

Çorum yöresinde insanlar üzerinde parazitlenen kenelerde riketsiya varlığının araştırılması

Investigation of the presence of rickettsiae in ticks parasitizing on humans in Çorum region

Ahmet BURSALI¹, Adem KESKİN¹, Aysun KESKİN¹, Tuğba KUL-KÖPRÜLÜ¹, Şaban TEKİN²

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, Çorum yöresinde insanlarda parazitlenen kenelerde riketsiya varlığının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çorum yöresinde insanlar üzerinden toplanan 1.010 adet kene toplanarak morfolojik karakterlerine göre tür teşhisleri yapılmıştır. Bu örneklerden bireysel olarak elde edilen total DNA'lar riketsiyal sitrat sentaz (gltA, 381 bp) ve dış membran protein A (ompA, 532 bp) gen bölgelerini hedefleyen primer setleri kullanılarak PZR yöntemi ile taranmıştır.

Bulgular: Çorum ilinde insanlar üzerinden toplanan 741 *Hyalomma marginatum* örneğinin 51 (%6,88)'inde *Rickettsia aeschlimannii*, 3 (%0,4)'ünde *Rickettsia sibirica mongolitimonae*; 32 *Dermacentor marginatus* örneğinin 3 (%9,4)'ünde *Rickettsia raoultii*, 3 (%9,4)'ünde *Rickettsia slovaca* varlığı tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında incelenen *Hyalomma aegyptium*, *Hyalomma excavatum*, *Hyalomma parva*, *Haemaphysalis punctata*, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus bursa* ve *Rhipicephalus turanicus* türlerine ait kenelerde riketsiyal DNA varlığına rastlanmamıştır.

Sonuç: Bu çalışmada, Çorum yöresindeki kenelerde

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to determine the rickettsiae in ticks collected on human in Çorum Province by using the Polymerase Chain Reaction (PCR).

Methods: A total of 1010 tick samples which were collected on humans identified to species level in terms of the morphological characters. Total DNA's individually extracted from ticks were screened for the presence of Spotted Fever Group rickettsiae using the PCR targeting rickettsial citrate synthase (gltA, 381 bp) and outer membrane protein (ompA, 532 bp) genes.

Results: Out of 741 *Hyalomma marginatum* ticks collected from humans in Çorum Province, 51 (6.88%) were infected *Rickettsia aeschlimannii*, 3 (0.4%) were infected *Rickettsia sibirica mongolitimonae*. Out of 32 *Dermacentor marginatus* ticks, 3 (9.4%) were infected *Rickettsia raoultii* and 3 (9.4%) were infected *Rickettsia slovaca*. In addition, rickettsial DNA was not found in *Hyalomma aegyptium*, *Hyalomma excavatum*, *Hyalomma parva*, *Haemaphysalis punctata*, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus bursa* and *Rhipicephalus turanicus* ticks.

Conclusion: In the present study, rickettsiae in ticks collected from Çorum Province were examined

¹Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Tokat, Türkiye

²Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Tokat, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Adem KESKİN

Gaziosmanpaşa Üni. Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Böl. Taşlıçiftlik 60250 Tokat - Türkiye

Tel : +90 553 644 48 12

E-posta / E-mail : ademkeskin@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 21.09.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 10.03.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.28291

Bursalı A, Keskin A, Kskin A, Kul-Köprülü T, Telin Ş. Çorum yöresinde insanlar üzerinde parazitlenen kenelerde riketsiya varlığının araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(4): 293-298

riketsiya varlığı ilk kez araştırılmış ve *R. aeschlimanii*, *R. sibirica mongolitimonae*, *R. raoultii* ve *R. slovaca* olmak üzere dört farklı patojenik riketsiyanın bölge kenelerinde yaygın olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, Çorum yöresinde keneler tarafından enfeste edilen kişilerde kene kaynaklı riketsiyozların gelişebileceği ihtimaline karşı bölge sağlık personelinin dikkatli olması tavsiye edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Çorum, insan, riketsiya, kene

for the first time. According to our results, 4 different rickettsiae, *R. aeschlimanii*, *R. sibirica mongolitimonae*, *R. raoultii* and *R. slovaca* were commonly found in these ticks. Therefore, it suggested that the healthcare staff working in this region should be careful against the possibility that tick-borne rickettsioses may develop in people infected by tick in Çorum region.

