

Investigation of *Coxiella burnetii* and *Ehrlichia canis* by Molecular Methods in Ticks Removed from Patients Admitted to Hospital with Tick Bite Complaints

Abdurrahman EKİCİ*¹, Esra GÜRBÜZ², Ahmed Galip HALİDİ³, Ahmet Hakan ÜNLÜ⁴, Selahattin AYDEMİR¹

¹Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Van, Turkey

²SBU Van Training and Research Hospital Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Van, Turkey

³Muş Alparslan University, Bulanık Vocational School, Muş, Turkey

⁴Van Yüzüncü Yıl University, Gevaş Vocational School, Department of Veterinary Medicine, Van, Turkey

ORCID ID: Abdurrahman EKİCİ: <https://orcid.org/0000-0001-6034-513X>; Esra GÜRBÜZ: <https://orcid.org/0000-0002-3123-0963>; Ahmed Galip HALİDİ: <https://orcid.org/0000-0002-1780-6671>; Ahmet Hakan ÜNLÜ: <https://orcid.org/0000-0003-3441-8504>; Selahattin AYDEMİR: <https://orcid.org/0000-0002-0941-2779>

Received: 17.12.2021

Accepted: 28.12.2021

Published online: 29.12.2021

Issue published: 31.12.2021

Abstract: Ticks have to suck blood from their hosts during their developmental stages, except for the egg period. They also transmit the pathogens to their host while feeding. A total of 100 ticks obtained from 42 female and 58 male patients admitted to a hospital were included in the study. After the morphological examination of the ticks, DNA extraction was performed. Conventional PCR for *Coxiella burnetii* and Nested-PCR for *Ehrlichia canis* were performed using species-specific primers. In the morphological examination, it was determined that all of the ticks belonged to the Ixodidae family and 95 (95%) were *Rhipicephalus sanguineus* and 5 (5%) were *Ixodes ricinus* species. *C. burnetii* was detected in 36 ticks and *E. canis* was found in 26 ticks out of 100 ticks included in the study. It was determined that 33 (91.67%) of the *C. burnetii* infected ticks were *R. sanguineus* and 3 (8.33%) were *I. ricinus*. It was also determined that 25 (96.15%) of the *E. canis* infected ticks were *R. sanguineus* and one (3.85%) was the *I. ricinus*. When the incidence of *C. burnetii* and *E. canis* was examined according to the place of residence of the patients, it was found that *C. burnetii* was seen at a higher rate in people living in rural areas and as a result of the statistical analysis, it was found that the difference was statistically significant. In conclusion, ticks pose a significant risk as vectors of *C. burnetii* and *E. canis*.

Keywords: Tick contact, PCR, Ixodidae, zoonosis.

Kene ısırığı şikâyetiyle Hastaneye Başvuran Hastalardan Çıkarılan Kenelerde *Coxiella burnetii* ve *Ehrlichia canis*'in Moleküler Yöntemlerle Araştırılması

Öz: Keneler, yumurta dönemleri hariç diğer gelişme safhalarında konaklarından kan emmek zorundadırlar. Beslendikleri esnada vektörlük yaptıkları patojenleri de konağa bulaştırırlar. Bu çalışmada kene ısırığı şikâyetiyle hastaneye başvuran hastalardan elde edilen kenelerde *Ehrlichia canis* ve *Coxiella burnetii* yaygınlığının moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlandı. Çalışmaya hastaneye başvuran 42 kadın ve 58 erkek hastadan elde edilen toplam 100 kene dâhil edildi. Keneler morfolojik olarak incelendikten sonra DNA ekstraksiyonları yapıldı. Türlerine özgü primerler kullanılarak *C. burnetii* için Konvansiyonel PCR ve *E. canis* için Nested-PCR yöntemi uygulandı. Yapılan morfolojik incelemede kenelerin tamamının Ixodidae ailesinden olduğu ve 95'nin (%95) *Rhipicephalus sanguineus*, 5'inin (%5) ise *Ixodes ricinus* türü olduğu saptandı. Çalışmaya dâhil edilen 100 kenenin 36'sında *C. burnetii*, 26'sında *E. canis* saptandı. *C. burnetii* ile enfekte kenelerin 33'ünün (%91,67) *R. sanguineus*, 3'ünün (%8,33) *I. ricinus* türü olduğu belirlendi. *E. canis* ile enfekte kenelerin 25' inin (%96,15) *R. sanguineus*, birinin (3,85) *I. ricinus* türü kene olduğu belirlendi. Hastaların ikamet ettiği yere göre *C. burnetii* ve *E. canis*'in görülme sıklığı incelendiğinde kırsal kesimde yaşayan insanlarda *C. burnetii*'nin daha yüksek oranda görüldüğü ve yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir fark olduğu saptandı. Sonuç olarak keneler *C. burnetii* ve *E. canis* vektörlükleri için önemli risk oluşturmaktadırlar.

