

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ (VETERİNER)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**AYDIN İLİ KÖPEKLERİNDE BULUNAN HEPATOZoon
CANİS'İN TEŞHİSİNDE MİKROSKOBİK VE PCR
BULGULARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

MUHAMMED VELİ DEMİRBİLEK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nuran AYSUL

AYDIN-2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji (Veteriner) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Muhammed Veli DEMİRBİLEK tarafından hazırlanan “AYDIN İLİ KÖPEKLERİNDE BULUNAN HEPATOOON CANİS’İN TEŞHİSİNDE MİKROSKOBİK VE PCR BULGULARININ KARŞILAŞTIRILMASI” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: / / 2019

Üye (T.D.) :

Üye :

Üye :

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cavit KUM

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Nuran AYSUL'a çok teşekkür ederim.

Dr. Metin PEKAĞIRBAŞ ve Dr. Asude G. GÜLER başta olmak üzere bütün Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üye ve elemanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Sekans sonuçlarının değerlendirilmesindeki desteklerinden dolayı Dr. Öğr. Üyesi Emrah ŞİMŞEK'e ayrıca teşekkür ederim

Yüksek lisans eğitimim boyunca beraber yürüdüğüm beni yalnız bırakmayan Nizamettin BİNGÖL'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmam süresince gösterdiği sabır, özveri ve destekleri için Gözde AKSU'ya ayrıca teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
RESİMLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Prevalans.....	6
2.2 Yaşam Döngüsü.....	11
2.3.1. Klinik Bulgular	17
2.3.2. Patolojik Bulgular	20
2.4. Teşhis.....	21
2.5. Tedavi	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. Mikroskopik Teşhis	25
3.2. DNA ekstraksiyonu	25
3.3. PCR.....	26
3.3.1. Sekans ve filogenetik analizleri	27
4. BULGULAR	29
4.1. Moleküler Bulgular	30
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR.....	44
ÖZGEÇMİŞ.....	54

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALP	: Alkalen fosfataz
ALT	: Alanin aminotransferaz
Aptt	: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
ELISA	: Enzim-linked Immunosorbent assay
IFAT	: İndirekt fluoresan antikor testi
Ig G	: Immun globülin G
Ig M	: Immun globülin M
MPV	: Ortalama trombosit hacmi
PCR	: Polimeraz zincir tepkimesi
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µl	: Mikrolitre
bp	: Baz çifti
Dk	: Dakika
ssRNA	: Small subunit RNA
tRNA	: Taşıyıcı RNA

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>H. canis</i> ' in yaşam döngüsü.....	11
Şekil 2. Köpeklerde <i>Hepatozoon</i> spp. Biyolojisi	14
Şekil 3. <i>H. canis</i> ile deneysel enfeksiyon sırasındaki olayların sırası.....	17
Şekil 4. Veri setine dahil edilen <i>Hepatozoon</i> spp. izolatlarının 18S rRNA gen bölgesinin çoklu hizalamaları ve nükleotid kıyaslamaları.....	31
Şekil 5. Veri setine dahil edilen <i>Hepatozoon</i> spp. izolatlarının 18S rRNA gen bölgesinin nükleotit sekans farklılıklarının ikili karşılaştırmaları	37
Şekil 6. <i>Hepatozoon</i> spp. izolatları arasındaki filogenetik ilişkiler.....	38

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Nötrofil içinde boyanmış <i>H.canis</i> gamontları.....	5
Resim 2. <i>Hepatozoon</i> spp. cinsine spesifik primerler ile pozitif bulunan örneklerin agaroz jel elektroforez görüntüleri. M: DNA cetveli (100bp) 2: Pozitif kontrol 1, 3, 4 : pozitif örnekler 5: Negatif kontrol (su)	29



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>Hepatozoon canis</i> enfeksiyonunun bazı ölkelerdeki yayılışı	7
Tablo 2. <i>Hepatozoon canis</i> enfeksiyonunun Türkiye’de bazı illerdeki yaygınlığı.....	9
Tablo 3. Kan Alınan Köpeklerin Yaş ve Cinsiyet Dağılımı	25



ÖZET

AYDIN İLİ KÖPEKLERİNDE BULUNAN HEPATOOZON CANİS'İN TEŞHİSİNDE MİKROSKOBİK VE PCR BULGULARININ KARŞILAŞTIRILMASI

**DEMİRBİLEK M.V. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Parazitoloji (Veteriner) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2019.**

Hepatozoon canis köpeklerde ölümle sonuçlanabilen hastalık tablosuna neden olan kene kaynaklı protozoal bir parazittir. Bu çalışmada Aydın ilindeki sahipli köpeklerde *Hepatozoon canis*'in varlığının mikroskopik ve PCR ile belirlenerek iki teşhis yönteminin sonuçlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi'ne gelen köpeklerden toplanan kan örneklerinden ince yayma preparatlar hazırlanarak mikroskopik olarak incelenmişlerdir. Aynı örneklerden DNA ekstraksiyonu yapılarak parazite ait DNA varlığı PCR ile incelenmiş, elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Mikroskopik incelemede hiçbir kan örneğinde *H.canis* gamontuna rastlanmaz iken PCR ile üç kan örneğinde pozitiflik saptanmıştır.

Ülkemizde köpeklerde hepatozoonosis'in prevalansı hakkında daha önce yapılan çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışma ile de köpek hepatozoonozisi'nin tanı ve tedavi prosedürlerinin geliştirilmesi açısından katkı sağlanacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Hepatozoon canis*, Aydın, PCR.

ABSTRACT

COMPARISON OF MICROSCOPIC AND PCR FINDINGS IN THE DIAGNOSIS OF HEPATOOZON CANIS OF DOGS IN AYDIN

Demirbilek M.V. Aydın Adnan Menderes University Health Sciences Institute of Parasitology (Veterinary) Program, Master's Thesis, Aydın, 2019.

Hepatozoon canis is a tick-borne protozoal parasite that causes fatal disease in dogs. In this study, the presence of *Hepatozoon canis* in dogs in Aydın will be determined by microscopic examination and PCR. It is aimed to compare the results of two diagnostic methods. Blood smears have been prepared from samples collected from dogs brought to Aydın Adnan Menderes University Veterinary Faculty Animal Hospital for microscopic examination. And also the same samples were investigated by PCR presence of *H.canis* and the results compared. As a result there were no parasite gamonts detected by microscobic examination while three samples found to be positive by PCR.

There are other studies about hepatozoonosis in Turkey. Taken together this studys findings are contribute to the development of diagnostic and treatment procedures.

