5 $\times$ 0,6 μm 'dir (Köse, 2017)

Farklı formları olup bunlar; nokta (anaplasmoid-0, μm çapında), çubuk veya virgül (1,2 $\times$ 0,5 μm) formlarıdır. İkiye bölünme ile iki dişi veya dörtlü bölünme ile haç şeklinde dört dişi meydana geldiği bölünme şekilleri gözlenir. Virgül ve yuvarlak formlarında mikropor mevcut iken, hem virgül hem yuvarlak formlarında kutup halkası, konoid veya subpeliküler mikrotübül bulunmamaktadır (Köse, 2017).

Theileria. annulata'yı Türkiye'de ilk defa Samuel ve Raif (1930) ve sonraki yıl Lestoquard ve Erbin (1931) tespit etmişlerdir. Sonraki zamanda yapılan çalışmalarda ülkemizin birçok yerinde yaygın olarak bulunduğu görülmüştür (Köse, 2017).



Şekil 2.4: *Theileria annulata* piroplasm safhası, lenfosit proliferasyonu (Pekel, 2014)

Theileria mutans; Güney Afrika’da ilk kez sığırlarda görülmüştür. Sonrasında dünyanın çeşitli yerlerinde patojenitesi düşük türler *T. mutans* olarak ifade edilmiştir. Bunun sonucunda iyi huylu diğer *Theileria* spp.’ler ile karıştırılmasına sebep olmuştur. *T. orientalis* uzun zaman Avrupa, Amerika ve Akdeniz ülkelerinde *T. mutans* olarak düşünülmüştür (Altay ve Aktaş 2004).

Rhipicephalus spp., *Haemaphysalis* spp., *Boophilus* spp., *Dermacentor* spp. ve *Ixodes* spp. keneleri ile *T. mutans* taşınmakla birlikte, esas vektörü *Amblyomma* cinsi kenelerdir. Yalnızca Tropik Afrika (Doğu, Orta ve Güney Afrika ile Caribbean adaları) bulunduğu bildirilmiştir. *T. mutans* mandaların paraziti olarak kabul edilirken, sığırlarda iyi huylu theileriosis etkenidir. Doğu Afrika’da ölümlere sebep olduğunda görülmüştür (Altay ve Aktaş 2004).

Yuvarlak, oval, armut, virgül veya nokta (anaplasmoid) şeklinde trofozoit formları görülür. %55 oranında yuvarlak ya da oval şeklindedir. Yuvarlak formlarının çapı 1-2 µm iken ovalerin ise 1, x 0,6 µm uzunluğundadır. İkiye veya dörde bölünme eritrosit içinde olur (Köse, 2017).

Theileria taurotragi; Doğu ve Batı Afrika’da geyik ve antilopları enfekte ederken bir sığır, koyun ve keçileri de etkilemiştir. Sığırlarda apatojen özelliktedir koyunlarda iyi huylu, geyik ve antilopta bazı durumlarda ölümcül enfeksiyona neden olurlar (Köse, 2017). *R. appendiculatus*, *R. zambeziensis* ve *R. pulchellus* vektör keneleri tarafından nakledilir. *T. parva*’yla morfolojik olarak piroplazmik formları benzerlik gösterir. Yuvarlak ve oval formları fazla görülürken, çomak veya virgül (1 x 0,5 µm) formları da mevcuttur (Köse, 2017).

Theileria velifera; Afrika'da mandalar için patojen olup, sığırlar da nonpatojendir. *Amblyomma* spp. keneler tarafından taşınır (Altay ve Aktaş 2004).

Eritrosit içindeki trofozoit formları farklı şekillerdedir. Genellikle 1-2 µm büyüklüğünde çomak biçimindedir. Büyük bir kısmı 1 x 3,5 µm uzunluğundadır. (Köse, 2017).

Theileria orientalis; Uzak Doğu, Amerika, Avustralya, Avrupa ve Afrika'nın tamamında görülmektedir. Asya'da *Haemaphysalis* spp., keneleri ile nakledilirken, Teksas ve Çin'de *Dermacentor* spp. ve *Amblyomma* spp. kene türleri ile nakledilmektedir. İyi huylu *Theileria* spp. etkeni olan bu türlerin patojen türlerden farkı, şizontlarının lökosit transformasyonu ve öldürücü lenfoproliferasyon yapmamasıdır. Sonuç olarak hastalığın seyrinde şizontlar etkisizdir (Altay ve Aktaş 2004).

Theileria sinensis; Çin'e bağlı Gansu bölgesinde sığırdan elde edilen bir izolat, *Theileria* spp.'ye spesifik genomik DNA primer çifti kullanılıp çoğaltılmış ve *T. sinensis* bulunduğu gözlenmiştir. *Hae. qinghaiensis* vektörüdür ve iyi huylu olduğu düşünülen *T. sinensis* enfeksiyonlarında ilerleyen kronik anemi gözlenirken, enfeksiyon az da olsa ölümlere sebep olmaktadır (Köse, 2017).

Theileria lestoquardi, *T. ovis*, *T. mutans*, *T. separata*, *T. recondita* türleri ise koyun ve keçilerde bulunmuştur. Koyun ve keçilerde *T. lestoquardi*, *Hyalomma* spp. keneler vektörlük yapmaktadır. Afrika, Güney Avrupa, Asya ve Ortadoğu'da bulunmaktadır, patojenitesi yüksek olup, ciddi klinik bulgular gözlenmektedir. *T. ovis*, *Rhiphicephalus* spp. keneler ile nakledilmektedir. Avrupa, Afrika, Asya ve Türkiye'de bulunan nonpatojendir, koyun ve keçilerde iyi huylu Theileriosis etkenidir (Özkan ve diğ., 2019).

2.2.4. Epidemiyoloji

Theileriosisin epidemiyolojisinde; coğrafi konum, hastalığın şiddeti, vektörler ve iklim hareketleri, hastalık konakçı ilişkisi ile ve hastalığın yayılım şekillerinin etkilidir (Brown, 1990; Pekel, 2014). Theileriosis; Akdeniz bölgesi (Avrupanın güneyi, Kuzey Afrika, Anadolu), Ortadoğu, Asya'nın orta ve güney bölgesinde yaygın olup, yaklaşık 250 milyon sığırı etkilemektedir (Pekel, 2014).

Theileria annulata'nın hayat döngüsü vektör kene ve sığır arasında gerçekleşmektedir. Ayrıca mandalar da hastalıkta da rol almaktadır (Pekel,2014; Uilenberg 1981). Hastalık, kenelerin aktif olduğu mevsimde sık görülmekle birlikte farklı mevsimlerde desporadik vakalar görüldüğü tespit edilmektedir (Pekel, 2014). *Theileria* spp. sığırlar açısından patojen olup, aynı zamanda keneler için de patojendir. Bu nedenle kenelerin bu parazitlere karşı direnç geliştirdikleri bildirilmiştir. *T. annulata*'nın kenedeki gelişimini kenedeki fagositik hücrelerin yan etkileri, kenenin yaşadığı olumsuz çevre koşulları, kenenin tükürük bezleri engellemektedir (Pekel, 2014)

Kuzey Yarım Küre'de, 36°- 42° Kuzey enlemleri, 26-45° Doğu boylamları arasında kalan Türkiye Asya ve Avrupa kıtalarının birleşme noktasındadır. Türkiye coğrafik konumu itibariyle paraziter hastalıkların oluşması ve vektör kenelerin yaşaması için uygun bir ortama sahiptir. Türkiye'de sığırlarda özellikle *T. annulata*'nın neden olduğu tropikal theileriosis, sığır yetiştiriciliğinde büyük ekonomik zararlara neden olur. Türkiye'nin her bölgesinde tropikal theileriosise rastlanmaktadır. Hastalık kenelerin yoğun olduğu zaman dilimi olan Mayıs ve Eylül aylarında daha fazla görülmekte olup, enfekte erişkin kene sayısının fazla olduğu yaz ortasında oldukça fazla görülmektedir (Sayın ve diğ., 2003). Türkiye'de görülen diğer bir *Theileria* spp. türü *T. buffeli/orientalis*'dir. Türkiye'de en fazla çalışma *T. annulata* üzerine yapılmıştır. *T. buffeli/orientalis* türleriyle ilgili çalışmalar daha az sayıdadır (Pekel, 2014).

Türkiye'deki epidemiyolojik çalışmalarda theileriosisin görülmesi ve yaygınlığının araştırılması, enfekte olan kene türlerinin seçilerek türlerin mevsimsel hareketliliğine göre hastalığın meydana geldiği aylarının belirlenmesi ve bölgelerin endemik stabilite ve instabilitelerinin ortaya çıkması hastalıkla mücadele programlarının iyileştirilmesi ve uygulanması için önemlidir. Hastalığın farklı izolatlarıyla yapılan çalışmalarda farklı izolatların sebep olduğu ortaya çıkan yeni hastalıkların önlenmesi açısından önemlidir (Pekel, 2014).

Türkiye'nin en önemli sığır hastalıklarından biri olan tropikal theileriosise neden olan *T. annulata*'nın yedi coğrafik bölgede görüldüğü mikroskopik, serolojik, moleküler tanı yöntemleri sayesinde ortaya konmuştur. (Aysul ve diğ., 2008). Tropikal theileriosis'e maruz kalan bağışıklığı olmayan sığırlar için, saf ırklarda %70 ölüm

oranı ve melez ırklarda %45'ten daha az bir ölüm oranı rapor edilmiştir. Fakat, iyileşme sonrasında, ön bağışıklığın olduğu durumlarda erken dönemde parazitin olduğu sığırlarda, yaklaşık ölüm oranları %15-20 arasındadır (İnci ve diğ., 2008).