Anahtar kelimeler: Kene teması, PCR, Ixodidae, zoonoz.

1. Giriş

Keneler, sivrisineklerden sonra, dünya çapında birçok insan ve hayvan patojeninin en önemli vektörleri olarak kabul edilmektedir (Abdelkadir et al., 2019). Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl bildirilen vektör kaynaklı hastalıkların yaklaşık %95'inden keneler sorumludur (Eisen et al., 2017). Dünyada 900 kene türü bulunmakta olup bunların yaklaşık 25 türü tıbbî ve veterinerlik açısından büyük önem taşımaktadır (Nava et al., 2009).

Keneler, yumurta dönemleri hariç diğer gelişme safhalarında konaklarından kan emmek zorundadırlar (Dumanli et al., 2016). Beslendikleri esnada vektörlük yaptıkları patojenleri de konağa bulaştırırlar. Keneler kanla beslenen diğer artropodlardan daha fazla patojen etkenleri konaklarına aktarırlar. Örneğin Kırım-kongo kanamalı ateşi, Lyme hastalığı, Rocky Mountain benekli ateşi, insan granülositik anaplazmoz, insan monositik anaplazmoz, kene kaynaklı ensefalit, babesiosis, theileriosis, ehrlichiosis, Q ateşi etkenlerini insanlara

*Corresponding author: abdurrahman2400@gmail.com

bulaştırırlar. Ayrıca, kene ısırıkları önemli miktarda kan kaybına, şiddetli toksik reaksiyonlara ve hatta kene felci nedeniyle konağının ölümüne neden olabilmektedir (Sonenshine & Roe, 2014; Gürbüz et al., 2021).

Keneler, hastalık etkenini transovarial, transstadial, venereal ve nonviremik nakil şekilleriyle yeni nesillerine veya bir sonraki gelişim evrelerine aktarabilir. Ayrıca keneler çiftleşme esnasında birbirlerini ve aynı konak üzerinde beslenen fakat enfekte olmayan keneleri de enfekte edebilirler. Böylece, kene ile bulaşan hastalıklar nesilden nesile, hatta birçok coğrafi bölgelere de aktarılabilmektedir. Bundan dolayı, kenelerin hayat döngülerini tamamlayana kadar kan emmek için yerleştikleri tüm canlılar risk altındadır (Aydın & Coşkun, 2019). Bu özellikleri ile keneler, özellikle Türkiye’yi de kapsayan tropik ve subtropik iklim kuşağında bulunan bölgelerde hem insan hem de hayvan sağlığını tehdit etmektedirler (Dumanlı et al., 2016).

Köpeklerde monositik ehrlichiosis *Ehrlichia canis*’in ve Q ateşi *Coxiella burnetii*’nin neden olduğu kene kaynaklı hastalıklardır. Zorunlu hücre içi gram negatif bakteri olan *E. canis*, evcil-vaşhi köpeklerin ve nadiren de insanların monositlerini enfekte eder. Kahverengi köpek kenesi *Rhipicephalus sanguineus*, *E. canis*’in birincil vektörüdür (Ayan et al., 2020; Santoro et al., 2016). Keneler arasında *Ehrlichia* bulaşı, transstadial geçiş ile mümkünken, transovaryal geçiş ile mümkün değildir. *E. canis*’in daha önce sadece köpekleri enfekte ettiği düşünülüyordu ancak, Venezuela’da bir grup asemptomatik insandan da izole edilip moleküler olarak tanımlanmıştır. Böylece *E. canis*, insanlar için de klinik hastalıkların potansiyel bir ajanı olarak düşünülmüştür (Laušević et al., 2019). *E. canis*, Akdeniz’e kıyısı olan tüm Avrupa ülkelerinde endemiktir (Santoro et al., 2016).