Keywords: *Hepatozoon canis*, Aydın, PCR

1. GİRİŞ

Eski çağlardan günümüze kadar hemen hemen her toplumda insanlarla köpekler arasında yakın ilişki olduğu bilinmektedir. Tarih boyunca arkeolojik verilerde ve yazılı kaynaklarda köpeklerin görülmesi insanoğluna en yakın hayvanın köpekler olduğunu doğrular niteliktedir. İnsan ve köpek arasındaki iletişim zamanla hayvana üstünlük kurma, ondan besin bulma ve taşımacılıkta yararlanma, karşılıklı sahiplenme gibi farklı şekillerde ilerlemiştir (Duymuş H. , 2014). İnsan nüfusundan sonra dünyaya yayılmış en fazla canlı türü popülasyonu köpektir ve insan nüfusunun % 10' una denk gelmektedir. Günümüzde de korunma, avlanma, arkadaşlık ve rehber köpek gibi paylaşımlarından dolayı insan ve köpek ilişkisi oldukça yoğun olarak devam etmektedir. İnsanoğlunun beraber yaşamak zorunda olduğu hayvanların başında geldiği varsayılan köpeklerin hastalıkları bu anlamda büyük önem arz etmektedir (Dodurga T. , 2009).

Köpek hepatozoonozisi keneler tarafından taşınan *Hepatozoon* cinsine bağlı türlerin neden olduğu protozoel bir hastalıktır. Apikompleksa şubesinde yer alırlar diğer kan paraziti piroplazmalar ve sıtma etkenleri ile yakınlık gösterirler (Barta, 2001; Baneth ve ark., 2003).

Hepatozoon cinsinde yer alan türler 1900 lü yılların sonunda yapılan derlemede 312 tane bildirilmiştir (Smith , 1996). Daha sonraki yıllarda 24 tür daha ilave edilmiş veya yeniden isimlendirilmiştir (Vincent-Johnson ve Arkadaşları, 1997; Kruszcwicz ve Dyrzc, 2000; Telford ve Arkadaşları., 2001, 2002 a,b, 2005a,b, 2008; Paperna ve Arkadaşları., 2002; Jakes ve Arkadaşları., 2003; Abd-Allah Shazly, 2003; Sloboda ve Ark., 2007; Kubo ve Ark., 2008; Breshears ve Ark.,2009; Telford, 2010). Günümüzde kabul gören sınıflandırmada *Hepatozoon* cinsinde 340'dan fazla tür olduğu ve bunlardan *H. canis* ve *H. americanum*'un köpekleri enfekte ettiği ve köpek hepatozoonozisi'ne neden olduğu kabul edilmektedir (Smith TG ,1996 ; Baneth G. 2011). Öte yandan son yıllarda moleküler çalışmalarla köpeklerde yeni genotiplerin varlığı da bildirilmiştir (Aydın M.F., 2015; Orkun Ö., 2018).

Hepatozoon canis ülkemizde de varlığı bildirilmiş olan, köpeklerde klinik enfeksiyon oluşturan köpek hepatozoonozisine neden olur ve kozmopolit bir yayılım göstermektedir (Ezekoli ve Ark., 1983; Elias ve Homans, 1988 ; Murata ve Ark., 1991 ; Hervas ve Ark., 1995 ; Baneth ve Ark.,1995 ; Güven E., 2017). Kanin hepatozoonozis'in klinik bulguları etkenin

suşuna, konağın beslenme durumuna ve bağışıklık gibi diğer faktörlere bağlıdır. Enfeksiyon sıklıkla görülen düşük parazitemi durumlarında subklinik bir seyir gösterirken parazit genellikle konağına iyi uyum sağlar ve %1-5 gibi düşük, ancak uzun süreli parazitemi oluşturur (Little ve Ark., 2009; Baneth , 2011). Yüksek parazitemi söz konusu olduğunda ateş, uyuşukluk ve anemi ile seyreden şiddetli ve ölümcül bir tabloya kadar değişkenlik gösterebilir ve bu durumda parazitemi dolaşımdaki nötrofillerin %100'üne yaklaşır. Yüksek parazitemi etkilenen doku ve immun sisteme zarar verir, enfekte köpeğin iştahı yerinde olmasına rağmen ileri derece zayıflık gelişir (Yıldız K., 2007).

Hepatozoon canis ilk defa Hindistan'da bir köpek kanında mikroskopik olarak tespit edilmiş ve *Leukocytozoon canis* adı verilmiştir (James S.P., 1905).

Hepatozoon americanum, vektörü *Amblyomma maculatum*'un sadece Güney Amerika'da bulunmasından dolayı yayılımı Güney Amerka ile sınırlı olup diğer eski dünya ülkelerinde varlığı bildirilmemiştir (Little ve Ark., 2009).

Etken esas olarak vektör kenelerin ağız yoluyla alınması ve sindirilmesiyle bulaşır. Asya, Avrupa, Afrika ve Brezilya'da kahverengi köpek kenesi olarak bilinen *Rhipicephalus sanguineus*, Güney Amerika'da ise *A. maculatum* *H. americanum*'un bulaşmasından sorumlu kenelerdir. Hastalığın bulaşmasında kenenin nimf ve ergin dönemlerinde transstadial geçiş söz konusudur ayrıca transplasental geçiş de bildirilmiştir (Baneth G., 2001). Diğer köpek hepatozoonozis etkeni *H. americanum*'un bulaşmasında enfekte küçük av hayvanlarının yenmesi ile de bulaşabileceği bildirilirken *H. canis* için bu bulaş yolu bulunmamaktadır (Baneth, 2011).

Hepatozoon canis' in esas ara konakları evcil köpeklerdir ancak konak spektrumunun genişliği henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Pek çok yabani kanidelerin *H.canis* veya bunların benzeri protozoonlarla enfekte oldukları bilinmektedir. Kırmızı tilki, yengeç yiyen tilki, siyah çakal, altın çakal, yaban Afrika köpeği ve sırtlan gibi yabani hayvanlarda yapılan çalışmalarda bulunan *Hepatozoon* spp. lerin fiogenetik analizleri ile elde edilen DNA sekanslarının *H.canis* ile uyumlu oldukları görülmüştür (Maede ve Ohsugi, 1982; Abranches ve ark., 1984; Majláthová ve ark., 2007; Gabrielli ve ark., 2010; Alencar ve ark., 1997; McCully ve ark., 1975; Shamir ve ark., 2001; Matjila ve ark., 2008).