Çizelge 2.1: Sığırlarda theileriosis'e neden olan *Theileria* spp. vektörleri ve coğrafi dağılımı (Bilgiç, 2010).

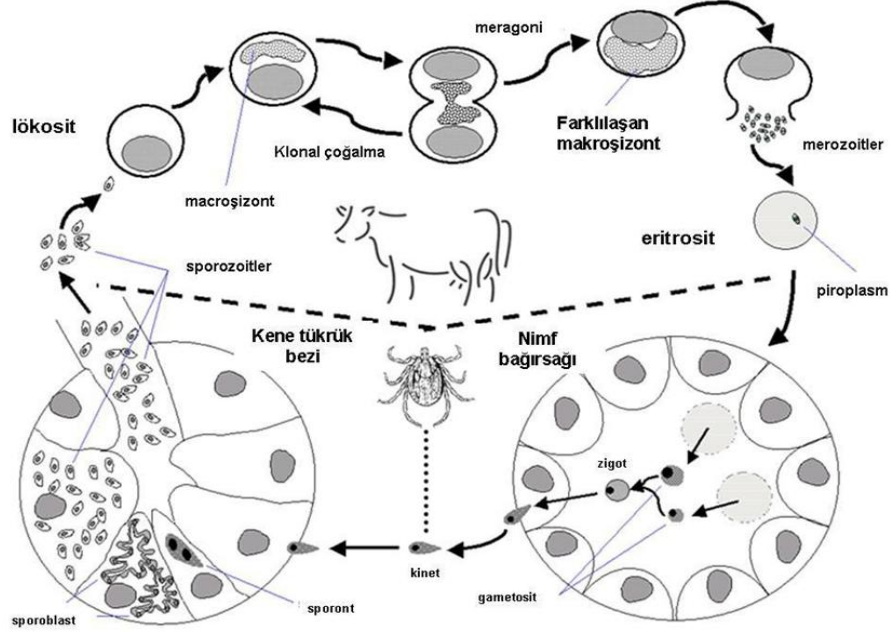
Türler	Esas Vektörleri	Coğrafi Dağılım
<i>T. parva</i>	<i>Rhipicephalus appendiculatus</i> , <i>R. zambesiensis</i> , <i>R. duttoni</i>	Doğu, Orta ve Güney Afrika
<i>T. annulata</i>	<i>Hyalomma anatolicum</i> ve diğer <i>Hyalomma</i> türleri	Avrupa'nın Güneyi, Asya'nın Güney, Doğu ve Batı bölgeleri
<i>T. mutans</i>	<i>Amblyomma variegatum</i> ve dört <i>Amblyomma</i> türü daha	Afrika'nın Orta Doğusu, Batısı ve Güneyi
<i>T. velifera</i>	<i>Amblyomma variegatum</i> ve diğer <i>Amblyomma</i> türleri	Afrika'nın Orta Doğusu, Batısı ve Güneyi
<i>T. taurotragi</i>	<i>R. appendiculatus</i> , <i>R. zambesiensis</i> , <i>R. pulchellus</i>	Doğu, Orta ve Güney Afrika
<i>T. sergenti</i>	<i>Haemaphysalis</i> türleri	Japonya ve Kore
<i>T. buffeli/orientalis</i>	<i>Haemaphysalis</i> türleri	Avrupa, Asya, Avustralya, Afrika'nın Doğusu

2.2.5. *Theileria* spp. yaşam döngüsü

Ixodidae keneler (*Hyalomma* spp., *Rhipicephalus* spp., *Dermacentor* spp., *Haemaphysalis* spp. ve *Amblyomma* spp.) tarafından nakledilen ve zorunlu hücre içi parazit olarak bilinen *Theileria* spp., yaşam döngülerinde birden çok konağın içinde yaşarlar yani heterokseksüeldir. *Theileria* spp. hayat döngüsünde iki veya üç konaklı kene türleri rol almaktadır. Yaşam döngülerini tamamlamak için şizogoni safhası memeli konakta, gametogoni ve sporogoni safhası ise vektör kenede gerçekleşmektedir. (Levine, 1985; Soulsby, 1986; Norval ve diğ., 1992).

Theileria spp. yaşam döngüleri devam ettirmek ve yeni nesiller oluşturmak için omurgalı ve omurgasız konağa ihtiyaç duyarlar. Omurgalı konakları son konak olarak adlandırılırken bunlar; sığır, koyun, keçi ve diğer geviş getiren hayvanlardır. *Theileria* spp. kenelerin vektörlüğünde transstadial olarak omurgalı konaklar arasında taşınır. Hayat döngüleri lenfosit veya makrofajlarda eşeysiz bir çoğalma olan şizogoni ile omurgalı konaklarda, sonrasında kenenin bağırsaklarında eritrositlerde piroplazmik formların şekillenmesi ile eşeyli bir çoğalma yani gametogoni ile omurgasız konakta ve kenenin tükürük bezlerinde tamamlanan sporogoni ile eşeysiz çoğalma basamakları görülmektedir (Köse, 2017).

T.annulata'nın Yaşam Döngüsü



Şekil 2.5: *Theileria* spp. genel yaşam döngüsü (Köse, 2017)

Yaşam döngüsü, enfekte kenenin konakda kan emmeye başlamasından 1-2 saat içerisinde, kenenin tükürük bezlerinde sporozoitler oluşmaya başlar. Sporozoitler kenenin konağa tutunduğu yerdeki lenf yumrusu içine girerler. Sporozoitin dışında bulunan bağlar lenfosit yüzeyindeki reseptörlere bağlanarak pasif endositosis yoluyla lenfositlere girerek trofozoit formuna dönüşürler. Bölünme sonucunda 10-15 µm çaplarında çok çekirdekli makroşizontları oluştururlar. Merozoitlerin serbest kalanları ise eritrositlerin içine girerek şizogoni yoluyla çoğalıp, eritrositlerin büyük bir kısmını enfekte ederler (Tazegül, 2023).

Enfekte hayvandan kan emen vektör kene piroplazmlı eritrositleri içine alır. Eritrositlerin kenenin bağırsağında eriyip parçalanması sonucunda merozoitler serbest kalır. İlk önce virgül formunda görülen merozoitler sonrasında yuvarlak ve oval merozoit formlarına dönüşürler. Merozoitlerin farklılaşmasıyla mikro ve makro gametler oluşur. Sonrasında mikrogametlerin makrogametleri döllemesiyle zigotlar

meydana gelir. Bağırsak epitelyum hücreleri içerisindeki zigotların farklılaşmasıyla tek çekirdekli, hareketli, çomak şekilli ve diploid kromozomlu kinetler oluşur ve bu kinetler kenenin bağırsak duvarından dolaşım sistemine geçer, bu şekilde tükürük bezlerinin asini hücrelerinin içlerine girerler. Yuvarlaklaşan kinetler çekirdeğin bölünmesi sonucu sporontları oluştururlar. Gömlek değiştirmesi tamamlanan kenenin daha sonra çekirdek bölünmesi sonucunda primer sporoblast formu, sitoplazma bölünmesi sonucunda sekonder sporoblast formu ve son olarak çok çekirdekli tersiyer sporoblastlar oluşarak sporogoni safhası tamamlanmış olmaktadır. Sporogoni sonucunda, çoğunlukla yuvarlak, içlerinde kromatin maddeleri bulunan ve enfektif özellikte sporozoitler oluşmaktadır (Tazegül, 2023)

2.2.6. Klinik bulgular ve patogenezi

Theileria spp.'nin patojen olup olmaması, virulensin derecesi, kenenin konağa verdiği sporozoit sayısı, vektör kene enfestasyonunun şiddeti, konağın bağışıklık sistemi, hayvanın ırkı ve yaşı, aşılama sonrası duyarlılık ya da dirençlilik gelişmesi gibi faktörler hastalığın seyrini değiştirmektedir. Theileriosisin patogenezi, *Theileria* spp.'ler farklılıklar göstermekle birlikte lenfositlerdeki proliferasyon, sitokin üretimi, eritrosit ile lenfositlerde oluşturduğu tahribat sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu tahribatın meydana gelmesinde türlere göre değişkenlik görülmektedir (Köse, 2017).

Sığırlarda *T. annulata* ve *T. parva* sığırlarda tropikal theileriosis ve doğu sahili humması hastalıklarının etkeni olup, patojen seyreden türlerdir. *T. taurotragi*, *T. velifera* ve *T. sinensis* ise patojen olmayan ya da patojenitesi oldukça düşük türlerdir. *T. lestoquardi*, *T. luwenshuni* ve *T. uilenbergi* patojen seyredeken, *T. ovis* ve *T. separata* ise patojen olmayan ya da düşük parazitemidedir (Levine, 1985).

Theileriosisde patogenezi, klinik bulgular parazitin lenfositlerde transformasyon etkisi ile lenfositler, eritrositler üzerinde bıraktığı yıkıcı etkilerine bağlıdır. *T. annulata* 'da lenfosit proliferasyonu ve sitokin üretimi, lenfosit ve eritrosit tahribatı meydana gelirken, *T. Parva* 'da ise piroplazmik formlarının yokluğundan ya da az miktarda olup eritrositlerde çoğalma gerçekleştirmediği söylenebilir. Bu nedenle patojen etki lenfositler üzerindeki tahribatına göre değişmektedir (Köse, 2017).

Theileria mutans veya *T. sergenti/buffeli/orientalis* ise lenfositler üzerinde transformasyon etkisi olmadığı için patojenite piroplazmik formların neden olduğu eritrositlerde verdiği zarara göre değişir. (Köse, 2017).