Key Words: Corum, human, rickettsiae, ticks

GİRİŞ

Bilinen en eski vektör kaynaklı hastalık ajanlarından olan riketsiyalar (Rickettsiaceae; Rickettsiales) zorunlu hücre içi Gram negatif bakterilerdir. İnsanlara, kan emen bit, pire, kene ve akar gibi dış parazitler tarafından nakledilen riketsiyalar insanlarda tifüs, rickettsialpox, Akdeniz benekli ateşi, Afrika kene ateşi, Rocky Dağları benekli ateşi, Flinders Adası benekli ateşi ve Avustralya kene tifüsü gibi ciddi hastalıklara sebep olmaktadır (1). Riketsiyalar tüm dünyada yaygın bulunmalarına rağmen, farklı coğrafik bölgelerde değişik türleri de bulunabilmektedir. Günümüze kadar dünya genelinde 29 farklı riketsiya türü tanımlanmıştır (2). Ancak son yıllarda çok sayıda *Candidatus* durumunda olan yeni riketsiya türlerinin varlığı çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (3).

Ülkemizde riketsiyalar üzerine yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu klinik bulgulara sahip kişilerden alınan kan örneklerinin serolojik olarak taranmasına dayanmaktadır (4-7). Başta Trakya bölgesi olmak üzere, ülkemiz genelinde yaygın olarak görülen riketsiyoz vakalarının büyük bir kısmının *Rickettsia conorii* kaynaklı Akdeniz benekli ateşi olduğu ve sadece bir vakanın *Rickettsia akari* kaynaklı Riketsiya Çiçeği (Rickettsialpox) olduğu tespit edilmiştir (4-8). Son yıllarda yapılan çalışmalarda *Rickettsia conorii* ve *Rickettsia akari* dışında, *Rickettsia aeschlimanii*, *Rickettsia africana*, *Rickettsia felis*, *Rickettsia helvetica*, *Rickettsia hoogstraalii*, *Rickettsia monacensis*, *Rickettsia raoultii*, *Rickettsia sibirica mongolitimonae*, *Rickettsia slovaca*

ve *Rickettsia vini* olmak üzere 10 farklı riketsiya taksonunun ülkemiz kenelerindeki varlığı moleküler olarak tespit edilmiştir (9-11).

Bu çalışmada Çorum ili genelinde insanlar üzerinden toplanan kenelerde riketsiya varlığı ve yaygınlığının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemiyle tespit edilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Kenelerin toplanması ve teşhisleri

2009 yılında Çorum yöresinde sağlık kurumlarına kene tutunması şikayeti ile başvuru yapan insanlar üzerinden toplanan 1010 adet sert sert kene çalışma materyalini oluşturmaktadır. Sağlık personeli tarafından toplanan keneler tür teşhisleri yapılmaya kadar %70'lik alkol içeren şişeler içerisine konulmuştur. Örneklerin tür teşhisleri morfolojik karakterlerine göre Filippova (12,13), Walker et al. (14), Estrada-Pena et al. (15) ve Apanaskevich ve Horak (16) tarafından verilen tayin anahtarları ve tanımlamalar kullanılarak yapılmıştır.

Örneklerden DNA elde edilmesi

Kenelerde riketsiya varlığını tespit etmek amacıyla, 1010 adet kenenin her birinden bireysel olarak total DNA'lar araştırma ekibimiz tarafından geliştirilen Turkuaz Genomik DNA izolasyon kiti (patent aşamasında) kullanılarak yapılmıştır. Her bir kene