Rhipicephalus sanguineus dünyada ülkemizin de içinde bulunduğu ılıman ve sıcak bölgelerde yaygın olarak görülür. Hastalığın çeşitli ülkelerdeki dağılımı esas olarak vektör

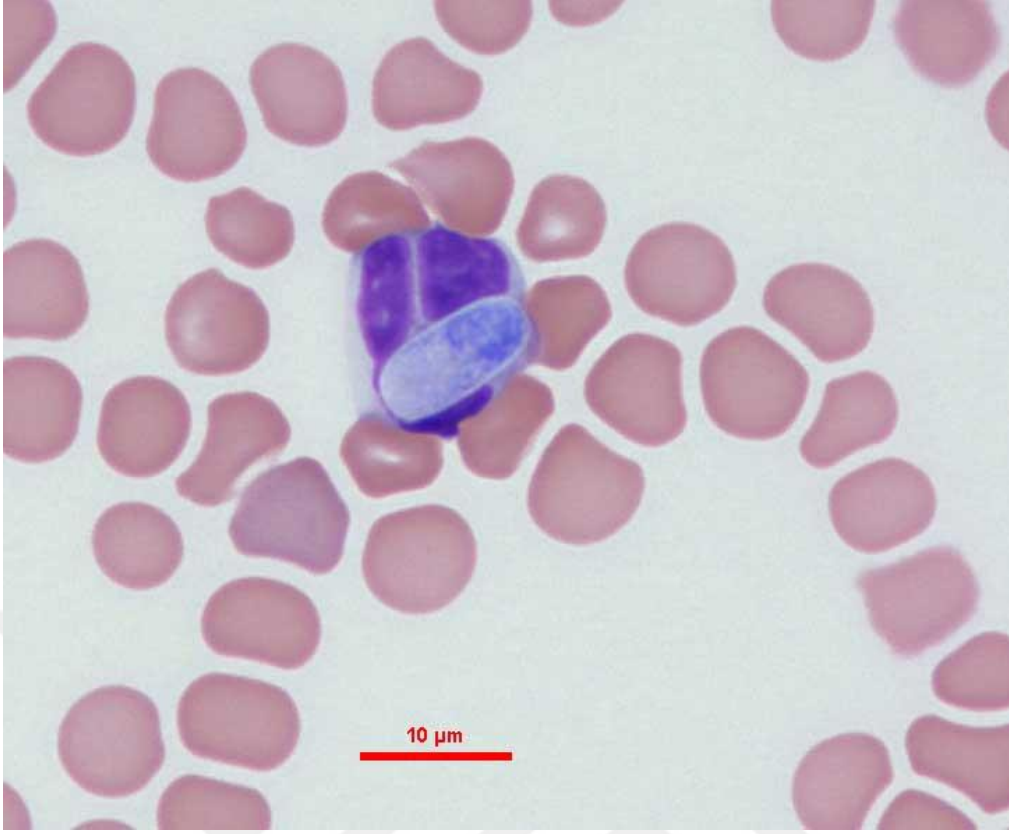
kenelerin varlığı ile sınırlı olup, yapılan çalışmalar ektoparazit mücadelesi ile kene kaynaklı enfeksiyonlarda ciddi sınırlamaya gidildiğini göstermiştir (Yeruham ve ark. 1996, Kjemtrup A.M., 2006).



2. GENEL BİLGİLER

Hepatozoon cinsine bağlı türler elipsoidal şeklinde ve büyüklükleri 11x4 µm olan protozoonlardır (Shaw ve ark., 2001). Köpeklerde köpek hepatozoonozisine neden olan türler *H. canis* ve *H. americanum* dur. Başta *R. sanguineus* olmak üzere farklı ixodid keneleri ile de nakledilirler (Shaw ve ark., 2001; Yıldız K., 2007).

Hepatozoon canis, dünyanın birçok bölgesinden köpeklerde ve diğer etçillerde bildirilen lökositler ve parankimal dokulara yerleşen önemi gittikçe artan kene kaynaklı etkenler içinde görülmektedir (Craig, 1990; Baneth, 2001). Kahverengi köpek kenesi olarak da bilinen *R. sanguineus*, *H. canis* için ana vektör olarak tanımlanmıştır (Craig, 1990; Baneth, 2001; Baneth ve ark., 2003), ancak diğer türlerin de parazit için vektör olabileceği görülmüştür (Murata ve ark., 1993). Ayrıca enfekte anne köpeklerden doğan yavru köpeklerde parazitlere rastlanması etkenin vertikal olarak da bulaştığını göstermektedir (Murata ve ark., 1993). Enfeksiyonun köpeklerde en sık görülme hali hayvanın nötrofillerinin % 1-5'ine bulaşmış *H. canis* parazitemisi şeklinde ve asemptomatiktir (Baneth ve Weigler, 1997; Baneth ve ark., 2003; Little ve Arkadaşları., 2009; Baneth, 2011). (Resim-1) *Hepatozoon canis* konak adaptasyonunu iyi sağlamış parazitlerden olup genellikle düşük patojenite ile seyretmesine rağmen bazı köpekler periferik kan nötrofillerinin %100'üne varan parazitemi gösterir ve bu durumda hastalık semptomları ateş, anoreksi, kilo kaybı, anemi, oküler akıntı, arka bacaklarda zayıflama şeklindedir (Ezeokoli ve ark., 1983, Barton ve ark., 1985, Elias ve Homans, 1988, Craig, 1990, Baneth ve ark., 1995, Baneth ve Weigler, 1997, Macintire ve ark., 1997, Gondim ve ark., 1998, Baneth, 2001). Laboratuvar analizinde bulunan yaygın anormallikler; nötrofilik lökositoz, hipoglisemi, hipoalbüminemi, artmış serum alkalın fosfataz aktivitesidir (Barton ve ark., 1985; Craig, 1990; Baneth ve ark., 1995; Macintire ve ark., 1997; Baneth, 2001).



Resim 1. Nötrofil içinde boyanmış *H.canis* Gamontları

Etken, diğer kene kaynaklı hastalıklardan farklı olarak parazitin ookistlerini taşıyan kenelerin köpekler tarafından yenmesiyle aktarılmaktadır. *Hepatozoon canis* enfeksiyonunda dalak, lenf düğümleri ve kemik iliği primer etkilenen dokular olup, karaciğer, akciğer ve böbrekler de etkilenebilmektedir (Baneth ve ark., 2005). *Hepatozoon americanum*'da ise primer dokular kalp ve iskelet kasları olmakta, etkenler bu doku hücrelerine yerleşerek kistlenmektedirler (Baneth ve ark., 2005, Yıldız K., 2007).

Hepatozoonozisin zoonozluk durumu tartışmalıdır. 1984 yılında Filipinlerde bir kişinin kanında nötrofiller içinde gamontlar görülmüştür. Ancak PCR yapılamadığı için *Hepatozoon spp.* olarak isimlendirilmiştir (İvanov ve ark. , 2008)

Köpek hepatozoonozisi hakkında yapılan çalışmalarda etkenin biyolojisi, yaygınlığı, patogenezi, klinik belirtileri, tanı ve korunması araştırılmaktadır. Ancak olası konak yelpazesi değişkenliği, bulaş yolları araştırmaları ve deneysel olarak tedavi yöntemleri hala devam etmektedir (Gevrey J. , 1993 ; Craig T.M. 1990 ; Baneth G. 2006, Aktaş M. 2015)

2.1 Prevalans

Hepatozoon canis'in yayılımında vektör kenelerin varlığı etkili olup, hastalığın en çok görüldüğü dönemler kenelerin aktif olduğu ılık mevsimlerdir. Güney Avrupa, Latin Amerika, Asya, Kuzey Afrika, Hindistan ve Orta Doğu'da yaygın olarak bulunmaktadır. Yayılım gösterdiği bölgelerde prevalans % 7.5–52 arasında değişkenlik göstermektedir (Rojas ve Ark., 2014 ; Maia ve Ark.,2015; Piratae ve Ark. 2015; Hamel ve Ark., 2016) .