Perakut, akut, subakut, hafif ve kronik şeklinde görülen tropikal theileriosis, farklı ve klinik bulgular göstermektedir. Perakut enfeksiyonlarda, hayvanlar etkenleri aldıktan 3-5 gün içinde ölüm görülebilir. (Pekel, 2014). Endemik yerlerde *T. annulata* ile enfekte olan kültür ırkı sığırlarında %90 ölüm gözlenirken, yerli ırk sığırlarda %5 oranları ölüm görülmektedir. Sığırlarda enfekte olan kenenin kan emmesinden itibaren 8-25 gün arasında theileriosisin belirtileri gözlenmektedir. Hastalığın başladığı zamanda sığırdaki iştahsızlık, mukoza ve konjunktivalarda kanama, solgunluk ve peteşiyel kanamalar olmaktadır. Merozoitlerin eritrositleri enfekte etmesinden sonra 1-2 gün içinde 42 °C'lere yükselen ateş gözlenir. Ateşin yükselmesinden 1-2 gün öncesinde kenenin kan emdiği bölgede lenf yumrusunda büyüme olmaktadır. Şiddetli lökopeni ve belirgin anemi gözlenir. Göz kapaklarında şişkinlik, göz, salya ve burun akıntısı, hareketsizlik, nabızın artması, geviş getirmenin durması, süt veriminin azalması gözlenen klinik bulgulardır (Pekel, 2014). İlerleyen zamanda ise şiddetli zayıflama ve klinik bulguların ortaya çıkmasından 1-2 hafta kadar sonrasında ölüm görülebilmektedir. Enfeksiyonu atlatan sığırlar uzun zaman etkenleri taşımaktadır (Köse, 2014).

Theileria mutans enfeksiyonlarında patogeneze eritrositlerdeki piroplazm proliferasyonuna göre seyretmektedir. Genellikle hastalık hafif görülmekle beraber bazı hayvanlarda anemi, ikterus ve hemoglobinuri görülmektedir (Mehlhorn, 2008a).

Theileria lestoquardi enfeksiyonlarında hastalık akut ve şiddetli gözlenirken, ölümlere neden olur. Ölüm oranı koyun ve keçilerde %46-100 arasındadır. Kuzu ve oğlakların anneden gelen antikorlar sebebiyle kuzu ve oğlaklarda enfeksiyonun çok hafif gözlenmektedir (Köse, 2017).

2.2.7. Tanı

Tropikal theileriosisin tanısı, hastalığın epidemiyolojisi, bölgenin sahip olduğu iklim, mevsim ve bölgedeki kene yoğunluğunun bilinmesi destekleyicidir. Sığırlarda yaz aylarında kene enfestasyonları sonucunda 42 °C'ye çıkan ateş, lenf yumrularının

şişmesi, mukozalarda solgunluk, ikterus, göz ve burun akıntısı, göz kapaklarında şişkinlik, ağızda salya akıntısı, hareketsizlik, iştahsızlık, hafif öksürük, nabız artışı, geniş getirmenin durması, süt veriminin düşmesi gibi bulguların olması theileriosisi düşündürmektedir. Kesin tanı ise mikroskopta, Giemsa ile boyanan kan preparatlarında, lenf ya da karaciğer biyopsilerinde piroplasm ya da şizont formlarının bulunması ile konmaktadır (Pekel, 2014).

Kan yaymalarında eritrositlerdeki etkenin piroplazmik formları görülmektedir. Türler göre yüzdeleri farklılıklar gösterirken, *Theileria* spp.'lerin piroplazmik formları çomak, oval, haç ve virgül formlarında olmaktadır (Köse, 2017).

Mikroskopik metodunun avantajları kolay, ucuz ve pratik olması iken dezavantajı ise, akut ve kronik vakalar için doğru sonuçlar verememesidir. Kesin tanı için farklı tanı metodlarına ihtiyaç vardır. Bu nedenle serolojik ve moleküler tanı metodlar geliştirilmiştir (Köse, 2017).

Theileriosis'e neden olan etkenlerin omurgalı konaktaki gelişim aşamalarına ait antijenler veya bu antijenlere karşı organizmanın savunması için şekillendirdiği antikörlerin varlığını bulmaya yönelik çalışmalar da tanı amacıyla kullanılmaktadır. Bunlar içerisinde; İndirekt Floresan Antikör Testi (IFAT), Komplement Fiksasyon Testi (CFT), Enzim Bağımlı İmmunosorbent Testi (ELISA), Hemaglutinasyon İnhibisyon (HI), İndirekt Hemaglutinasyon (IHA), İmmunokromatografik Strip (ICS) gibi metodlar vardır (Bilgiç 2010; Köse, 2017).

İndirekt floresan antikör testi (IFAT), *Theileria* spp. antikörlerinin bulunması açısından oldukça fazla kullanılan serolojik testlerdendir. Serolojik testlerin mikroskopi yöntemine göre daha güvenli olduğu araştırmalar sonucunda ortaya çıkmıştır (Mans ve ark, 2015) IFAT, paraziter hastalıkların teşhisinde altın standart bir test kabul edilmesine karşı, bazı dezavantajlara da bulunmaktadır. En önemli dezavantajı türler arasında çapraz reaksiyonlar göstermesidir (Köse, 2017).

Son yıllarda, moleküler biyolojideki gelişmeler enfeksiyona neden olan etkenlerin moleküler düzeyde bulunmasını kolaylaştırmıştır. Rekombinant DNA teknolojisi sayesinde, parazite özgü DNA bölgeleri plazmid vektörlere klonlanarak enfekte hayvanlarda *Theileria* spp. DNA'sının varlığı duyarlı ve özgül olarak belirlenebilmektedir (Bilgiç 2010).

PCR yöntemi, *Theileria* spp. bulunması için oldukça fazla kullanılan bir yöntemlerdendir. PCR'ın etkinliğinin artırılması için farklı metotlar bulunmuştur. Parazitin ara konak ve son konaktaki varlığının bulunmasını kolaylaştırmaktadır (Köse, 2017).

Theileria spp. spesifi tanı metotları bulmak, geliştirebilmek için yapılan çalışmada ssurRNA geninin parazit türlerine spesifik bölgelerine ait spesifik oligonükleotid problemleri dizayn edilmiştir (Allsopp ve diğ., 1993). Bu problemler ile altı farklı *Theileria* spp. türünün tanısı, hem direkt olarak parazit ssurRNA gen bölgesinin tespiti ile hem de parazit ssurRNA gen bölgesinin çoğaltılarak (PCR) ortaya konmuştur (Allsopp ve diğ., 1993).

Theileria spp. moleküler düzeyde tanısında farklı PCR metotlarıyla çalışılmaktadır. *T.annulata*'nın moleküler teşhisinde genel olarak kullanılan yüzey proteini (Tams-1)'dir. *Theileria* spp. tanısında 18S ssurRNA geni, ısı şok proteini HSP70, beta tubulin geni ve sitokrom b genomik hedef olarak kullanılmıştır (Pekel, 2014; Koç, 2022).

Theileria spp. enfeksiyonlarını tanımlayan bir diğer moleküler yöntem reverse line blot hibridizasyon (RLB) yöntemidir. Bu yöntem ile türler içinde farklılık gösteren V4 değişken bölgesi PCR yöntemiyle amplifiye edilmesidir (Pekel, 2014).

Son yıllarda ortaya çıkan yeni bir teknik olan LAMP (Loop-mediated izotermal amplifikasyon) metodu da kullanılmaktadır. Diğer PCR metotlarına göre LAMP metodu 10 kat fazla duyarlılığa sahiptir. *Theileria* spp. enfeksiyonlarının bulunmasında alternatif metot olarak kullanılmaktadır (Pekel, 2014).

2.2.8. Tedavi

Hastalığın tedavisinde bugüne kadar etkili bir ilacın bulunamamış olması sonucu semptomatik tedavi uygulanmaktadır (Özkan ve diğ., 2019).

Theileriosis'in tedavisinde etkenler için Theileriasidal ilaçlar kullanılmaktadır. Bunun yanında destekleyici ve bulguların giderilmesine yönelik tedavilerin yapılmalıdır. Tedaviye ne kadar erken başlanırsa tedavi şansı o kadar yüksek olur. Buparvakuon etkenlere yönelik etkili en iyi ilaçtır (Özkan ve diğ., 2019).

Tedavi için aşağıdaki ilaçlar kullanılır:

Parvaquon: 10 mg/kg dozda kasın içine 2 uygulama şeklinde, 2 ya da 4 gün arayla yapılan bir ilaçtır.

Buparvoquon: 2,5 mg/kg dozda kasın içine 2 veya 3 uygulama şeklinde, 2 ya da 4 gün arayla yapılan bir ilaçtır.

Halofuginon: 1,2 mg/kg dozda 500 ml sıvı içerisinde ağız yoluyla uygulanan bir ilaç olup, fazla tavsiye edilmemektedir.

2.2.9. Kontrol ve korunma

Hastalığa bağlı mortalite ve ekonomik kayıpların fazla olması nedeniyle hastalıkla mücadele metotlarının geliştirilmesini oldukça önemlidir. Hastalığın kontrolü için kenelerle mücadele ve aşılama hastalığın kontrol altına alınması açısından gereklidir (Özkan ve diğ., 2019).

Keneye mücadele etmek için, akarısit ilaçlar kullanılmaktadır. İlaçlar banyo, sprey ve sırta dökme preparatlar şeklinde kullanılmaktadır. Sonraki yaz döneminde ortaya çıkan kene sayısının azaltılması için, akarısitlerin uygulanması sonbaharda gerçekleşmelidir. Yazın yapılan ilaçlamalar yalnızca erişkin keneleri etkilemektedir (Özkan ve diğ., 2019).