Coxiella burnetii küçük, pleomorfik, hareketsiz, kapsüllenmemiş, gram negatif zorunlu hücre içi bir bakteridir. *C. burnetii*, insanlarda zoonotik bir hastalık olan Q ateşinden sorumlu patojendir. İnsanlarda *C. burnetii* enfeksiyonu asemptomatik veya semptomatik olabilirken kendini sınırlayan ateşli hastalık, akut Q ateşi (atipik pnömoni, hepatit) ve kronik Q ateşi (endokardit) şeklinde hastalığın üç farklı klinik formu mevcuttur. Hastalık insanlara daha çok *C. burnetii* ile kontamine olmuş havanın solunması ile bulaşmaktadır. Bunun dışında, enfekte koyun, keçi veya sığırlarla doğrudan temas yoluyla veya bu enfekte hayvanların idrarları, dışkıları ve doğum sonrası atıklarına dolaylı olarak teması ile de bulaşabilmektedir. Ayrıca, *C. burnetii* enfeksiyonlarının pastörize edilmemiş süt ürünlerinden, kan transfüzyonundan ve korunmasız cinsel ilişkiden de bulaşabileceği bildirilmiştir (Cikman et al., 2017).

2007-2010 yılları arasında Hollanda’da 3500’den fazla kişiyi etkileyerek rapor edilen en büyük Q ateşi salgını, dikkatleri keneler üzerine çekerek sağlık kurumları arasında yeniden önem kazanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Q ateşini “önemi artan bir enfeksiyon” olarak tanımlamıştır (Cikman et al., 2017).

Bu çalışmanın amacı kene ısırığı şikâyetiyle hastaneye başvuran insanlarda bulunan kenelerde *Ehrlichia canis* ve *Coxiella burnetii* yaygınlığının moleküler yöntemlerle araştırılmasıdır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Kene toplama ve morfolojik tanımlama

Çalışma için Muş Alparslan Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulunda izin alındı (29.12.2020/27). Çalışmaya kene ısırığı şikâyetiyle Mayıs 2020- Eylül 2021 tarihleri arasında Kelkit Devlet Hastanesine başvuran 42 kadın ve 58 erkek hastadan elde edilen 100 kene dâhil edildi. Keneler Estrada-Pena ve ark. (2004) tarafından tanımlanan teşhis anahtarlarına göre identifiye edildi.

2.2. DNA ekstraksiyonu

Keneler DNA ekstraksiyonuna başlanmadan önce ependorf tüplere alınarak dondur çözündür işlemine tabi tutuldu. Ependorf içerisindeki keneler steril bir çubuk ile ezildi. Daha sonra DNA izolasyon kiti kullanılarak (İnvitrogen, ABD) üretici firmanın protokolüne uygun bir şekilde DNA ekstraksiyonu yapıldı. DNA örnekleri PCR yapılabilmek üzere -20°C’de saklandı.

2.3. *Coxiella burnetii* için konvesiyonel PCR amplifikasyonu

Coxiella burnetii’yi saptamak için IS1111 geninin 687 bp uzunluğundaki bölgesini çoğaltan Trans1 (5’-TATGTATCCACCGTAGCCAGTC-3’) ve Trans2 (5’-CCCAACAACACCTCCTTATTC-3’) primerleri kullanıldı (Mares-Guia et al., 2014). Amplifikasyon, her biri 95°C’de 30 sn, 60°C’de 30 sn, 72°C’de 1 dk olmak üzere, toplam 35 döngü olarak programlandı. İlave olarak birinci döngü öncesi 95°C’de 15 dk denatürasyon aşaması, son döngüyü takiben de 72°C’de 7 dk ekstansiyon aşaması uygulandı.