Hepatozoon canis kaynaklı hepatozoonozis enfeksiyonu, Güney Avrupa (Kontos V. ve Koutinas A. ,1991 ; Hervas J. Ve ark. 1995) , Afrika (Ezekolli C.B. ve ark. ,1983) , Asya (Rajamanickam J. Ve ark. 1985 ; Murata T. ve ark. 1991) ve Güney Amerika (O'Dwyer L.H ve ark. 2001)'da yaygın olarak görülmektedir.

Hastalık vektör kenelerin aktif olduğu ılıman iklim kuşağı, tropik ve subtropik bölgelerde endemiktir. Avrupa'nın Akdeniz havzasına yakın olan olan bölgelerinde de endemik olduğu bilinmektedir (Baneth 2011) . Şöyleki; Türkiye, (Karagenç., 2006), Bulgaristan (Tsachev ve Ark., 2008), Kosova, Arnavutluk, Yunanistan (Kontos ve Koutinas, 1991; Mylonakis ve Ark., 2005), Hırvatistan (Vojta ve Ark., 2009), İtalya (Gavazza ve Ark., 2003), Fransa (Rioux ve Ark., 1964), İspanya (Tabar ve Ark., 2009) ve Portekiz'de (Cardoso ve Ark., 2010) varlığı gösterilmiştir. Orta Doğuda'da ise; İsrail (Baneth ve Ark., 1995), Irak (Wenyon, 1911),Mısır'dan (Fahmy ve Ark.,1977) ve Afrika'da Sudan (Oyamada ve Ark., 2005),Nijerya (Sasaki ve Ark., 2008), Güney Afrika'dan (McCully ve Ark., 1975), Asya'da ise ilk olgu olma özelliğini koruyan 1905 yılındaki olgudan başka (James, 1905), Sri Lanka, Singapur ve Malezya'da (Rajamanickam ve Ark., 1985) da varlığı bilinmektedir. Asya'da ayrıca Filipinler, Tayland (Jittapalapong ve Ark., 2006) ve Japonya'da (Murata ve Ark., 1991) da görülmüştür. *Hepatozoon canis* Amerika'da Brezilya (Gondim ve Ark., 1998), Arjantin (Eiras ve Ark., 2007), Venezuela (Criado-Fornelio ve Ark., 2007) ve Amerika Birleşik Devletleri' nde (Allen ve Ark., 2008; Li ve Ark., 2008) görülmektedir. *Hepatozoon canis* ayrıca Atlantik Okyanusundaki Grenada Adaları (Yabsley ve Ark., 2008) ve Cape Verde Adalarından bildirilmiştir (Götsch ve Ark., 2009). Almanya gibi endemik olmayan ülkelerde ise dışarıdan ülkeye giren köpeklerde *H.canis* enfeksiyonuna rastlanmıştır (Deinert ve Ark.,1997; Menn ve Ark., 2010). Dünya'da köpeklerde hepatozoonozis'in yaygınlığı konusunda yapılan yaygınlık çalışmalardan bazıları Tablo-1'de verilmiştir.

Tablo 1. *Hepatozoon canis* enfeksiyonunun bazı ülkelerdeki yayılışı

BÖLGE	YÖNTEM	PREVELANS	KAYNAK
BANGKOK	MİKROSKOBİ	%2,6	Jittapalapong ve ark, 2006
	PCR	%11,4	
GÜNEY İTALYA	PCR	%57,8	Otranto ve ark, 2011
NİJERYA	PCR	%2,5	Sasaki M, 2008
BREZİLYA	PCR	%58,7	Maia ve ark, 2015
GÜNEY PORTEKİZ	PCR	%3,1	Rojas ve ark. 2014, Maia ve ark.2015, Piratae ve ark. 2015, Hamel ve ark . 2016
GÜNEY AVRUPA	PCR	%7,5-%52	Rojas ve ark. 2014, Maia ve ark.2015, Piratae ve ark. 2015, Hamel ve ark. 2016
LATİN AMERİKA	PCR	%7,5-52	Rojas ve ark. 2014, Maia ve ark.2015, Piratae ve ark. 2015, Hamel ve ark. 2016
ASYA	PCR	%7,5-52	Rojas ve ark. 2014, Maia ve ark.2015, Piratae ve ark. 2015, Hamel ve ark. 2016
KUZEY AFRİKA	PCR	%7,5-52	Rojas ve ark. 2014, Maia ve ark.2015, Piratae ve ark. 2015, Hamel ve ark . 2016
HİNDİSTAN	PCR	%7,5-52	Rojas ve ark. 2014, Maia ve ark.2015, Piratae ve ark. 2015, Hamel ve ark. 2016

Türkiye’de köpeklerde ilk hepatozoonozis bildirimi 1933 yılında Tüzdil tarafından yapılmıştır. Daha sonra 2004 yılında klinik olarak şüpheli bir köpeğin kanından yapılan Giemsa boyalı ince yayma kan frotisinde nötrofiller içinde gametositler görülmüştür (Voyvoda, 2004). Daha sonra aynı yıl içinde Ege Bölgesinde yapılan mikroskopik inceleme ve PCR ile yapılan bir tarama çalışmasında sırasıyla %10,6 ve %25,8 olarak bulunmuştur. Ege Bölgesinde doğal enfekte olduğu belirlenen 10 köpeğin laboratuvar ve klinik bulguları değerlendirilmiştir (Paşa ve ark. 2009). 2013 yılında Diyarbakır’da yapılan çalışmada PCR ile köpeklerde %15.87 oranında *H.canis* bulmuşlardır. Aynı çalışmada enfekte köpekler üzerinde toplanan *R.sanguineus* lar ise %20.58 oranında *H.canis* ile enfekte bulunmuştur (Aktaş M., 2013). 2014 yılında iki farklı iklim kuşağından toplanan kenelerde *H.canis*, *R.sanguineus* larda % 7.10 oranında bulunmuştur (Aktaş M. ,2014). 2015 yılında dokuz farklı bölgedeki köpeklerden

toplanan kanların *H.canis* yönünden incelenmesinde mikroskopik ve PCR ile incelenmesiyle sırasıyla % 1 ve % 42,8 olarak bulunmuştur (Aktaş M., 2015). 2015 yılında Konya ve Karaman’da yapılan bir çalışmada *H. canis* % 2,71 bulunmuştur (Aydın M., 2015). 2017 yılında yapılan çalışmada % 54,3 (Aktaş M., 2017) ve %5,3 (Güven E. ,2017) olarak bulunmuşlardır. 2018 yılında Ankara’da yapılan çalışmada oran % 49,5 olarak bulunmuştur (Orkun , 2018). Türkiye’de köpeklerde *H. canis*’in yaygınlığı konusunda yapılan çalışmalar TABLO-2 de verilmiştir.