distile su ile yıkandıktan sonra filtrelili kağıtlar yardımıyla kurutulduktan sonra ependorf tüplerine alınarak steril bisturi yardımıyla parçalanmıştır. Örneklerin bulunduğu tüplerin içerisine 180 µl Turkuaz lysis buffer ve 40 µl proteinase K (Roche, Mannheim, Almanya) konularak 56 °C'de bir gece (overnight) inkübe edilmiştir. Daha sonra tüplerin 250 µl etanol eklenerek vortekslenmiştir. Ependorf tüpleri içerisindeki sıvı kısım filtrelili DNA spin tüplerine alınarak 1200 g de 1 dk santrifüj edilmiştir. Toplama tüpünde biriken sıvılar atılarak filtre üzerine tutunmuş olan DNA, ilk önce 250 µl Turkuaz Yıkama Solüsyonu I ile daha sonra 250 µl Turkuaz Yıkama Solüsyonu II ile yıkanmıştır. Filtre üzerindeki DNA 100 µl 72 °C'de H₂O ile çözülerek 1200 g de 1 dk santrifüj edilmiş ve elde edilen DNA PZR yapılarına kadar +4 °C'de saklanmıştır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Kenelerden elde edilen total DNA'lar riketsiya varlığı ilk önce sitrat sentaz geninin (gltA) 381 bp'lik bölgesinin hedefleyen primerler RpCS.877p (5'-GGGGACCTGCTCACGGCGG-3') ve RpCS.1258n, (5'-ATTGCAAAAAGTACAG-TGAACA-3') ile araştırılmıştır. Riketsiyal DNA açısından pozitif bulunan örnekler daha sonra riketsiyal dış membran protein A (outer membran protein A) geninin 532 bp'lik kısmını hedefleyen primerler Rr190.70p (5'-ATGGCGAATATTCTCCAAAA-3') ve Rr190.602n (5'-AGTGCAGCATTCCGCTCCCCCT-3') ile tekrar taranmıştır. Her iki primer çifti için PZR koşulları; 95 °C'de 5 dk başlangıç denatürasyonu, 35 siklus 95 °C'de denatürasyon 30 sn, 48 °C'de 60 sn bağlanma (annealing), 72 °C'de 30 sn uzama (extension), 72 °C'de 5 dk final

uzama şeklinde ayarlanmıştır. PZR ürünleri %1'lik agaroz jel elektroforezinde koşturulmuştur. Pozitif örnekler agaroz jel görüntüleme sisteminde (UVP, Upland, CA, Amerika) görüntülenmiştir. Pozitif kontrol olarak *R. aeschlimanii* DNA'sı, negatif kontrol olarak da distile su kullanılmıştır. Pozitif PZR ürünlerinin (ompA) çift yönlü dizi analizleri MacroGen firması (Amsterdam, Hollanda) tarafından yapılmıştır. Elde edilen DNA dizileri NCBI Genbank (Maryland, ABD) verileri ile karşılaştırılarak benzerlik (homoloji) analizi yapılmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen tüm diziler NCBI Genbank veri tabanına yüklenerek ilgili Genbank kalıtım numaraları (GenBank accession number) elde edilmiştir (Tablo 1).

BULGULAR

Çorum yöresinde insanları enfeste eden *Dermacentor marginatus* (n=32; 13♂, 19♀), *Hyalomma aegyptium* (n=7; 4♂, 3♀), *Hyalomma excavatum* (n=96; 62♂, 34♀), *Hyalomma marginatum* (n=741; 435♂, 306♀), *Haemaphysalis parva* (n=1; 1♂), *Haemaphysalis punctata* (n=2; 2♀), *Ixodes ricinus* (n=7; 7 nimf), *Rhipicephalus bursa* (n=34; 13♂, 21♀) ve *Rhipicephalus turanicus* (n=90; 40♂, 50♀) türlerine ait toplam 1010 kene riketsiya varlığı açısından incelenmiştir.

PZR sonuçlarına göre, Çorum yöresinde riketsiya varlığı yönünden test edilen 32 adet *D. marginatus* örneğinin üçünden (%9,4) elde edilen amplikonların (Genbank no: KU870364) *Rickettsia raoultii* strain WB13/Dm R Casola Valsenio (HM161794) ile, diğer üçünden (%9,4) elde edilen amplikonların (Genbank no: KU870365) *Rickettsia slovaca* strain WB1/Dm Pavullo

Tablo 1. Çorum yöresinde insanlar üzerinde parazitlenen kenelerde tespit edilen riketsiya türleri