2.4. *Ehrlichia canis* için Nested-PCR amplifikasyonu

Ehrlichia canis’i saptamak için Nested-PCR yapıldı. Nested-PCR’in birinci aşamasında; 477 bp’lik DNA bölgesini çoğaltan, *Ehrlichia* spp’nin 16S rRNA gen bölgesine spesifik ECC (5’-AGAACGAACGCTGGCGGCAAGC-3’) ve ECB (5’-CGTATTACCGGGCTGCTGGCA-3’) primerleri kullanıldı (Rojas-Triviño et al., 2013). Nested PCR’in ikinci aşamasında 365 bp’lik bölgeyi çoğaltan, *E. canis*’e spesifik ECAN5 (5’-CAATTATTATAGCCTCTGGCTATAGGA-3’) ve HE3 (5’-TATAGGTACCGTCATTATCTCCCTAT-3’) primerleri kullanıldı. Nested-PCR’in birinci aşamasında amplifikasyon, her biri 95°C’de 90 sn, 55°C’de 90 sn, 72°C’de 90 sn olmak üzere, toplam 37 döngü olarak programlandı. Nested-PCR’in ikinci aşamasında ise amplifikasyon, her biri 95°C’de 1 dk, 55°C’de 1 dk, 72°C’de 1 dk olmak üzere, toplam 40 döngü olarak programlandı. Her iki PCR aşamasında da ilave olarak birinci döngü öncesi 95°C’de 15 dk denatürasyon aşaması, son döngüyü takiben de 72°C’de 10 dk ekstansiyon aşaması uygulandı.

Daha sonra %1.5’luk agaroz jel hazırlanıp Safe-T-Stain (BioShop, Canada) ile boyandı. Ardından PCR ürünleri agaroz jelde yürütülüp elde edilen görüntülere göre pozitiflikler belirlendi.

2.5. İstatistiksel analiz

Tanımlayıcı istatistikler, sürekli değişkenler için ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum olarak, kategorik değişkenler için sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Sürekli değişkenler bakımından, bağımsız iki grup karşılaştırmalarında, normal dağılım koşulu sağlanan

durumlarda T-Test, normal dağılım koşulu sağlanmayan durumlarda Mann Whitney U test istatistiği kullanıldı. Kategorik değişkenler Ki-kare testi ile karşılaştırıldı. İstatistiksel analizler SPSS 22.0 versiyonu ile yapıldı ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

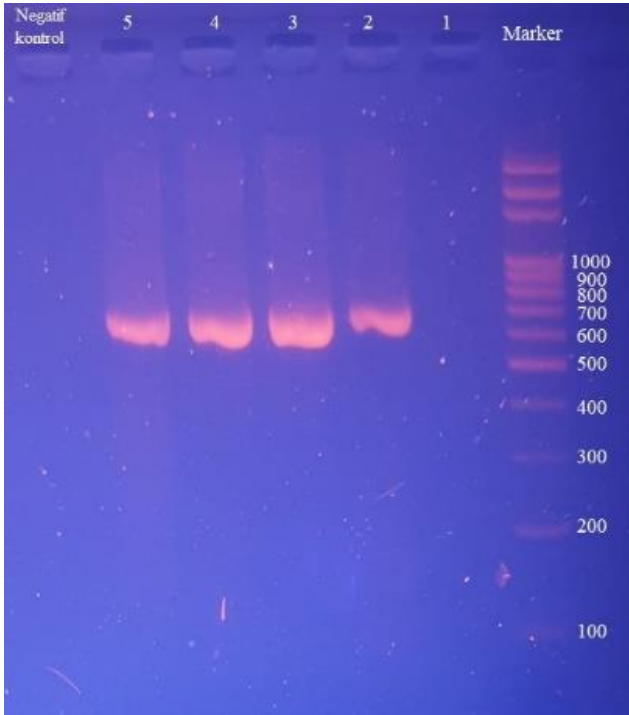
3. Bulgular

Hastalardan toplanan 100 kenenin tamamının Ixodidae ailesinden olduğu ve 95'nin (%95) *Rhipicephalus sanguineus*, 5'inin (%5) ise *Ixodes ricinus* türü olduğu belirlendi. PCR sonucunda 100 kenenin 36'sında *Coxiella burnetii* (Şekil 1), 26'sında *Ehrlichia canis* (Şekil 2) saptandı. *C. burnetii* ile enfekte kenelerin 33'ünün (%91.67) *R. sanguineus*, 3'ünün (%8.33) *I. ricinus* türü olduğu belirlendi. *E. canis* ile enfekte kenelerin 25'inin (%96.15) *R. sanguineus*, 1'inin (3.85) *I. ricinus* türü kene olduğu belirlendi (Tablo 1).