Köpeklerde vektörlerle bulaşan enfeksiyonların endemik olduğu bölgelerde özellikle dışarda yaşayan ve vektörle karşılaşma ihtimali olanlarda ko-enfeksiyonlara daha sık rastlanmaktadır (Otranto, 2009). Köpeklerde kan protozoonları hakkında yapılan çalışmalarda *Hepatozoon* spp. ve *H. canis* tek veya miks enfeksiyon olarak en çok görülen etken olarak bildirilmiştir (Jittapalapong ve Ark., 2006; Baneth ,2011; Rojas ve Ark., 2014; Maia, 2015 ; Güven E.,2017). Bu durumu araştırmacılar; vektör *R.sanguineus* ‘un oldukça yaygın bulunması veya kanda paraziteminin uzun sürmesi dolayısıyla etkenin DNA’sının tespit edilebilmesi ile açıklamışlardır (Gotsch ve Ark., 2009).

Kahverengi köpek kenesi *R. sanguineus* Akdeniz havzası ve Balkan ülkelerinde *H.canis*’in yayılımında etkili en önemli vektördür (Baneth, 2011). Daha önce Avrupa ve Güney Amerika’da yapılan çalışmalarda *R.sanguineus* enfestasyonu olan köpeklerde *H. canis* enfeksiyonu görülmüştür (Dantas-Torres ve Ark., 2012; Aktas ve Ark., 2013). Vektörlerde etkenin varlığını araştırmaya yönelik yapılan çalışmalarda larva, nymph ve erişkinlerde *H.canis* varlığı araştırılmış, kenenin aç gelişme dönemlerinde *H.canis* saptanarak transstadial geçiş ispatlanmıştır ancak transovarian geçiş görülmemiştir (Giannelli ve Ark., 2013a; Aktaş M., 2017). *Rhipicephalus sanguineus* üç konaklı bir kene olup, oldukça geniş bir konak spektrumuna sahip olmakla birlikte bütün gelişme dönemlerinde köpekten kan emmeyi tercih eder. Farklı kene türlerinde *H. canis* varlığının araştırıldığı çalışmalarda en yüksek oran *R. sanguineus*’ ta görülmüştür (Gabrielli ve Ark., 2010; De Miranda ve Ark., 2011). Farklı kene türlerinde *H.canis* varlığı görülmesi bu kenelerin etkenin aktarılmasında vektörlük yaptığını ispatlamayıp en son konaktan kan emdiğinde bu konaktaki parazitin DNA’sını da tespit edilmiş olabilir. Dolayısıyla *R. sanguineus* dışındaki kenelerin de vektörlük potansiyellerinin doğrulanması için deneysel çalışmalara gereksinim duyulmaktadır (Murata ve Ark., 2005; Forlano ve Ark., 2005; Hornok ve Ark., 2013b; Aktaş M., 2017). Örneğin 2013 yılında yapılan bir çalışmada *Ixodes ricinus* enfekte bir konaktan beslenmesi sırasında *H.canis*

gamontlarını almış ancak bu kene türünde daha fazla ilerleme ve sporogony oluşmamıştır (Giannelli ve ark. 2013 b). 2013 yılında yapılan iki ayrı çalışmada *R. sanguineus* nimfleri *H.canis* ile enfekte edilmiş ve erişkin kenelerin etkeni transstadial olarak naklettikleri görülmüştür (Aktaş 2013, Giannelli ve ark. 2013a). Giannelli ve ark. larının 2013 yılında yaptığı aynı çalışmada *R.sanguineus* larvasının *H.canis* ile enfekte bir köpekten beslenirken etkeni aldığı görülmüştür (Giannelli 2013a). Ancak; devamında larvadan nimfe etkenin transtadial olarak naklettiğini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2014 yılında Aktas M. tarafından yapılan çalışmada *Ixodes* spp. ve *Haemaphysalis* spp. nimflerinde *H.canis*'in DNA sını bulmuşlardır. Nimf dönemindeki bu kenelerin larva dönemindeyken hangi konaklardan beslendikleri bilinmemektedir. Ancak üç konaklı olduğu bilinen bu iki kene cinsinin larva ve nimf dönemleri kuş, kemirgen, tavşan, sürüngen ve kirpi gibi küçük omurgalı hayvanlarda beslenmektedirler. Dolayısıyla bu küçük omurgalıların *H.canis*'in yayılımında rol alabilecekleri göz önüne alınmalı ve değerlendirilmelidir (Aktaş M., 2014).

Türkiye’ de kenelerde *H.canis*'in varlığı yönünden yapılan araştırmalarda en yüksek oran *R.sanguineus*'ta bulunmuştur. Dolayısıyla Türkiye’de *R.sanguineus* *H.canis* 'in potansiyel vektörü olarak kabul edilebilir (Aktaş M., 2013,2014). Avrupa ve Güney Amerika’da yapılan çalışmalarda da aynı şekilde *R.sanguineus*'un *H. canis*'in yayılımında en etkin vektör olarak bulunmuştur (Dantas-Torres ve Ark., 2012).

Tablo 2. *Hepatozoon canis* enfeksiyonunun Türkiye’de bazı illerdeki yaygınlığı

BÖLGE	HAYVAN SAYISI	YÖNTEM	PREVELANS	KAYNAK
Ege Bölgesi	10	PCR	%10,6-%25,8	Paşa ve ark. 2009
Diyarbakır	328	PCR	%15,87	Aktaş M. 2013
Kayseri	400	PCR	%5,3	Düzlü ve ark, 2014
Kocaeli	65	PCR ve Kan mikroskobu	%17,4	Aktaş M. 2015
Konya-Karaman	-	PCR	%2,71	Aydın 2015
İç Anadolu	221	PCR	%3,61	Aydın ve ark, 2015
Sakarya	65	PCR ve Kan mikroskobu	%17,4	Aktaş M. 2015
İzmir	60	PCR ve Kan mikroskobu	%26,7	Aktaş M. 2015
Ankara	49	PCR ve Kan mikroskobu	%4	Aktaş M. 2015

Tablo 2. *Hepatozoon canis* enfeksiyonunun Türkiye’de bazı illerdeki yaygınlığı (devamı)