Kene türü	İncelenen örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı	Benzerlik		
			Riketsiya türü	oranı (%)	GenBank ID
<i>Hyalomma marginatum</i>	741 (435♂, 306♀)	51 (34♂, 17♀)	<i>R. aeschlimanii</i>	100	KU870362
		3 (2♂, 1♀)	<i>R. sibirica</i> <i>mongolotimoniae</i>	100	KU870363
<i>Dermacentor marginatus</i>	32 (13♂, 19♀)	3 (1♂, 2♀)	<i>R. raoultii</i>	100	KU870364
		3 (1♂, 2♀)	<i>R. slovaca</i>	100	KU870365

(HM161798) ile % 100 homoloji gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen 741 adet *H. marginatum* örneğinin 54'ünün riketsiyal DNA bakımından pozitif olduğu tespit edilmiştir. Bu örneklerden elde edilen pozitif amplikonların GenBank veri tabanından analizleri yapıldığında, 51 (%6,88) örnekten elde edilen amplikonların (Genbank no: KU870362) *Rickettsia aeschlimannii* strain EgyRickHimp-El-Arish-16 (HQ335157) ile %100 oranında, diğer üç (%0,4) amplikonun (Genbank no: KU870363) *Rickettsia sibirica mongolotimonae* strain 239002010 (HQ728352) ile % 100 oranında homoloji gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen *H. aegyptium*, *H. excavatum*, *H. parva*, *H. punctata*, *I. ricinus*, *R. bursa* ve *R. turanicus* türlerine ait örneklerin riketsiyal DNA taşımadıkları tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

Rickettsiales takımının Alphaproteobacteria sınıfı içerisinde yer alan riketsiyalar ait 0.3 x 2 µm boyutlarında, Gram negatif, kısa çubuk şekilli zorunlu hücre içi paraziti olan bakterilerdir (17). Son yıllarda yapılan moleküler çalışmalarda riketsiyalar Benekli Ateşi grubu, Tifüs grubu, *Rickettsia bellii* grubu ve *Rickettsia canadensis* grubu olmak üzere 4 filogenetik gruba ayrılmaktadır (1). Riketsiyalar insanlara kene, bit ve pire gibi ektoparazitler tarafından bulaştırılmaktadır. Dünya genelinde son 25 yıldır riketsiyozların artan insidansı sürekli artmakta ve her yıl çok sayıda yeni riketsiya türleri tanımlanmaktadır (18-20).

Ülkemizde de son yıllarda başta Trakya bölgesi olmak üzere çok sayıda riketsiyoz vakası bildirilmiştir (4-8). Bu vakaların büyük çoğunluğu tanı klinik bulgulara sahip hastalardan alınan serum örneklerinin serolojik olarak taranması ile konulmuş olup söz konusu etken moleküler olarak tespit edilmemiştir. Üstelik hastalığın insanlara nakledilmesinde asıl sorumlu olan vektör kenelerdeki varlığı ve yaygınlığı göz ardı edilmiştir.

Çorum ilinde kene enfestasyonu vakalarının yaygın olduğu ve her yıl il genelinde çok sayıda Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) vakasının görüldüğü bildirilmektedir (21,22). Ülkemizde her yıl binlerce kene enfestasyonu vakası olmasına rağmen insanlarda KKKA dışında diğer kene kaynaklı hastalıkların varlığına

dair çalışmaların azlığı oldukça dikkat çekmektedir. Çalışmamız kapsamında Çorum ili ve ilçelerinde insanlara üzerinden toplanan kenelerde riketsiya varlığı araştırılmış olup PZR sonuçlarına göre bu kenelerde *R. aeschlimannii*, *R. raoultii*, *R. sibirica mongolotimonae* ve *R. slovacca* olmak üzere Benekli Ateşi grubuna ait 4 farklı riketsiya türünün varlığı tespit edilmiştir.