Tablo 1. Kene türlerinde *Coxiella burnetii* ve *Ehrlichia canis* görülme sıklığı

Table 1. Incidence of *Coxiella burnetii* and *Ehrlichia canis* in tick species

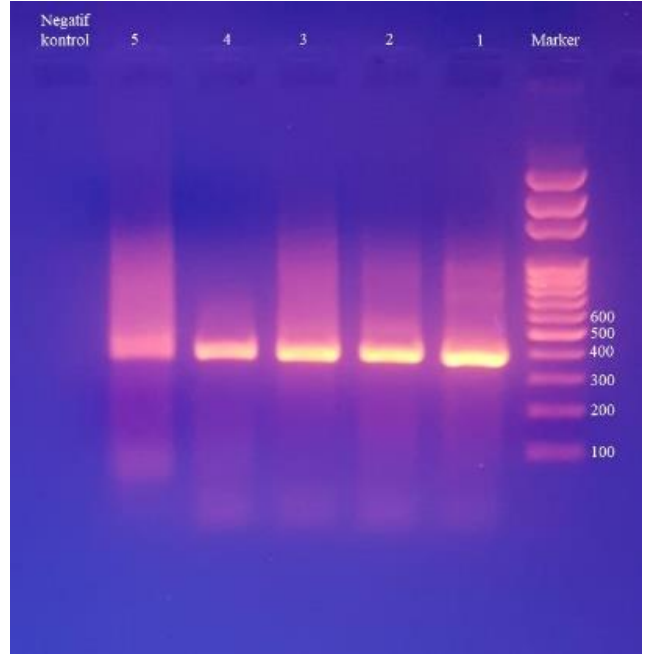
Kene Türü (n)	<i>C. burnetii</i> n (%)	<i>E. canis</i> n (%)
<i>R. sanguineus</i> (95)	33 (34,7)	25 (26,3)
<i>I. ricinus</i> (5)	3 (60)	1 (20)
Toplam (100)	36 (36)	26 (26)



Şekil 1. *Coxiella burnetii* pozitif örnekler için agaroz jel görüntüsü

Figure 1. Agarose gel image of positive samples of *Coxiella burnetii*

Bu çalışmada hastaların ikamet ettiği yere göre *Coxiella burnetii* ve *Ehrlichia canis*'in görülme sıklığı incelendiğinde kırsal kesimde yaşayan insanlarda *C. burnetii*'nin daha yüksek oranda görüldüğü ve yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir fark olduğu saptandı (Tablo 2). *E. canis*'in ise hastaların ikamet ettiği yere göre görülme sıklığında anlamlı bir farkın olmadığı belirlendi.



Şekil 2. *Ehrlichia canis* pozitif örnekler için agaroz jel görüntüsü

Figure 2. Agarose gel image of positive samples of *Ehrlichia canis*

Tablo 2. *Coxiella burnetii* sıklığının yerleşim yerine göre değerlendirilmesi

İkamet yeri	<i>C. burnetii</i>		P değeri
	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	
Kırsal (n: 51)	21 (41.2)	30 (58.8)	<0.05
Kentsel (n: 49)	15 (30.6)	34 (69.4)	
Toplam	36 (36)	64 (64)	

4. Tartışma

Keneler dünyanın hemen her yerinde görülebilmektedir. Kene teması özellikle iklim şartlarının uygun olduğu ve hayvancılığın yaygın olarak yapıldığı bölgelerde artmaktadır (Çıtıl et al., 2020). Ülkemiz, kenelerin rahatlıkla yerleşerek üreyebilecekleri ve yayılım sağlayabilecekleri iklim ve coğrafi koşullara sahip olmasına rağmen, Türkiye'deki kene türleri hakkında çok az taksonomik bilgi bulunmaktadır (Yücesan et al., 2019). Türkiye'nin kene faunası, Ixodidae ailesinde altı soyda 39 tür ve Argasidae ailesinde üç soyda sekiz tür olmak üzere toplam 47 türden oluşmaktadır (İnci et al., 2016). Bu kene türleri ülkenin yedi bölgesinde dağılım göstermekle birlikte *Ixodes* türleri daha çok ülkenin kuzeyinde görülmektedir (Aydın & Bakırcı, 2007). Bu çalışmada Ixodidae ailesinden *Ixodes* ve *Rhipicephalus* soylarından kene türleri belirlenmiştir. Belirlenen bu soylar insan tutulumu açısından sık karşılaşılan soylar olduğu diğer çalışmalarda da bildirilmiştir (İnci et al., 2016; Yücesan et al., 2019).