Theileriosis'te canlı aşılar da vardır. Hastalığın ortaya çıkmasından 2 ay önce bu aşılarda uygulanması gereklidir. Aşı preskapular bölge derisi içine 5 cc enjekte edilir ve 45 gün içerisinde bağışıklık meydana gelerek hayvanlar bir yıla yakın bağışıklık kalır (Özkan ve diğ., 2019).

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Biyolojik ve Kimyasal Maddeler

Magattract HMW DNA Kit – QIAGEN (Hilden/Germany)

BJ1 ve BN 2 Primerlerzazç (Sentabiolab-Ankara/Türkiye)

Taq DNA Polimeraz (Atlas Biotechnology Company Ankara/Türkiye)
10 x PCR Tamponu (Atlas Biotechnology Company Ankara/Türkiye)
Mg Cl₂ (25 m M) (Atlas Biotechnology Company Ankara/Türkiye)
d NTP mix (10 Mm) (Atlas Biotechnology Company Ankara/Türkiye)
Molecular Great Water (Sigma Aldrich Merck Darmstadt/Germany)
Agarose (Biomax-ECC European Economic Community)
TBE buffer 1x(Sigma Aldrich Merck Darmstadt/Germany)
Nükleik Asit Boyası (Gelred Nucleic acid Stain Biotium Fremont CA/USA)
Loading dye (Gel loading dye) (Sigma Aldrich Merck Darmstadt/Germany)
DNA ladder 100 bp (Biomatik Delaware/USA)

3.2 Kullanılan Cihazlar ve Gereçler

Esco class II BSC (Esco Micro Pte.Ltd.Singapore)
Velp Vorteks (Velp scienfitica Made in Europa)
Şenocak (-20) Derin Dondurucu (Yunusemre/Manisa)
Uğur (+4) Buzdolabı (Nazilli/Aydın)
Leica S6D Stereo Mikroskop (wetzlar/Germany)
HLC Biotech MHR13 Isı Bloğu (Brotech-Bovenden/Germany)
Life Techonologies Dynamag2 Manyetik Rack (Kaliforniya/USA)
Leica MZ16A Stereo Mikroskop (wetzlar/Germany)
Palm- Cycler Termal Cycler Cihazı (Genefix Brand -New Delhi/India)
Wealtec Elite 300 Plus Elektroforez (Wealtec Nevada/USA)
Miele M8201-1 Mikrodalga Fırın (Gütersloh/Germany)
Gibertini Europe 200 Hassas Terazı (Gibertini Elettronica-Neavate/Italy)
Biostep UST-20M-8x Transilluminator (Burkhardtsdorf/Germany)
Biosan UVT-S-AR PCR kabini (Temiz kabin)
Biosan UVT-S-AR PCR kabini (Kirli kabin)
Bioson FVL-2400N spin-vortex
Otoklav (Rodwell-Basildon/England)
Eppendorf tüpler (2 ml, 1, 5 ml, 0, 6 ml) (Eppendorf Reference,Hamburg/Germany)
Steril PCR tüpü (0, 2 ml) İnce Duvarlı, Rnase-Dnase Free (Biozym Hessisch Oldendorf/Germany)

3.3 Kenelerin Toplanması

Keneler mevsimsel aktiviteleri de göz önünde bulundurularak Ankara ve ilçeleri (Merkez, Bala, Beypazarı, Çubuk, Kahramankazan) ile Kastamonu, Tokat, Yozgat, Eskişehir, Bartın, Sakarya ve Çankırı'dan uygun habitatlardan, araziden ve çeşitli konak hayvanları (çiftlik hayvanları ve köpekler) üzerinden toplanmıştır.

3.4 Kenelerin Tiplendirilmesi

Stero-mikroskop altında ilgili kaynaklar (Estrada Pena ve diğ., 2017) dış morfolojik karakterlerine göre kenelerin tür teşhisleri yapılmıştır.



Şekil 3.1: Kene atlası programı kullanılarak kenelerin tür teşhisi

3.5 Kenelerin Ekstraksiyonu

1. Keneler, 1, 5 ml'lik ependorf tüpler içerisinde steril bistüri ile Class II biyogüvenlik kabininde parçalanır. Ependorf tüpe 500 µl pbs eklenir ve parçalanmış kene ezildikten sonra vortekslenerek homojenize hale getirilir.

2. Homojenize hale gelen kene dokusundan 100-150 µl alınıp 2 ml'lik ependorf tüplere konur. Üzerine 200 µl ATL veya CL buffer konularak doku lizisi sağlanır, sonra 20 µl proteinaz K eklenip vortekslenir. +56 °C de en az 1-3 saat veya 1 gece karıştırıcılı ısı bloğunda bekletilir.

3. Parçalanmış doku örneğinin üzerine, 200µl AL buffer eklenerek hücre lizisi sağlanır. Tüpler kapatılır ve vortekslenerek karıştırıcılı ısı bloğunda 56 °C de 10 dk bekletilir. Hücrelerin parçalanması amaçlanır.

4. 250 µl bağlama solusyonu, 50 µl manyetik boncuk tüplerin üzerine eklenerek karıştırıcılı ısı bloğunda oda ısısında 5 dk inkübe edilir.

5. Tüplerin kapaklarındaki kalıntıların dibe çöktürmek için, santrifüjde örnekler kısa bir süre spin attırılır. Manyetik rak üzerine yerleştirilen tüplerin içindeki sıvının tamamı, 900-1000 µl ye ayarlanan pipetle manyetik boncuklara dokunmadan atılır.

6. Yıkama amacıyla üzerine 600 µl AW1 buffer eklenir. Maksimum ayara (900 seviyesi gibi) ayarlanan karıştırıcıda 3 dk karıştırılarak, manyetik boncuğun ilk yıkaması yapılmış olur. Karıştırıcı üzerinde ki %100 short-mix tuşuna ara ara basılarak karışımın iyice karışması sağlanır.

7. Santrifüjde örnekler kısa bir spin attırılır. Manyetik rak üzerine tüpler yerleştirilir. Manyetik rak üzerine yerleştirilen tüplerin içindeki sıvının tamamı, 900-1000 µl'ye ayarlanan pipetle manyetik boncuklara dokunmadan atılır.

8. 700µl AW 2 buffer örnekler üzerine eklenir. Maksimum ayara (900 seviyesi gibi) ayarlanan karıştırıcıda 3 dk karıştırılarak, manyetik boncukların yıkaması gerçekleşir. Karıştırıcı üzerinde ki %100 short-mix tuşuna ara ara basılarak iyice karışması sağlanır.

9. Santrifüjde örnekler kısa bir spin attırılır. Manyetik rak üzerine tüpler yerleştirilir. Manyetik rak üzerine yerleştirilen tüplerin içindeki sıvının tamamı, 900-1000 µl'ye ayarlanan pipetle manyetik boncuklara dokunmadan atılır.

10. İkinci yıkama 500µl AW 2 buffer ile yapılır.

11. Santrifüjde örnekler kısa bir spin attırılır. Manyetik rak üzerine tüpler yerleştirilir. Manyetik rak üzerine yerleştirilen tüplerin içindeki sıvının tamamı, 900-1000 µl'ye ayarlanan pipetle manyetik boncuklara dokunmadan atılır.

12. Tüpün içerisindeki etanol kalıntısından kurtulmak için tüplerin kapağı açılarak uçması beklenir (1 saat) ya da 700 µl steril distile su, manyetik rak üzerinde bulunan örneklerin üzerine eklenir ve hemen çekilip atılır.

13. 200µl AE buffer tüplerin üzerine eklenir. 5 dakika oda ısısında karıştırıcıda inkübe edilir.

14. Santrifüjde örnekler kısa bir spin atılır. Manyetik raka tüpler yerleştirilir. Tüplerin kenarındaki sıvı temiz tüplere DNA ekstraktı olarak aktarılır.

15. -20 °C de DNA ekstraktları çalışılncaya kadar bekletilir.

3.6 PCR Karışımının Hazırlanması

Theileria spp.'lerin tanımlanmasında, DNA dizi analizi öncesi 18S rRNA protozoonlara spesifik gen bölgesinin taranması amacıyla PCR çalışıldı. 18S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu için Casati ve diğerlerinin (2006), önerdiği BJ1-GTCTTGTAATTGGAATGATGG ve BN2- TAGTTTATGGTTAGGACTACG primerleri ve protokolü uygulandı. %1,5' lik agaroz jelde yürütülen PCR ürünlerinin, şüpheli görünen bölgelerde ki bantlar pozitif kabul edildi. Pozitif örneklerle sonrasında DNA dizi analizi yapıldı.

PCR karışımı, her bir örnek için;

- | | | |
|-------------------------------|-----------|--------------------|
| • Distile su | 33, 75 µl | |
| • 10 x PCR tamponu | 5 µl | |
| • Mg Cl ₂ (25 m M) | 3 µl | |
| • dNTP mix (10 mM) | 1 µl | |
| • Primer I (10 p mol) | 1 µl | |
| • Primer II (10 p mol) | 1 µl | |
| • Taq DNA polimeraz (5 U/µl) | 0, 25 µl | olarak hesaplandı. |

Hazırlanan master-mixten tüplere 45 µl konuldu ve her birine 5 µl örnek DNA'sı ilave edilerek toplam hacmin 50 µl olması sağlandı. Hazırlanan örnekler amplifikasyon için uygun protokoldeki thermal cycler konuldu.