R. aeschlimannii ilk kez 1992 yılında Fas'ta *H. marginatum* türü kenelerde tespit edilmiş olsa da, ilk insan enfeksiyonu 2002 yılında Fas'a turistik geziye giden bir Fransız turistte görülmüştür (23). *R. aeschlimannii* türünün bazı *Hyalomma* türlerinde transstadial ve transovarial geçiş yapabildiği ve bu türlerin *R. aeschlimannii* için hem vektör hem de rezervuar olabileceği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (1). *R. aeschlimannii* kaynaklı enfeksiyonlarda oluşan semptomlar Akdeniz benekli ateşi hastalığıyla oldukça benzerlik göstermektedir (24). Bu nedenle Akdeniz benekli ateşi teşhisi konulan bazı vakaların aslında *R. aeschlimannii* kaynaklı riketsiyozlar olabileceğini çeşitli çalışmalarda vurgulamıştır. Bunun kanıtı olarak İspanya'da 1989-1999 yılları arasında görülen 144 Akdeniz benekli ateşi vakasında hastaların 11'inde birden fazla eskar görülmesi gösterilmektedir (25,26). Bu iddia, *R. conorii* vektörü olan *R. sanguineus* türünün insanlara affinitesinin ve eş zamanlı olarak birden fazla *R. sanguineus* kenesinin insanlarda enfeste olabilme ihtimalinin oldukça düşük olduğunu; ayrıca eş zamanlı olarak birden fazla kene enfestasyonu vakalarının *Hyalomma* türlerinin karakteristik özelliği olduğu bilgileriyle desteklenmektedir (26,27).

R. raoultii 1999 yılında Sibirya'dan toplanan *Dermaecentor nuttalli* türü kenelerde genotip DnS14 ve DnS28, Astrahan'dan toplanan *Rhipicephalus pumilio* türü kenelerde genotip RpA4 adında yeni bir riketsiya izolatlar olarak tanımlanmıştır (28). 2008 yılında Fransa ve Rusya'dan toplanan *Dermaecentor* örneklerinden elde edilen yeni izolatlar ile birlikte *R. raoultii* adında yeni bir riketsiya türü olarak tanımlanmıştır. *R. raoultii* kaynaklı ilk insan enfeksiyonu 2002 yılında Fransa'da görülmüştür. Atipik ateş, eskar, döküntü ve tüm vücutta dağınık halde bulunan benekli lezyonlar görülen ve kene kaynaklı lenfadenopati (TIBOLA: tick-borne lymphadenopathy) gelişen bu hastanın saç derisinden kaldırılan *D. marginatus* türü keneden *R. raoultii*

(genotip DnS14 olarak) izole edilmiştir (29).

R. sibirica mongolitimonae, isolate HA-91 olarak ilk kez 1991 yılında İç Moğolistan (Çin) bölgesinden toplanan *Hyalomma asiaticum* türü kenelerden izole edilmiştir (30). İnsanlarda lenfanjit ilişkili riketsiyoz (Lymphangitis-associated rickettsioses, LAR) hastalığına neden olan bu patojenik riketsiya ile ilgili ilk vakaya 1996 yılında rastlanmıştır. Günümüze kadar Yunanistan, Kıbrıs, Fransa, Portekiz ve İspanya'da çeşitli kene türlerinde tespit edilmiştir (1). 2013 yılına kadar çoğu Fransa ve İspanya'da olmak üzere 26 lenfanjit ilişkili riketsiyoz vakası olduğu bildirilmiş olsa da bu vakalardan herhangi biri ölümle sonuçlanmamıştır.

R. slovaca ilk kez 1968 yılında Slovakya'da toplanan *D. marginatus* türü kenelerden izole edilmiştir (31). Kene kaynaklı lenfadenopatiye (Tick-borne lymphadenopathy: TIBOLA) neden olan *R. slovaca* kaynaklı ilk insan enfeksiyonu 1997 yılında Fransa ve İspanya sınırında yer alan Pyrenees dağları bölgesinde kamp yapan bir kişide görülmüştür (32). Avrupa genelinde *Dermacentor* türü kenelerde *R. slovaca* prevalansı %17'ye kadar çıkabildiği ve *Dermacentor* cinsi kenelerin (özellikle *D. marginatus* ve *D. reticulatus*) bu patojenik riketsiya türü için hem

vektör hem de rezervuar oldukları çeşitli çalışmalarda vurgulanmıştır (26, 33).