Nevşehir	51	PCR ve Kan mikroskobu	%3,9	Aktaş M. 2015
Mersin	74	PCR ve Kan mikroskobu	%10,8	Aktaş M. 2015
Giresun	50	PCR ve Kan mikroskobu	%18	Aktaş M. 2015
Elazığ	150	PCR ve Kan mikroskobu	%25,3	Aktaş M. 2015
Erzurum	126	PCR ve Kan mikroskobu	%42,8	Aktaş M. 2015
Konya-Karaman	219	PCR	%54,3	Aktaş M. 2017
Ankara	103	PCR	%49,5	Orkun Ö. 2018

Hepatozoon canis’in varlığı köpeklerde bildirilmiş olmasına rağmen, enfeksiyonun yaban hayatındaki durumu tartışmalıdır. Bir çalışmada Türkiye’de tilkilerde *H. canis* enfeksiyonunun varlığı araştırılmıştır. Bu çalışmada, tilkilerde hastalığın var olduğu ve bulaşmada bu durumun göz önünde bulundurulması gerektiğine dikkat çekilmiştir. Aynı çalışmada *Hae. parva* kenelerinde de *H. canis* saptanmış ancak söz konusu kenenin biyolojik olarak etkeni bulaştırıp bulaştıramadığı konusunda daha detaylı araştırmaya ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (Orkun Ö., 2018). Daha önce yapılan bir çalışmada, tilkilerin kene kaynaklı patojenlerin ekolojisinde hem vektör keneler için uygun konak hem de patojenler için rezervuar olarak hizmet vererek önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada, *Haemaphysalis* cinsine ait kenelerde *H. canis* varlığı bulunmuş olsa da, enfeksiyon kaynağının mevcut verilere dayanarak *H. parva* keneleri olduğunun deneysel çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir. Nitekim, *H. parva*’nın *H.canis* için vektörel yetkinliğine dair kesin kanıt henüz yoktur çünkü daha önce de benzer şekilde kenelerin enfekte olmuş konakta beslenirken patojenleri aldıkları ancak diğer konağa bulaştırma yetilerinin olmadığı bildirilmiştir (Duscher ve ark., 2015).

Hepatozoon canis önemli kene kaynaklı patojenlerden biri olup evcil ve yabani karnivorlarda enfeksiyona neden olmaktadır. Esas olarak kahverengi köpek kenesi *R. sanguineus* tarafından bulaşan hastalık Asya, Güney Avrupa, Afrika, Güney Amerika ve son zamanlarda ABD’de yaygınlık göstermektedir (Baneth ve Vincent-Johnson, 2005; Baneth, 2011).

2.2 Yaşam Döngüsü

Bütün hepatozoonlarda eşeyli ve eşeysiz çoğalmayı takip eden sporogoniye kapsayan yaşam çemberleri vektör kenede, merogoni ile gametogoni ise ara konak omurgalıda görülmektedir Benzer şekilde köpeklerde de *Hepatozoon* spp' nin yaşam döngüsünde, gelişimin merogoni ve gametogoni aşamalarında ara konak olarak görev yaparken keneler ise parazitin eşeysel olgunluğunun olduğu son konak görevi görür (Baneth ve ark., 2007).

Protozoonlar, kenenin hemoselinde seksüel gelişmeyi takip eden sporogoni ve omurgalı konakta ise aseksüel gelişmenin olduğu karmaşık bir yaşam çemberine sahiplerdir (Baneth ve ark., 2007; Ivanov ve Tsachev 2008; Giannelli ve ark., 2013a). (Şekil-1)



Şekil 1. *Hepatozoon canis*'in yaşam döngüsü. Omurgalı konağa iletdikten sonra (sol taraf), her ikisi de konağın (yani köpek) dokularında merogonyum ve gamonotogoni gerçekleşir. Gamontların kanla besleme yoluyla kenelere geçmesi, kenenin içinde bir talihsizlik başlatır ve sporozoitler olgunlaşıp enfekte oluncaya kadar gelişme devam eder.

H.canis' in yaşam döngüsünde seksüel ve aseksüel gelişim dönemlerinin bulunduğu konaklara göre; köpek ara konak, kene ise son konak olarak görülmektedir ve her iki konak da birkaç farklı biyolojik ve morfolojik yaşam formları içerirler (Baneth ve diğerleri, 2007). Köpek, keneyi yada kenenin parazitin gelişim dönemlerini ihtiva eden parçalarını yediğinde *H. canis* sporozoitleri köpeğin bağırsağına dağılır ve bağırsak duvarından emilimi gerçekleştir. Sporozoitler, mononükleer hücreleri istila eder ve karaciğer, böbrek ,akciğer,kemik iliği, dalak,lenf düğümlerine lenf ve kan dolaşımı sayesinde ulaşırlar. Dokularda merogoni ile eşeysiz olarak çoğalarak merozoitleri oluştururlar. Merogoni birkaç nesil devam eder. Bu safha çizgili kaslar ve diğer lenfoid organlarda makrofaj ve endotel hücrelerde görülür. Enfekte dokularda iki tür meront oluşur. Merontlardan biri merkezi yapının etrafına dizilmiş yaklaşık 20-30 ince mikromerozoit içeren kistik bir oluşumda yuvarlak veya oval görünümlü bir yapıdır. Makromerozoitler ise iki veya dört büyük yapı içeren 30 mikron büyüklüğündeki oluşumlardır. Merogoniden sonra olgun merontlar şekillenerek ve bunların içinde bulunan merozoitler serbest kalarak gametogoniye başlatmak üzere dolaşıma geçerler. Nötrofil ve monositlere yerleşerek eşeyli çoğalma hücreleri olan gamontları oluştururlar. Alternatif olarak merozoitler hedef dokularda ikincil merontları üretebilirler. İkincil merontların oluşumunda makromerozoitlerin sorumlu olduğu düşünülmektedir (Baneth ve diğerleri, 2007). Doğal veya deneysel olarak enfekte olmuş köpeklerde tanımlanan *H.canis* monozoik kistlerinin (Baneth ve Shkap,2003) etçil beslenme yoluyla yada diğer hepatozoon türlerinin kalıntısı olarak bulunması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Landau ve diğerleri, 1972; Smith ve diğerleri, 1994; Johnson ve diğerleri, 2009b).

Son konak kene parazitli bir köpekten kan emerken dolaşımdaki gamontları içeren lökositleri alarak enfekte hale gelir. Kenelerin bağırsaklarında, gamontlar bölünür ve enfeksiyondan 24 saat sonra makro ve mikro gametler oluşur ve 8. günden sonra zigotlar ve genç oositler tespit edilebilir. Gömlek değiştirme zamanı muhtemelen nimlerde üreme evresine karşılık gelir ve enfekte olmuş kanın alınmasından sonraki 50. günde sona erer (Baneth, G., M.,2001; Baneth, G., M.,2007). Morfolojik olarak ayırt edilemeyen erkek ve dişi gamontlar kene bağırsağında bulunan köpek lökositlerinden ayrılır ve mikro gametin makro gameti döllemesi ile zigot oluşur. Zigot hareketli bir yapıda olup, ookinet olarak da isimlendirilir ve eşeysiz çoğalma dönemi olan sporogoni başlar. Ookist içinde enfektif dönem olan onlarca sporozoit oluşur. Oositler mikroskobik büyötmeye gerek kalmadan görölebilen geniş, yuvarlak şekilde bulunurlar. Ookist yapısı enfektif sporozoitlerin bulunduğu yüzlerce sporokisti saran

bir zardan oluşur. Köpeğin hastalığa yakalanması ookistin tamamını ya da bir kısmını yutması ile gerçekleşir (Baneth ve diğerleri, 2001, 2007).