PCR çalışması sırasında kontaminasyon olmasını önlemek için eldiven takıldı. DNA kontaminasyonundan tepkime tüplerini korumak içinde; master-mix hazırlığı, örneklerin PCR öncesi ekstrasyonu, tepkime karışımlarının hazırlanması, örneklerin

PCR için hazırlanması, amplifikasyon ve sonrasında ürünlerin jel-basamakları ayrı odalarda çalışıldı. Temiz ve kirli odalar arasında malzeme transferi yapılmadı. Deney esnasında tek kullanımlık pipet uçları ve tüpler kullanıldı. Tepkime master-mix hazırlığı ve örneklerin PCR öncesi hazırlığı biyogüvenlik kabinlerinde yapıldı. Çalışmadan öncesinde kabin içleri ve malzemeler yarım saat ultraviyole ışığına maruz bırakılıp, %10'luk çamaşır suyu ve %70' lik etil alkol ile ortam temizliği yapıldı.

Master-mix hazırlığı sırasında olası kontaminasyonu saptamak amacıyla, *Babesia microti* DNA pozitif kontrol ve Molecular Grade Water (MGW) negatif kontrol olarak kullanıldı.

3.7. DNA Amplifikasyonu

Amplifikasyon işleminde, Casati ve diğ. (2006)'nın önerdiği amplifikasyon protokolü uygulandı.

Hedef DNA başlangıçta 95 °C' de 5 dk süreyle denatürasyon. Sonraki aşamalarda sırasıyla;

95 °C' de 30 sn Denatürasyon

52 °C' de 45 sn Bağlanma

72 °C' de 45 sn Uzama

45 döngü

72 °C' de 5 dk Final uzama

Amplifikasyon işlemi sonucunda elde edilen ürünler jel-elektroforez işlemine alınana kadar +4 °C'de muhafaza edildi.

3.8. Agaroz Jel Elektroforezi

3.8.1. Agaroz Jelin Hazırlanması

Amplifikasyon işlemi sonrasında elde edilen ürünlerin elektroforez işlemine alınabilmesi amacıyla %1,5'luk agaroz jel döküldü. Elektroforez işleminde TPE tampon olarak kullanıldı. Agaroz jelle nükleik asit boyayıcısı (Gelred nucleid acid stain) 1:10000 oranında eklendi. Agaroz TPE içinde eritilip sonra, 60°C' ye soğuyunca

etidyum bromür eklenerek, uygun dişli taraklar takılarak tablaya dökülen jelin katılaşması için 30-40 dk beklenildi. Sonrasında elektroforez tarakları jeli delmeden çıkarıldı.

3.8.2. Elektroforez İşlemi

Elektroforez tankına jel, delikli kısmı katoda gelecek şekilde konur ve tampon solüsyonu TPE jelin 1 mm üzerine gelecek şekilde tankın içine yerleştirilir. Jelin ilk kuyucuğuna 100 bp lık DNA ladder (biomatik) yüklendi. Amplifikasyon ürünlerinden 5 µl örnek, 1 µl yükleme tamponu (loading dye – sigma gel loading dye) ile karıştırılıp, jele yüklenir. Kapağı kapatılan tank, güç kaynağına bağlanır ve hareketin anoda doğru olup olmadığı kontrol edilir. Çoğaltılan DNA örneklerine 90 voltta 50 dk elektroforez işlemi uygulanır.

3.9. Görüntüleme İşlemi

Elektroforez işleminden sonra agaroz jel, Biostep UST-20M-8x transilluminator cihazında değerlendirildi. Şüpheli pozitiflik gözlenen numuneler sekans analizine alındı.

3.10. Sekans analizi

PCR amplifikasyon ürünlerini saflaştırmada, “ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent (Thermo Fisher Scientific, ABD)” kiti kullanıldı. ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve BigDye Terminator v3.1 Cycle Dizileme Kiti (Applied Biosystems, Foster City, CA) ile DNA sekansı yapıldı. DNA dizi analizi verileri “Basic Local Alignment Search Tool (Blast version 2.0)” programıyla GenBank sonuçları ile karşılaştırıldı.

3.11. Filogenetik Analiz

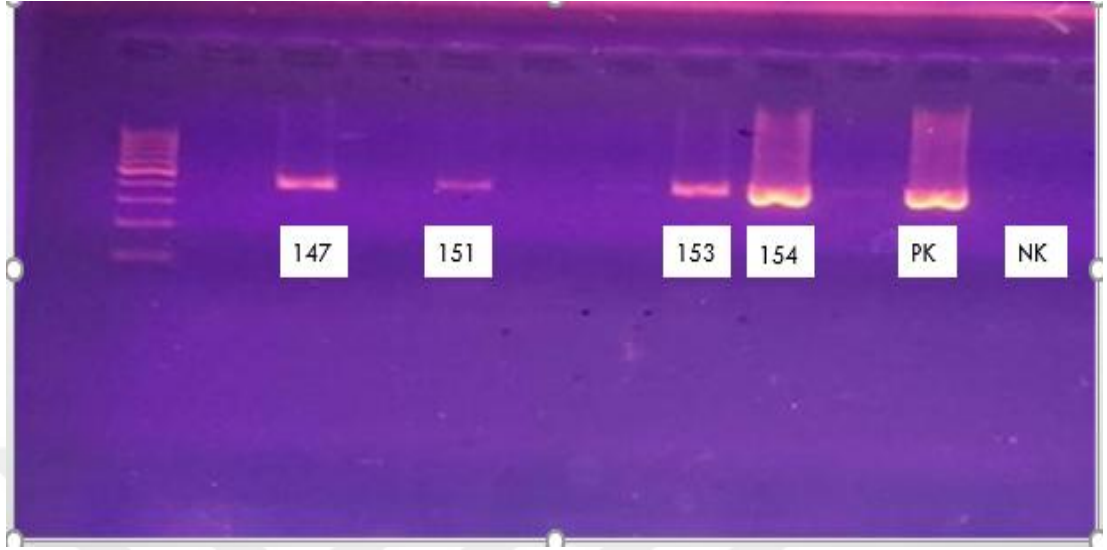
MEGA7 (versiyon7.0.26) programı kullanılarak filogenetik analiz ve ağaç oluşturulmuştur.

4. BULGULAR

Bu çalışmada PCR tekniği ile Ankara (Beypazarı, Kazan, Çubuk, Bala) ve çevresindeki illerden (Çankırı, Tokat, Eskişehir, Bartın, Yozgat, Kastamonu ve Sakarya) toplanan kenelerde *Theileria* spp.'lerin varlığı incelenmiştir. Çalışmamızda 2021-2022 yıllarında 191 adet kene toplanmıştır. 95 tanesi erkek, 85 tanesi dişi, 11 tanesi de nimf olarak tespit edilmiştir. Estrada-Pena ve arkadaşlarının kene atlası kullanılarak, toplanan kenelerin 81 tanesi *R.sanguineus*, 6 tanesi *R.bursa*, 4 tanesi *R.turanicus*, 59 tanesi *H. marginatum*, 5 tanesi nimf *Hylomma* spp., 4 tanesi *H.aegyptium*, 4 tanesi *Hae. parva*, 8 tanesi *Hae. erinacei*, 1 tanesi *D.marginatus*, 24 tanesi *I. ricinus*, 6 tanesi nimf *Ixodes* spp. olarak tanımlandı. Bu kenelerin 152'si kedi köpek, koyun, keçi, sansar, rodent, crocidura gibi çeşitli hayvanlardan toplanırken 32'si insan 5'i de tabiattan toplanmıştır. Kenelerin tür il ve konağa göre dağılımı Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1: Ankara merkez ve komşu illerden, tabiat ve konaklardan toplanan erkek ve dişi kenelerin dağılımı