SONUÇ

Çorum yöresinde insanlarda kene enfestasyonu vakaları yaygın olarak görülmektedir. Ayrıca il genelinde her yıl çok sayıda KKKK vakasının görüldüğü de bilinmektedir. Bu çalışmada Çorum yöresinde insanlar üzerinde parazitlenen *D. marginatus* türü kenelerde *R. slovaca* ve *R. raoultii*, *H. marginatum* türü kenelerde *R. aeschlimanii* ve *R. sibirica mongolitimonae* varlığı ilk kez tespit edilmiştir. Çalışmamız kapsamında bölge kenelerinde çeşitli riketsiya türleri belirlenmiş olmasına rağmen, bölgede tespit edilen riketsiyalardan kaynaklanan herhangi bir klinik riketsiyoz vakasının varlığına dair bilgiye ulaşılamamıştır. Bölge kenelerinin çeşitli patojenik riketsiya türleri ile enfekte olması bölgede halk sağlığı açısından önemli bir risk oluşturmaktadır. Bu nedenle bölge insanlarda görülen kene enfestasyonu vakalarında kene kaynaklı riketsiyozların enfeksiyonların gelişebileceği sağlık personeli tarafından göz önünde bulundurulması tavsiye edilmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından KBAG114Z136 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Parola P, Paddock CD, Socolovschi C, Labruna MB, Mediannikov O, Kernif T, et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. Clin Microbiol Rev, 2013; 26: 657-702.
2. List of Prokaryotic names with standing in nomenclature. Available from: URL: <http://www.bacterio.net/rickettsia.html>. 01.03.2016.
3. Portillo A, Santibáñez S, García-Álvarez L, Palomar AM, Oteo JA. Rickettsioses in Europe. Microb Infect, 2015; 17: 834-38.
4. Vural T, Ergin C, Sayın F. Investigation of *Rickettsia conorii* antibodies in the Antalya Area. Infection, 1998; 26: 170-72.
5. Şengöz G, Yıldırım F, Yaşar KK, Tözalgan Ü, Aydın ÖA. Fifty-six cases with Mediterranean Spotted Fever: Evaluation of Tick-Borne Spotted Diseases in Turkey. Türkderm, 2009; 43: 139-43.
6. Tekin A, Gözalan A, Çöplü N, Yılmaz G, Köksal İ, Esen B, Ertek M. Türkiye'nin Karadeniz Bölgesinden seçilmiş merkezlerde Riketsiya seropozitivitesi ve risk faktörleri. Dicle Tıp Derg, 2010; 37: 204-10.