Ixodidae ailesine bağlı keneler insan ve hayvan sağlığını etkileyen çok sayıda hastalık etkenine vektörlük yapma potansiyeline sahiptirler (Yücesan et al., 2019). Bu etkenler arasında zoonotik önemi olan *Coxiella burnetii* (Cikman et al., 2017) ve son zamanlarda zoonoz olduğu düşünülen *Ehrlichia canis* (Laušević et al., 2019) bakterileri de yer almaktadır.

Ülkemizde kene temas öyküsü olan veya veteriner hekim ve kasap gibi risk grubunda bulunan insanlarda *Coxiella burnetii* seropozitifliğinin araştırıldığı çalışmalarda %10-%42.2 oranlarında faz II IgG seropozitifliği saptanmıştır (Eygör et al., 2006; Arabacı et al., 2017; Ertürk et al., 2017; Kireççi & Uğuz, 2019). Bu oranlar keneler ile insanlara bulaşan *C. burnetii*'nin kenelerin bulaştaki önemini bir kez daha ortaya koymaktadır. Ancak bu alanda ülkemizde sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Samsun, Sinop, Ordu, Giresun, Trabzon, Amasya, Tokat ve Sivas illerindeki sığır ve koyunlarda toplanan kenelerin %2.71'inde PCR yöntemi ile *C. burnetii* varlığı saptanmıştır (Kılıçoğlu et al., 2020). Türkiye'nin 38 ilinden toplanan kenelerdeki *C. burnetii* varlığının araştırıldığı çalışmada kenelerin 1-7 adedi bir araya getirilerek gruplandırılmış ve Denizli'ye ait 56 kene grubunun altısında ve Ankara'ya ait 53 kene grubunun birinde PCR yöntemi ile *C. burnetii* varlığı saptanmıştır (Altay et al., 2013). Ülkemizde daha önce insanlar üzerinde toplanan kenelerde *C. burnetii* varlığını araştıran herhangi bir çalışma yapılmamış olup, bu çalışmada ise insanlar üzerinden toplanan kenelerin %36'sında *C. burnetii* saptanmıştır. Belirlenen oran ve kene temas öyküsü olan veya veteriner hekim ve kasap gibi risk grubunda olan insanlarda *C. burnetii* seropozitifliğinin araştırıldığı çalışmalar bulaş riskinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Köpek, kedi ve kemirgenler *Ehrlichia* türlerinin doğal rezervuarlarıdır. *Rhipicephalus sanguineus* kene türünün enfekte hayvanlardan kan emmesi ve daha sonra insanlarda konaklaması sonucu insanlar enfekte olabilir. Vektörle bulaşan hastalıklar şüphesi olan 250 hasta, kan serumunun analiz edildiği bir çalışmada 64 hastanın serumunda *E. canis* saptanmıştır. Çalışmada ehrlichiosis enfeksiyonundan sonra bağışıklık sistemi ile ilgili sorunların geliştiği de bildirilmiştir (Andrić, 2014). Çalışma dikkate alındığında zoonoz önemi olan bu bakterinin kenelerdeki yaygınlığı önem kazanmaktadır. Edirne, Kırklareli, Tekirdağ ve İstanbul köpeklerinde toplanan kenelerin %21.25'inde (27/127) (Çetinkaya et al., 2016), Van köpeklerinde toplanan kenelerin %22.72'sinde (50/220) (Ayan et al., 2020) *E. canis* saptanmıştır. Ülkemizde insanlar üzerinde toplanan kenelerde *E. canis* varlığını araştıran herhangi bir çalışma yapılmamış bu çalışmada ise insanlar üzerinden toplanan kenelerin %26'sında *E. canis* saptanmıştır. Gerek köpeklerden toplanan kenelerde belirlenen oran (Çetinkaya et al., 2016; Ayan et al., 2019) gerekse bu çalışmada belirlenen oran *E. canis*'in ülkemizdeki kenelerde yaygın olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak keneler, *Coxiella burnetii* ve *Ehrlichia canis* vektörlükleri için önemli risk oluşturmaktadırlar. Bundan dolayı özellikle hastalığın artış gösterdiği yaz aylarında şüpheli klinik bulgularla gelen hastalarda hayvanlarla temas ve kene tutunması öyküsü mutlaka sorgulanmalı ve muayenede kene aranmalıdır. Ayrıca kene vektörlüğü riskinden dolayı kenelerin tutundukları yerden çıkarılması işleminin mutlaka uzman sağlık personeli tarafından yapılması konusunda halk bilinçlendirilmelidir. Bu hastalıkların endemik olarak görüldüğü kırsal kesimlerde yaşayan insanlara ve özellikle çiftçilik-hayvancılık ile uğraşan kişilere bilgilendirme toplantıları, görsel ve medya aracılığı ile duyurular yapılarak kene vektörlükleri ve kene teması

hakkında farkındalık arttırılmalıdır.