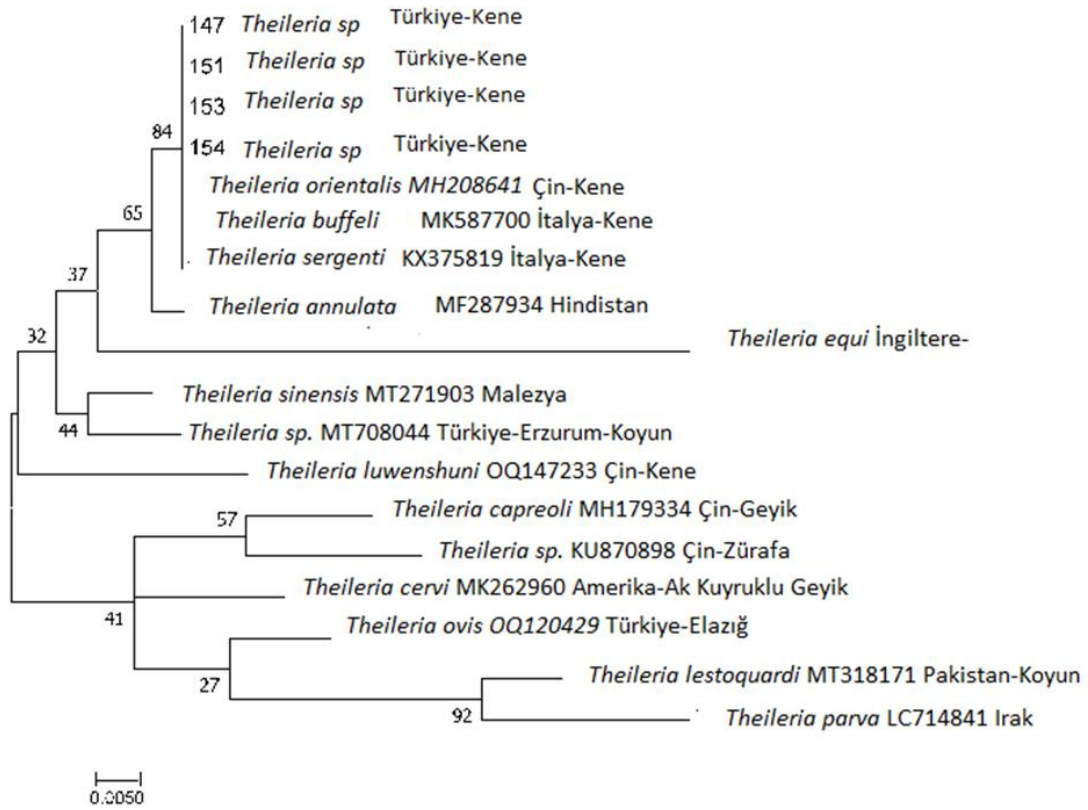
KENE TÜRLERİ	Konak	Cinsiyet	Ankara	Balı	Bartın	Beyazır	Çankırı	Çubuk	Ekişçir	Kastamonu	Kazan	Sakarya	Tokat	Yozgat	Toplam Kene (ADET)	
<i>Rhipicephalus turanicus</i> 2,09%	İNSAN	Dişi	2												4	191
		Erkek														
		Numf														
	KOYUN	Dişi											1			
		Erkek											1			
		Numf														
<i>Hyalomma marginatum</i> 30,89%	İNSAN	Dişi	5												39	
		Erkek		1					2							
		Numf	5													
	KOYUN	Dişi											2			
		Erkek											4			
		Numf														
	KEÇİ	Dişi				13			7							
		Erkek				7			8							
		Numf														
	TABİAT	Dişi				2										
		Erkek							3							
		Numf														
<i>Hyalomma aegyptium</i> 2,09%	İNSAN	Dişi	1											4		
Erkek							1			1	1					
Numf																
<i>Haemaphysalis enniacei</i> 4,19%	SANSAR	Dişi										1		8		
Erkek											7					
Numf																
<i>Ixodes ricinus</i> 12,57%	İNSAN	Dişi			2										24	
		Erkek														
		Numf			1											
	KOYUN	Dişi										12				
		Erkek										2				
		Numf														
	KÜPEK	Dişi											1			
		Erkek			1											
		Numf														
	RUDENT	Dişi														
		Erkek														
		Numf											3			
	CRACIDURO	Dişi														
		Erkek														
		Numf											2			
<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 42,41%	İNSAN	Dişi	2				1								81	
		Erkek	5				1									
		Numf														
	KEÇİ	Dişi				1			6							
		Erkek				8			8							
		Numf														
	KÜPEK	Dişi			3	4					8					
		Erkek			27	1					4					
		Numf														
	KEDİ	Dişi				2										
		Erkek														
		Numf														
<i>Rhipicephalus bursa</i> 3,14%	KEÇİ	Dişi				6								6		
Erkek																
Numf																
<i>Haemaphysalis parva</i> 2,09%	İNSAN	Dişi	1							1					4	
		Erkek														
		Numf														
	KEDİ	Dişi				1										
		Erkek				1										
		Numf														
<i>Dermacentor marginatus</i> 0,52%	İNSAN	Dişi												1		
Erkek		1														
Numf																



Şekil 4.1: Amplifikasyon sonrası bazı pozitif ve negatif numunelerin yer aldığı jel elektroforez görüntüsü

BJ1-GTCTTGTAATTGGAATGATGG ve **BN2**- TAGTTTATGGTTAGGACTACG primerleri kullanılarak 18SrRNA hedef gen bölgesi kullanılarak taranarak 400-500 bp bölgelerde amplifikasyon ürünlerinden çalışılan sekans sonuçlarına göre 147,151,153 ve 154 nolu örneklerde *Theileria* spp. pozitif belirlendi. Pozitif örneklerin 4 tanesi de *Theileria* spp. olarak tanımlandı. *Theileria* spp. olarak belirlenen bu numuneler sonraki çalışmalarda NGS ile sekans analizine alınarak tür düzeyinde tanımlamaya gidilecektir.

Theileria spp. pozitif bulunan 4 örneğin tamamı Bartın ilindeki köpeklerden alınan erkek *R. sanguineus* kenelerinde görülmüştür.



ŞEKİL 4.2: *Theileria* spp. maximum likelihood yöntemiyle moleküler filogenetik analizi

Filogenetik Analiz ve Ağaç Oluşturulması amacıyla MEGA7 programı kullanıldı. Filogenetik ağaç için “maximum likelihood”, istatistiki güvenilirlik için filogenetik test olarak Bootstrap yöntemi ve Kimura 2 parameter model kullanılmıştır.

Maksimum Olabilirlik yöntemi, gözlemlenen verileri oluşturma olasılığı en yüksek olan ağacı bularak evrimsel bir tarihçe çıkarmak için kullanılan istatistiksel bir yöntemdir. Kimura 2 parametrelili model, genetik koddaki farklı konumlardaki ikamelerin farklı oranlarda meydana geldiği gerçeğini hesaba katan bir moleküler evrim modelidir. En yüksek log olasılığına sahip ağaç, verilerle en tutarlı ağaçtır ve ilişkili takson kümesinin bir arada bulunduğu ağaçların yüzdesi, belirli bir dalın ne kadar güçlü bir şekilde desteklendiğinin bir ölçüsüdür. İlk ağaç, taksonlar arasındaki ikili mesafelere dayalı ağaç oluşturma yöntemleri olan Neighbour-Join ve BioNJ algoritmaları kullanılarak elde edilir. Ağaç, genetik koddaki her bir pozisyonda meydana gelen ikamelerin sayısını temsil eden dal uzunlukları ile ölçekli olarak

izilmiştir. Analiz, 28 nükleotit dizisini içermiştir ve boşlukları veya eksik verileri olan tüm pozisyonlar nihai veri setinden çıkarılmıştır. Evrimsel analizler MEGA7 yazılımı kullanılarak yapılmıştır (Kimura M., 1980; Kumar, S ve diğ., 2016).

147,151,153,154 numaralı *Theileria* spp. Çin’de keneden bildirilen MH208641 erişim numaralı, İtalya keneden bildirilen MK587700 erişim numaralı, yine İtalya’da keneden bildirilen KX375819 erişim numaralı *Theileria* spp. türleri ile genotipik olarak yakın ilişkili olduğu gözlendi. Buna en yakın ilişkili tanımlanmış tür olan ve Hindistandan bildirilen MF287934 erişim numaralı *T. annulata* olduğu saptandı.

Theileria pozitif olarak belirlenen 4 örneğın elde edilen sekans verilerinin GenBank verileriyle karşılaştırılmasında ve oluşturulan filogenetik ağaç analizinde örneklerin tamamı *Theileria* spp. olarak tanımlandı. Kenelerin %2,1 *Theileria* spp. pozitifliğı moleküler olarak belirlendi.

5. TARTIŞMA

Theileriosis keneler aracılığıyla omurgalı konaktan diğerine transfer edilen parazitlerin neden olduğu hastalıklardandır. Türkiye de olmak üzere dünyanın farklı bölgelerinde rastlanan önemli bir protozoer hastalıktır. Ixodidae (sert) ve az olarak da Argasidae (yumuşak) kene türleri taşınmasında aktiftirler. Tropikal ve subtropikal iklim kuşağındaki ülkelerde görülmektedir (Köse, 2014).

Theileriosis sığır, koyun ve keçi üretim faaliyetlerinin de başlıca problemlerinden biridir. (Altay ve diğ., 2007a). Tropikal theileriosis Türkiye’de özellikle ithal hayvanlarda ölüm oranı ve verim düşmesi sonucunda ciddi ekonomik sorunlara yol açmaktadır (Vatansever ve diğ., 2002).

Hastalığın önlenmesi amacıyla hayvanlarda parazitlenen ve hastalık etkenleri olan *Theileria* spp. ve vektör olan kenelerin varlıklarının, dağılışlarının ve konaklarının ortaya konması önemlidir. (Köse, 2014)

Theileria spp. tespit edilmesi amacıyla uzun yıllardır mikroskopik yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntem ucuz, hızlı ve pratiktir (Mehlhorn, 2004). Mikroskopik yöntem her hasta hayvan için tek tek uygulanır ve akut enfeksiyonların tanısında yeterlidir. Enfeksiyon geçiren hayvanlarda etkenin uzun bir süre kaldığından ve kanda paraziteminin düşük olduğu durumlarda mikroskopik yöntem yeterli olmayabilir. Bu sebeple hastalığın tanısı için, daha güvenilir yöntemler bulunmuştur. PCR yöntemi omurgalı ve omurgasız konaktaki parazite ait az miktarlardaki DNA’yı spesifik olarak çoğaltabildiğinden en sık başvuru olan moleküler testtir (Pekel, 2014).

Tanı koymadaki hassasiyeti gözönünde bulundurularak çalışmamızda moleküler konvansiyonel PCR yöntemi kullanılmıştır.

Dündar ve arkadaşları (1995) Çankırı bölgesinde 480 sığırda yaptıkları çalışmada IFA yöntemi ile %8.1 *T. annulata* pozitif bulurken, mikroskopi ile %5.4 oranında bulmuşlardır.