7. Kuloglu F, Rolain JM, Akata F, Eroglu C, Celik AD, Parola P. Mediterranean spotted fever in the Trakya region of Turkey. *Ticks Tick Borne Dis*, 2012; 3: 298-304.
8. Güneş T, Poyraz Ö, Ataş M, Turgut NH. The seroprevalence of *Rickettsia conorii* in humans living in villages of Tokat Province in Turkey, where Crimean-Congo hemorrhagic fever virus is endemic, and epidemiological similarities of both infectious agents. *Turk J Med Sci*, 2012; 42: 441-48.
9. Gargili A, Palomar AM, Midilli K, Portillo A, Kar S, Oteo JA. *Rickettsia* species in ticks removed from humans in Istanbul, Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2012; 12: 938-41.
10. Orkun Ö, Karaer Z, Çakmak A, Nalbantoğlu S. Spotted fever group *Rickettsiae* in ticks in Turkey. *Ticks Tick Borne Dis*, 2014; 5: 213-18.
11. Keskin A, Koprulu TK, Bursali A, Ozsemir AC, Erciyas-Yavuz K, Tekin S. First Record of *Ixodes arboricola* (Ixodida: Ixodidae) from Turkey with presence of *Candidatus Rickettsia vini* (Rickettsiales: Rickettsiaceae). *J Med Entomol*, 2014; 51: 864-67.
12. Filippova NA. Ixodid ticks of the subfamily Ixodinae-Fauna SSSR. Moscow: Nauka Publishing House, 1977.
13. Filippova, NA. Ixodid ticks of subfamily Amblyomminae. Fauna of Russia and neighbouring countries. St. Petersburg: Nauka Publishing House, 1997.
14. Walker JB, Keirans JE, Horak IG. The genus *Rhipicephalus* (Acari, Ixodidae): a guide to the brown ticks of the world. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
15. Estrada-Peña A, Bouattour A, Camicas JL, Walker AR. Ticks of veterinary and medical importance: the Mediterranean Basin: a guide of identification of species. Zaragoza: University of Zaragoza Press, 2004.
16. Apanaskevich DA, Horak IG. The genus *Hyalomma* Koch, 1844: V. re-evaluation of the taxonomic rank of taxa comprising the *H. (Euhyalomma) marginatum* Koch complex of species (Acari: Ixodidae) with redescription of all parasitic stages and notes on biology. *Int. J. Acarol*, 2008; 34: 13-42.
17. Fournier PE, Raoult D. Bacteriology, taxonomy, and phylogeny of rickettsia. In: Raoult D, Parola P, eds. *Rickettsial Diseases*. New York. Informa Healthcare, 2007:1-13.
18. Beati L, Meskini M, Thiers B, Raoult D. *Rickettsia aeschlimannii* sp. nov., a new spotted fever group rickettsia associated with *Hyalomma marginatum* ticks, *Int J Syst Bacteriol*, 1997; 47: 548-54.
19. Fournier PE, Takada N, Fujita H, Raoult D. *Rickettsia tamurae* sp. nov., isolated from *Amblyomma testudinarium* ticks. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2006; 56: 1673-75.
20. Kurtti TJ, Felsheim RF, Burkhardt NY, Oliver JD, Heu CC, Munderloh UG. *Rickettsia buchneri* sp. nov., a rickettsial endosymbiont of the blacklegged tick *Ixodes scapularis*. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2015; 65: 965-70.
21. Erenler AK, Kulaksiz F, Ülger H, Erdem M, Koçak C, Söylemez, et al. Characteristics of patients admitted to the emergency department due to tick bite. *Trop Doct*, 2014; 44: 86-88.
22. Keskin A, Keskin A, Bursali A, Tekin S. Ticks (Acari: Ixodida) parasitizing humans in Corum and Yozgat provinces, Turkey. *Exp Appl Acarol*, 2015; 67: 607-16.
23. Raoult D, Fournier PE, Abboud P, Caron F. First documented human *Rickettsia aeschlimannii* infection. *Emerg Infect Dis*, 2002; 8: 748-49.
24. Oteo JA, Portillo A. Tick-borne rickettsioses in Europe. *Ticks Tick Borne Dis*, 2012; 3: 271-78.
25. Anton E, Font B, Muñoz T, Sanfeliu I, Segura F. Clinical and laboratory characteristics of 144 patients with mediterranean spotted fever. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2003; 22: 126-28.
26. Mediannikov O, Parola P, Raoult D. Other tick-borne rickettsioses. In: Raoult D, Parola P, eds. *Rickettsial Diseases*. New York. Informa Healthcare, 2007:139-163
27. Parola P, Raoult D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis*, 2001; 32: 897-928
28. Rydkina E, Roux V, Fetisova N, Rudakov N, Gafarova M, Tarasevich I, et al. New rickettsiae in ticks collected in territories of the former Soviet Union. *Emerg Infect Dis*, 1999; 5: 811-14
29. Mediannikov O, Matsumoto K, Samoylenko I, Drancourt M, Roux V, Rydkina E, et al. *Rickettsia raoultii* sp. nov., a spotted fever group rickettsia associated with *Dermacentor* ticks in Europe and Russia. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2008; 58: 1635-39
30. Yu X, Jin Y, Fan M, Xu G, Liu Q, Raoult D. Genotypic and antigenic identification of two new strains of spotted fever group rickettsiae isolated from China. *J Clin Microbiol*, 1993; 31: 83-88
31. Parola P, Paddock CD, Raoult D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. *Clin Microbiol Rev*, 2005; 18: 719-56
32. Raoult D, Berbis P, Roux V, Xu W, Maurin M. A new tick-transmitted disease due to *Rickettsia slovaca*. *Lancet*, 1997; 350: 112-113
33. Rehacek J. *Rickettsia slovaca*, the organism and its ecology, *Acta Sci Nat Acad Sci Bohemoslov Brno*, 1984; 18: 1-50