H.canis'in bütün yaşam döngüsü kene ve köpekte toplam 81 günde tamamlanır (Baneth ve diğerleri, 2007)(Şekil-2). Deneysel bir enfeksiyon çalışmasında erişkin *R. sanguineus* ile beslenen bir köpek 53 gün sonunda enfekte olmuştur. Deneyden 13 gün sonra köpeğin kemik iliğinde merontlar oluşmuş ve gamontlar kanda saptanmıştır. Kenenin köpeğe yedirilmesinden 28 gün sonra yaşam döngüsünün tamamlandığı görülmüştür (Baneth ve diğerleri, 2001, 2007). *Rhipicephalus sanguineus*' a ek olarak diğer keneler de *H. canis*'in vektörleri veya şüpheli vektörleri olarak gösterilmiştir. Örneğin *Amblyomma ovale* ile deneysel olarak enfekte edilen veya doğal enfekte köpekler üzerinde yapılan araştırmalarda Brezilya'da *H. canis*' e vektörlük yapabileceği gösterilmiştir (Forlano ve diğerleri, 2005; Rubini ve diğerleri, 2009). *Haemophysalis longicornus* ve *Hae. flava* gibi diğer kene türlerinin potansiyel vektörler olabileceği ve Japonya'da *H. canis* enfeksiyonu olan köpeklerden çıkarıldığı ve kenelerin hemosellerinde *Hepatozoon* benzeri oositler görüldüğü belirtilmiştir (Murata ve diğerleri, 1995).

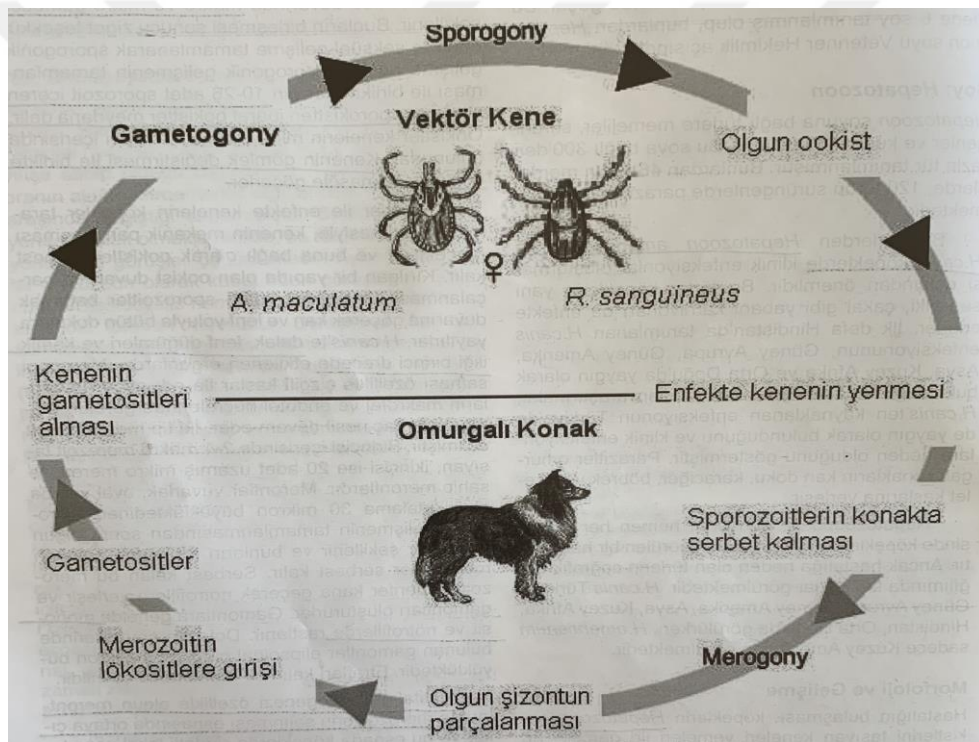
Hepatozoon canis ile doğal enfekte köpeklerde gebelik esnasında yavruya enfeksiyonun geçtiği bilinmektedir. Enfekte olduğu bilinen bir köpeğin kene bulunmayan bir ortamda doğal bir şekilde enfekte yavrular doğurduğu gözlenmiştir. Bu anneden doğan bir yavru, doğumdan 16 gün sonra ölmüş ve otopsi sonucunda yavrunun dalağında merontlara rastlanmıştır. Diğer yavruların ise doğumdan 21 gün sonra kanında gamontlar görülmüştür. *H.canis* enfeksiyonlarında *H. americanum* larda olduğu gibi enfekte hayvanın yenmesi ile bulaş şekli oluşmamaktadır (Murata ve diğerleri, 1993).

Hepatozoon canis' in yaşam döngüsü hakkında yapılan çalışmalar aşağıdaki başlıklar altında toplanabilir;

- Doğal olarak enfekte olmuş köpeklerde ve kenelerde *H. canis* gelişimi üzerine araştırmalar (Ivanov, 2008);
- Deneysel olarak enfekte edilen kene ve köpeklerde *Hepatozoon canis*'in farklı gelişim evrelerinin takibi (Nordgren, 1984)

- Farklı memeli konaklara yerleşen diğer *Hepatozoon* türlerinden elde edilen bilgilere dayanarak köpeklerde *H. canis*' in benzer gelişimi üzerine araştırmalar (Ivanov, 2008).

Hepatozoon canis' in kenelerdeki gelişimini tam olarak inceleyen bir çalışma yoktur, ancak araştırmacılar diğer *Hepatozoon* türlerinde ve vektörlerde yaşam döngüsü aşamaları ile paralellikler aramışlardır.(Şekil-2) Gamontlar kene barsağına girdikten sonra, esas olarak gametogony ve sporogony'nin meydana geldiği dokular ve hücre içi gelişim aşamalarında büyük farklılıklar gözlenmiştir. *Hepatozoon* spp. 'nin yaşam döngüsü ile ilgili farelerde yapılan ilk deneysel çalışmada *Laelaps echidninus* akarının bağırsak lümeninde gruplanan *Hepatozoon muris* gametositleri görülmüştür (Miller, W.W., 1908).



Şekil 2. Köpeklerde *Hepatozoon* spp. Biyolojisi (Ewing ve Panciera,2003'den revize edilmiştir).