Dumanlı ve arkadaşları (2002) Doğu ve Güneydoğu illerinde sığırlarda mikroskopik baki, IFA ve PCR ile tropikal theileriosis varlığını belirlemek amacıyla çalışma yapmışlardır. Sığırlar üzerinden toplam 179 *H. anatolicim anatolicim* toplamıştır. Üç yöntemle toplam 1408 numune incelenmiştir. *T. annulata* prevalans

değerleri PCR ile %37.5 (528/1408), IFA ile %35 (493/1408), mikroskopik olarak %20.8 (293/1408) olarak hesaplandı. Bu çalışma sonucunda PCR tekniğinin, diğer iki tekniğe kıyasla daha özgül ve duyarlı olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Vatansever ve diğerleri (2002) Ankara ve bölgesinde 533 sığırdan alınan kan örneklerinin DNA analizi sonrasında RLB yöntemi kullanılarak 195 (%36.8)'inin *T. annulata*, 63 (11.8)'ünün *T. buffeli* olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu çalışma ile Türkiye'de ilk defa *T. buffeli* (*T. bufeeli/orientalis*) varlığı rapor edilmiştir.

Altay ve arkadaşları (2007) Erzincan bölgesinde 123 sığırdan RLB metodu kullanarak yaptıkları çalışmada 19 (%15.45) *T. annulata*, 12 (%9.78) *T. buffeli/orientalis* saptamıştır.

İca ve diğerleri (2007) Kayseri ilinde yaptıkları çalışmada 300 sığırı incelemişler ve 117'sinde kene istilasını tespit etmişlerdir. 11 İxodid cinsine ait 1160 kene toplamışlardır. Toplanan keneler, türlerine göre 43 kene havuzuna ayrılmıştır. Bu havuzlarda sığır türleri RLB yöntemi kullanılarak incelenmiştir. 43 kene havuzunu 42'sinde *T. annulata* tespit edilmiştir.

İnci ve diğerleri (2008) Kapadokya yöresinde 554 sığır üzerinde *T. annulata* varlığını mikroskopik ve IFA ile araştırmıştır. Sığırlar kene enfestasyonları yönünden kontrol edilmiştir. *T. annulata* mikroskopik muayenede % 60,5, IFA'da ise %67,5 bulunmuştur. Sığırların %21,48'inden *Hyalomma* spp., *Rhipicephalus* spp., *Dermacentor* spp., *Boophilus* spp. ve *Ornithodoros* spp.'e ait 1585 kene toplanmıştır. *T. annulata*'nın gelişim formları *H. anatolicum anatolicum* kenelerinde mikroskopik olarak tespit edilmiştir.

Deniz ve diğerleri (2012) Diyarbakır yöresinde toplam 100 sığırdan kan örnekleri alıp, multiplex PCR çalışmıştır. PCR metodu ile 23 sığırdan *T. annulata* ve 1 sığırdan *T. annulata*+*T. buffeli* saptamıştır.

Zarei ve arkadaşları (2015) İran'da yaptıkları çalışmada 80 koyundan topladıkları 110 kene örneğinin DNA'larını ekstrakte ettikten sonra PCR yöntemiyle Theleriosis enfeksiyonunu değerlendirmişlerdir. 9 tane *Hyalomma* spp., 5 tane *R. turanicus* ve 4 tanesi de *R. sanguineus* olmak üzere toplamda 18 kenede Theleriosis bulunmuştur.

Aydın ve arkadaşları (2017) Doğu Anadolu Bölgesinde 960 koyundan topladıkları kenelerle mikroskopi kullanılarak %3.96 (38/960) oranında *Theileria* spp. proplazma tanımlamıştır. RLB yöntemi kullanılarak %24.79 (238/960) *T. ovis* %6.15 (59/960) *Theileria* spp. %4.27 (41/960) *Theileria* spp. OT3 tespit edilmiştir. Çalışma bölgesindeki koyunlarda *T. ovis*'in Theileriosis etkeni olduğu bulunmuştur.

Köse (2017) Burdur ili ve ilçelerinde 334 sığırdan RLB tekniği ile *T. annulata* pozitifliği %0,6 (2/334) bulunmuştur.

Rahmani ve arkadaşları (2019) İran'da yaptıkları çalışmada keçilerden topladıkları 420 ixodid kenesinden 45 kene havuzu oluşturarak, nested PCR ile 13 havuzda theleria bulmuşlardır. *Theileria* türlerine *H. marginatum*, *R. turanicusand*, *H. anaticum* kenelerinde saptanmıştır. 2. ve 8. havuzda *T. ovis* ve *T. lestoquardi* pozitif bulunmuş olup, bunlar *H. marginatum*, *R. turanicusand* kenelerinde tespit edilmiştir. *H. anaticum* pozitif olduğu 3 kene havuzunda da *T. annulata* ve *T. lestoquardi* saptanmıştır.

Orkun arkadaşları (2020) Anadolu da toplam 1815 keneyi PCR yoluyla ayrı ayrı analiz etmişler ve 1'i yeni varsayılan bir tür dahil olmak üzere; *T. orientalis*, *T. ovis*, *T. annulata*, ve *Theileria* spp. Kalecik olmak üzere toplam 4 (%0.2) *Theileria* türü bulmuşlardır. Moleküler olarak saptanıp karakterize edilen ve potansiyel olarak yeni bir *Theileria* türü olduğu düşünülen *T.sp* Kalecik Ankaranın Kalecik ilçesinde bir inekten elde edilen *D. marginatus*'da tespit edilmiştir.

Orkun ve arkadaşları (2020) topladıkları 1019 kenede yaptıkları çalışmada PCR yöntemi kullanarak *T. annulata*'yı topladıkları *H. excavatum* da tespit etmişlerdir. Daha öne Türkiye, İran ve Hindistandaki sığırlardan elde edilen *T. annulata* 'yla aynı kladde olduğunu bildirmişlerdir.

Amini ve arkadaşları (2021) Afganistan'ın Herat bölgesinde Haziran 2015 Eylül 2016 ayları arasında 100 süt sığırından topladıkları 349 keneden yaptıkları araştırmada, PCR tekniği kullanılarak, 70 kene havuzunun 7'sinde (%7.4) *Hyalomma* spp. kenenin tükürük bezlerinde *T. annulata* DNA'sı tespit etmişlerdir.

Yapmış olduğumuz çalışmamızda ise *Theileria* spp. Bartın ilinde ve köpekten alınan *R. sanguineus* kenesinde bulundu.

Türkiyede kenelerde *Theileria* spp. varlığına yönelik çalışmalarda belirlenen *T. annulata*, *T. bufelli/orientalis*, *T. ovis* çalışmamızda tür düzeyinde belirlenememiştir.

Aydın ve arkadaşlarının (2017) yeni bir tür olarak buldukları *Theileria* spp. OT3 ve Orkun ve arkadaşlarının (2020) yeni bir tür olarak bulup *Theileria* spp. Kalecik olarak adlandırdıkları çalışmalara benzer olarak çalışmamızda bulmuş olduğumuz 4 tane *Theileria* spp.'nin yeni bir tür olma ihtimali göz önünde bulundurularak NGS ile sekans analizine gidilmesi planlanmıştır.



6. SONUÇ VE ÖNERİ

Bu çalışmada Ankara ve çevresindeki illerde kene kaynaklı theleriosis moleküler olarak araştırılıp konvansiyonel PCR kullanarak *Theileria* spp.'lerin hangi illerde ve hangi hayvan ve kenelerde görüldüğü hakkında bilgi vermiştir. Alınan sonuçlar da PCR testinin mikroskopi ve IFA yöntemlerine göre çok sayıda örneği daha kısa sürede çalışıp, duyarlı sonuçlar vermesi açısından uygun bir test olduğunu göstermiştir.

Bu çalışma sonucunda hayvanlarda parazitlenen *Theileria* spp.'lerin Ankara ve çevresindeki illerde yaygınlıkları ile veriler elde edilmiş olup, bölgedeki parazit faunasına katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

Vektör keneler açısından uygun bir ortam olan Ankara ve çevresindeki illerde, theileriosisin durumunu epidemiyolojik olarak ortaya koyan bu verinin, hastalığın mücadelesinde ön bilgi ve hastalığın bölgesel durumu hakkında önemli bir veri olacağı kanısına varılmıştır. Kene kaynaklı hastalıklarda, taşıyıcı hayvanların hem duyarlı hayvanlar, hem de keneler için daima enfeksiyon kaynağı olduğu bilinmektedir. Moleküler tanı yöntemlerinin kullanılmasının diğer birçok yöntemlerin neden olduğu dezavantajı ortadan kaldırması ve direkt olarak etkenin genetik materyalinin ortaya koyması bakımından kesin netice vermesi nedeniyle daha avantajlı olduğu düşünülmektedir.