Etik kurul onayı: Bu çalışma için, Muş Alparslan Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulunda izin alınmıştır (29.12.2020/27).

Çıkar çatışması: Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

Kaynaklar

- Abdelkadir, K., Palomar, A.M., Portillo, A., Oteo, J.A., Ait-Oudhia, K., & Khelef, D. (2019). Presence of *Rickettsia aeschlimannii*, *Candidatus Rickettsia barbariae* and *Coxiella burnetii* in ticks from livestock in Northwestern Algeria. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 10(4), 924-928. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.04.018>
- Altay, Ç.G., Zişan, E., Canpolat, S., Vatansever, Y., & Düzgün, A. (2013). Detection of *Coxiella burnetii* from ticks by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 60(4), 263-268. https://doi.org/10.1501/Vetfak_0000002590
- Andrić, B. (2014). Diagnostic evaluation of *Ehrlichia canis* human infections. *Open Journal of Medical Microbiology*, 4, 132-139. <https://doi.org/10.4236/ojmm.2014.42015>
- Arabacı, P., Ekşi, F., & Bayram, A. (2017). Investigation of *Brucella* and *Coxiella burnetii* antibodies among humans at risk and control groups living in Southeastern Turkey. *European Journal of Therapeutics*, 23(3), 111-116. <https://doi.org/10.5152/EurJTher.2017.65>
- Ayan, A., Kilinc, O., Erdogan, S., Akyildiz, G., Bia, M.M., & Lee, D. (2020). High prevalence of *Ehrlichia canis* in dogs in Van, Turkey. *Applied Ecology and Environmental Research* 18(1), 1953-1960. https://doi.org/10.15666/aecer/1801_19531960
- Ayan, A., Kilinc, O., Yılmaz, A., & Babaoğlu, A. (2019). Prevalence of *Ehrlichia* spp in ticks collected from dogs in province of Van in Turkey. *International Journal of Ecosystems and Ecology Science*, 9 (3), 537-542. <https://doi.org/10.31407/ijees9317>
- Aydın, M.F., & Coşkun, A. (2019). İnsanlarda kene ile bulaşan hastalık etkenleri ve Türkiye'deki durumu. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, 4(1), 26-32. <https://doi.org/10.31797/vetbio.486679>
- Aydın, L., & Bakirci, S. (2007). Geographical distribution of ticks in Turkey. *Parasitology research*, 101(2), 163-166. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0694-5>
- Cetinkaya, H., Matur, E., Akyazi, I., Ekiz, E.E., Aydın, L., & Toparlak, M. (2016). Serological and molecular investigation of *Ehrlichia* spp. and *Anaplasma* spp. in ticks and blood of dogs, in the Thrace Region of Turkey. *Ticks and tick-borne diseases*, 7(5), 706-714. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.02.021>
- Cikman, A., Aydın, M., Gulhan, B., Karakeçili, F., Ozcicek, A., Kesik, O. A., ... & Gültepe, B. (2017). The seroprevalence of *Coxiella burnetii* in Erzincan, Turkey: Identification of the risk factors and their relationship with geographical features. *Journal of Vector Borne Diseases*, 54(2), 157-163. <https://www.jvbd.org/text.asp?22017/54/2/157/211691>
- Çıtlı, R., Çolak, İ.Y., Mehmet, E., & Önder, Y. (2020). 2012-2018 yılları arasında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversite Hastanesi Acil Servisine kene teması ile başvuran olguların epidemiyolojik incelenmesi. *Journal of Contemporary Medicine*, 10(2), 253-260. <https://doi.org/10.16899/jcm.717429>
- Dumanlı, N., Altay, K., & Aktas, M. (2016). Keneler ve kenelerle taşınan hastalıklar. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 6(2), 45-54.
- Eisen, R.J., Kugeler, K.J., Eisen, L., Beard, C.B., & Paddock, C.D. (2017). Tick-borne zoonoses in the United States: persistent and emerging threats to human health. *Institute of Laboratory Animal Resources journal*, 58(3), 319-335. <https://doi.org/10.1093/ilar/ilx005>
- Ertürk, R., Poyraz, Ö., & Güneş, T. (2017). Serosurvey of *Coxiella burnetii* in high risk population in Turkey, endemic to Crimean-Congo haemorrhagic fever virus. *Journal of Vector Borne Diseases*, 54(4), 341. 347.
- Estrada-Pena, A., Bouattour, A., Camicas, J.L., & Walker, A.R. (2004). Ticks of domestic animals in mediterranean region. A guide to identification of species. London, UK. Bioscience Reports.
- Eygör, M., Kirkan, Ş., Gültekin, B., Yaman, S., Tekbıyık, S., & Aydın, N. (2006). Q humması için risk gruplarında *Coxiella burnetii*'ye karşı oluşan antikorların ELISA ve IFA testleri ile saptanması. *İnfeksiyon Dergisi*, 20(1), 31-36.
- Gürbüz, E., Ekici, A., Ünlü, A.H., & Yılmaz, H. (2021). Evaluation of seroprevalence and clinical and laboratory findings of patients admitted to health institutions in Gümüşhane with suspicion of

- Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 51(4), 1825-1832. <https://doi.org/10.3906/sag-2001-82>
- İnci, A., Yıldırım, A., & Düzlü, Ö. (2016). The current status of ticks in Turkey: A 100-year period review from 1916 to 2016. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 40(3), 152-157. <https://doi.org/10.5152/tpd.2016.4844>
- Kılıçoğlu, Y., Çağırın, A.A., Serdar, G., Kaya, S., Durmaz, Y., & Gur, Y. (2020). Molecular investigation, isolation and phylogenetic analysis of *Coxiella burnetii* from aborted fetus and ticks. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 73, 101571. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101571>
- Kireççi, E., & Uğuz, M. T. (2019). Kahramanmaraş ilindeki risk gruplarında *Coxiella burnetii*'ye karşı oluşan faz II IgG antikorlarının serolojik olarak incelenmesi. *Sağlık Akademisi Kastamonu*, 4(2), 90-97. <https://doi.org/10.25279/sak.506991>
- Laušević, D., Ilić, T., Nenadović, K., Bacić, D., & Obrenović, S. (2019). Seroprevalences of *Rickettsia conorii*, *Ehrlichia canis* and *Coxiella burnetii* in dogs from Montenegro. *Acta Parasitologica*, 64(4), 769-778. <https://doi.org/10.2478/s11686-019-00098-w>
- Mares-Guia, M.A.M.M., Rozental, T., Guterres, A., Gomes, R., Almeida, D.N.D., Moreira, N.S., ... & Lemos, E.R.S.D. (2014). Molecular identification of the agent of Q fever-*Coxiella burnetii*-in domestic animals in State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 47, 231-234. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0076-2013>
- Nava, S., Guglielmo, A.A., & Mangold, A.J. (2009). An overview of systematics and evolution of ticks. *Frontiers in Bioscience*, 14(8), 2857-2877. <https://doi.org/10.2741/3418>
- Rojas-Triviño, A., Rueda-Hurtado, A., Diaz-Molano, D., Mesa-Cobo, N.C., Benavides-Montaño, J.A., Imbachi-López, K., ... & López-Bermúdez, R. (2013). Identificación de *Ehrlichia canis* (Donatien & Lestoquard) Moshkovski mediante PCR anidada. *Veterinaria y Zootecnia*, 7(1), 37-48.
- Santoro, M., Veneziano, V., D'Alessio, N., Di Prisco, F., Lucibelli, M.G., Borriello, G., ... & Galiero, G. (2016). Molecular survey of *Ehrlichia canis* and *Coxiella burnetii* infections in wild mammals of southern Italy. *Parasitology Research*, 115(11), 4427-4431. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5213-0>
- Sonenshine, D.E., & Roe, R.M. (2014). Overview: ticks, people and animals. In *biology of ticks*. New York, Oxford University Press., pp. 3-16.
- Yücesan, B.Ç., Babür, C., Sezen, F., & Nalbantoğlu, S. (2019). Ankara'da insana tutunan kene türleri: Tür çeşitliliği, konak özellikleri ve coğrafi dağılımı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 76, 3-14. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2019.44452>