Bulmuş olduğumuz 4 tane *Theileria* ssp.'nin ilerdeki çalışmalarda NGS ile tür düzeyinde saptanıp, olası yeni bir türü kaçırma ihtimalinin ortadan kaldırılması planlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Abdela, N., Bekele, T.** (2016). "Bovine theileriosis and its control: a review",. *Advances in Biological Research*, 10, 200-212.
- Altay, K., Aktaş, M., Dumanlı, N.** (2007). Erzincan Yöresinde sığırlarda *Theileria annulata* ve *Theileria buffeli/orientalis*'in Reverse Line Blotting yöntemi ile araştırılması,. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31(2), 94-97.
- Aktaş, M., Altay, K.** (2004). Sığır Theileriosisi. *Fırat Üniv Sağ Bili Derg*, 18(2), 79-86.
- Allsopp B.A., Baylis, H.A., Allsopp, M.T., Cavalier, T., Bishop, R.P., Carrington, D.M., Sohanpal, B., Spooner, P.** (1993) Discrimination between six species of *Theileria* using oligonucleotide probes which detect small subunit ribosomal RNA sequences. *Parasitology*, 107, 157-165.
- Amiri, S., Razmi, Y.** (2021). Molecular detection of *Theileria annulata* among dairy cattle and vector ticks in the Herat Area, *Archives of Razi Institute*, Vol. 76(1), 79-85.
- Aydın, M. F., Coşkun, A.** (2019). İnsanlarda kene ile bulaşan hastalık etkenleri ve Türkiye'deki mevcut durumu. *J Adv Vet.Bio Sci Tech*, 4(1), 26-32.
- Aydın, N., Vatansever, Z., Arslan, M.Ö.** (2022). Kars Yöresindeki Koyunlarda *Babesia* ve *Theileria* türlerinin moleküler epidemiyolojisi, *Türk Parazitol Derg*, 46(1), 20-27. DOI: 10.4274/tpd.galenos.2021.09709
- Aysul, N., Karagenç, T., Eren, H., Aypak, S., Bakırcı, S.** (2008). "Aydın ili sığırlarında tropikal theileriosisin yaygınlığı ve *Theileria annulata* şizont aşısının sahada etkinliğinin değerlendirilmesi",. *Türk Parazitol Dergi*, 32, 322-327.
- Bilgiç, H.B.** (2010). *Theileria annulata* tanısında serolojik (indirekt elisa) ve moleküler (pcr, çoklu pcr ve lamp) yöntemlerin geliştirilmesi (Doktora Tezi). Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Aydın.
- Bishop, R., Musoke, A., Morzaria, S., Gardner, M., Nene, V.** (2004). "Theileria: Intracellular Protozoan Parasites of Wild and Domestic Ruminants Transmitted by Ixodid Ticks",. *Parasitology*, 129, 271-283.
- Brown, C. G.** (1990). Control of tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection) of cattle, *Parassitologia*, 32, 23-31.
- Çiçek, H. S.** (2009). Keneler ve Kırım-Kongo Kanamalı Ateşli (KKKA). *Kocatepe Vet. J.* 2 (2), 61-64.
- Deniz, A., Öncel, T., İçen, H., Şimşek, A.** (2012). Diyarbakır yöresinde sığırlarda *Theileria annulata* ve *Theileria buffeli*'nin multipleks PCR ile saptanması,. *Kafkas Üniv Vet. Fa. Derg*, 18, 111-114.
- Dumanlı, N., Aktaş, M., Çetinkaya, B., Çakmak, A., Köroğlu, E., Şaki, C. E., Erdoğan, Z., Nalbantoğlu, S., Öngör, H., Şimşek, S., Karahan, M.** (2002). Bazı Doğu ve Güneydoğu illerinde theileriosisin yayılışının mikroskopik, serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. *Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu*.
- Dumanlı, N., Altay, K., Aktaş, M.** (2016) Keneler ve kenelerle taşınan hastalıklar *Manas J Agr Vet Life Sci*, 6 (2), 45-54.
- Estrada-Peña, A., Mihalca, A. D., Sprong, H., Pfaffle, M. P., Petney, T. N.** (2017). How to Collect Ticks and Interpret These Collections, Ticks of Europe and North Africa pp 5–10, doi.org/10.1007/978-3-319-63760-0_2
- İça, A., Vatansever, Z., Yıldırım, A., Düzlü, Ö., İnci, A.** (2007). Detection of

- Theileria* and *Babesia* species in ticks collected from cattle. *Veterinary Parasitology*, 148(2), 156-160.
- İnci, A., İça, A., Yıldırım, A., Vatansever, Z., Çakmak, A., Albasan, H., Çam, Y., Atasever, A., Düzlü, Ö.** (2008). Epidemiology of tropical theileriosis in the Cappadocia region. *Turk J Vet Anim Sci*, 32(1), 57-64.
- İnci, A., Yıldırım, A., Düzlü, O.** (2016). The current status of ticks in Turkey: A 100-year period review from 1916 to 2016. *Turk Parazitol Derg*, 40, 152-7.
- Kimura, M.** (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111-120.
- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K.** (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33:1870-1874.
- Kreier J.P., Baker J.R.** Parasitic Protozoa. Allen and Unwin, Inc, Winchester, Massachusetts: 2-5.
- Köse, O.** (2017). *Burdur yöresinde ruminantlarda Theileria ve Babesia türlerinin Reverse Line Blot Hibridizasyon tekniği ile araştırılması* (Doktora Tezi). Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Aydın.
- Lestoquard, F., Ekrem, İ.** (1931). les piroplasmoses du mouton en Turquie. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 2, 9: 822-826.
- Levine, N.D.** (1985) Apicomplexa: The Piroplasms, *Veterinary Parasitology*, 291-328.
- Levine, N.D.** Progress in taxonomy of the Apicomplexan protozoa. *Journal of Protozoology*, 35, 518-520.
- Mans, B. J., Pienaar, R., Latif, A. A.** (2015). A Review of *Theileria* Diagnostics and Epidemiology. *International Journal for Parasitology, Parasites Wildlife*, 4, 104-118.
- Mehlhorn, H.** (2004). Babesiosis, Theileriosis. *Encyclopedic Reference of Parasitology*, Universitat Würzburg, Springer-Verlag Heidelberg.
- Neitz, W. O.** (1957). Theileriosis, Gonderioses and Cyauxzoonoses: a review 2 *Theileria annulata* infection. *Onderstepoort Vet Res*, 27, 319-346.
- Norval, R.A, Perry, B.D, Young, A.S.** (1992). The Epidemiology of Theileriosis in Africa, Academic Press, London U K. 481.
- Orkun, Ö., Çakmak, A., Nalbantoğlu, S., Karaer, Z.** (2020). Türkiye kene haberleri Anadolu'da konakçı arayan kenelerde kene kaynaklı patojenlerin varlığına dair moleküler bir araştırma; varsayılan vektörler ve patojenlerin ilk kanıtı ve gizlice yükselen bir vektör kenisi olan *Hemaphysalis erinacei*. *Infet Genet Evol*, 190-198. Doi10.1016/j.meegid.2019.01.028. Epub 2019 Jan 22
- Över, L.** (2009). *Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'ne Kene Isırması İle Başvuran Hastaların Ve Pilot Bölgelerdeki Kenelerin Araştırılması* (Doktora Tezi). Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İzmir.
- Özkan, C., Özbek, M., Okman, E.N.** (2019). Ruminantlarda Theileriosis. Ruminantlarda Kan ve Kan Yapan Organ Hastalıkları (s.29-34): Ankara: Türkiye Klinikleri.
- Pekel, G.** (2014). *Aydın, İzmir, Manisa İllerindeki Sığırlarda Theileria ve Babesia Türlerinin Reverse Line Blot Hibridizasyon Tekniği ile Belirlenmesi* (Doktora Tezi). Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Aydın.
- Pipano, E.** (1994). *Theileria annulata* Theileriosis, in *Infectious Diseases of Livestock with Special Reference to Southern Africa*, Oxford University. Cape Down.
- Rahmani, M. V., Tavassoli, M., Esmailnejad, B.** (2019). Molecular detection and

- differentiation of *Theileria lestoquardi*, *T. ovis* and *T. annulata* in Blood of Goats and Ticks in Kermanshah Province, Iran *J Arthropod-Borne Dis*,13(3), 297–309.
- Samuel, S., Raif, M.** (1930). Koyun piroplazmozisi hakkında muafiyetİN yeni usulleri, Türkiye'de piroplazmozis. *Baytari Mecmua*, 7,8, Milliyet Matbaası, İstanbul.
- Sayın, F., Dinçer, S., Karaer, Z., Çakmak, A., İnci, A., Yukarı, B. A., Eren, H., Vatansever, Z., Nalbantoğlu, S.** (2003). Studies on the epidemiology of tropical theileriosis (*Theileria annulata* Infection) in cattle in central anatolia, Turkey, *Trop. Anim. Health Prod.*, 35(6), 521-539
- Soulsby, E.J.L.** (1982). Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. 7th ed. Bailliere Tindal, 706-741.
- Tazegül, R.** (2023). Kars, Ardahan ve Iğdır illerinde sığırlarda *Babesia* ve *Theileria* türlerinin yayılışının moleküler yöntemler ile araştırılması (Doktora tezi). Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Kars.
- Vatansever, Z., Nalbantoğlu, S., Deniz, A., Çizmeci, Ş. G.** (2002). Sığırlarda bulunan *Theileria* ve *Babesia* türlerinin Reverse Line Blotting tekniği ile eşzamanlı teşhisi, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Proje No: VHAG-1640, 1-17.
- Yakarsönmez, S.** (2017) . *Theileriosis* 'in tedavisinde kullanılabilecek yeni bir ilaç adayı tespit etmek için kumarin türevlerinin *Theileria annulata* enolazını inhibisyon potansiyelinin araştırılması (Doktora Tezi). Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul.
- Zarei, F., Ganjali, M., Nabavi, R.** (2019). Identification of *Theileria* Species in Sheep and Vector Ticks Using PCR Method in Zabol, Eastern Iran *J Arthropod-Borne Dis*, 13(1), 76–82.
- Zeybek, H., Yaralı, C., DüNDAR, B.** (1995). Çankırı Yöresi Sığırlarında *Theileria annulata*'nın seroprevalansı *Etlik Vet Mikrob Derg* 8(2).
- Estrada-Peña, A., Mihalca, A. D., Sprong, H., Pfaffle, M. P., Petney, T. N.** (2017). How to Collect Ticks and Interpret These Collections, Ticks of Europe and North Africa pp 5–10, doi.org/10.1007/978-3-319-63760-0_2
- Casati, S., Sager, H., Gern, L., Piffaretti, J. C.** (2006). Presence of potentially pathogenic *Babesia* sp. for human in *Ixodes ricinus* in Switzerland, *Ann Agric Environ Med*. 13(1):65-70

ÖZGEÇMİŞ

ADI SOYADI: Ayşegül UĞUR ŞIK