1981 yılında Kramptiz ve ark. tarafından *Xenopsylla cheopis*'de *Hepatozoon erhardovae*' yi araştırmışlar ve gamontların mikro ve makrogamete dönüşümünü incelemişlerdir (Kramptiz ve ark. 1981). Gamontlar önce makro ve mikro gametositler olarak farklılaşmışlar fertilizasyon sonucu oluşan hareketli ookinet kene hemoselindeki bağırsak duvarı boyunca gömülmüştür. Aynı oluşumlara pirenin yağ dokusu hücrelerinde de rastlanmıştır (Kramptiz, H.E.,1981).

Aynı şekilde Mathew ve diğerkleri *Hepatozoon americanum*' un *A. maculatum*'daki sporogoni dönemini araştırdıklarında gametlerin bağırsak duvarı içinde oluştuklarını ve daha sonra kene haemoselinde ookist oluştuğunu bildirmişlerdir (Mathew ve ark. 1998).

Hepatozoon canis 'in gelişimini inceleyen Wenyon, farelerde *H. muris* ' inkine benzer bir eşeyli çoğalmanın varlığını bildirmiştir (Wenyon, C.M.,1911 ; Miller, W.W.,1908). Bu araştırmaya göre paraziter evreler bağırsak epiteli içinden geçerek bağırsak kıvrımlarına yakın yerlerde gelişimlerini sürdürmüştür (Wenyon, C.M.,1911). Kenelerin deneysel olarak *H.canis* ile enfekte edildiği bir çalışmada kene bağırsağının dışındaki gametogoninin de mümkün olduğunu ortaya koymuşlardır (Miller, W.W.,1908).

Hepatozoon spp. erişkin kenelerdeki oositleri oldukça ince ve kırılğan bir yapıda olup kolayca tahrip olabilir. *Hepatozoon griseisciuri* ve *H. americanum* da oosist duvarı safra varlığında bozulmakta ve sporozoitlerin tutulmasına izin vermektedir (Mathew, J.S.,1990 ; Redington, B.C.,1971). Araştırmacılar bu durumu *H. canis* de dahil olmak üzere memelileri enfekte eden diğerk *Hepatozoon* spp. için de aynı şekilde kabul etmektedir (Baneth 2006).

Köpekler enfekte keneyi veya sporozoit içeren kene vücudunun bölümlerini yiyerek *H.canis* ile enfekte olur Konağın bağırsağında serbest kalan sporozoitlerin nasıl dağıldıkları bilinmemektedir ancak iç organlarda yayılmasının hematojen yani bağırsak duvarından geçerek ve kanla veya fagositize edici hücreler ile veya lenf ile olmaktadır (Gevrey, J.,1993 ; Baneth, G. 2006). Şizogoninin başlangıç aşamasında karaciğerde oluşur daha sonra lenf ve mezenterial lenf dokusu ve daha sonra kemik iliğne yayılış gösterirler ki gametogoninin esas başlangıç yerinin kemik iliği olduğunu gösteren çalışmalar vardır (Baneth, G., M.,2007. 1997, 1995).

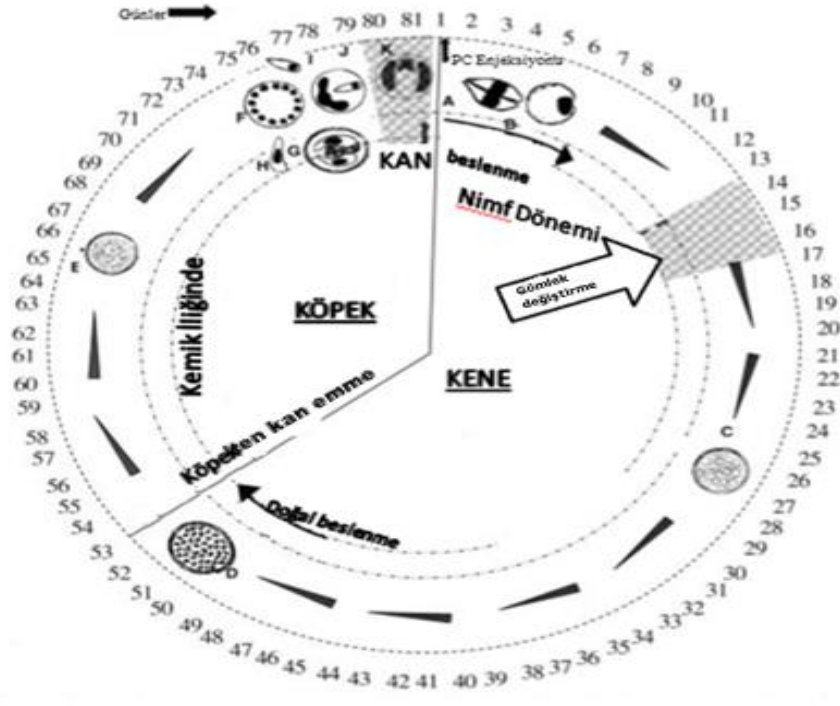
Akciğerlerde, kalpte, iskelet kaslarında, karaciğerde, dalakta, lenf bezlerinde şizogoni döneminde etkene rastlamak mümkündür (Gevrey, J.,1993 ; Baneth, G.,2006). Endotelial hücrelere geçen sporozoitler konak hücrelerinde ve bu organların fagositik sistem hücrelerinde yuvarlak şekilli, çapı 20-30 µm şizontlara dönüşür. Oluşan şizontlar 2-4 makromerozoit 20-30 mikromerozoit içerirler. Serbest bırakılan mikromerozoitler, nötrofillere nüfuz eder ve oval şekilli, büyük granül çekirdekli ve 8-12 / 3-6 µm büyüklüğünde gamontlara farklılaşır (Craig, T.M.,1990)

Diğerk *Hepatozoon* türleri ile araştırmalar mikro ve makro şizontlarınaş zamanlı olarak oluştuğunu göstermektedir (Bashtar, A.R.,1991; Clark, G.M.,1958; Ball, G.H. ve ark., 1967; Allison, B., 1981; Paperna, I.,2002) bazı araştırmalar ise önce makroşizontun daha sonra

mikroşizontun oluştuğunu önce olduğu iddia etmelerine rağmen bu araştırmalar deney sonuçlarını tam olarak ispatlayamamışlar ve sonuç olarak her iki şizofant tipinin de aynı anda oluştuğu hipotezi daha çok kabul görmüştür. Nitekim, şizogoninin ilk dönemleri karaciğerde ve barsak lenfoid dokusunda meydana geldiği ve diğer dokularda şizogoninin ikincil olduğu hipotezinin doğruluğundan yola çıkıldığında *H. canis* için makromerozoitlerin ardından mikromerozoitlerin izlenmesi de doğru olabilir (Baneth, G., M.,2007, Smith, T.G.,1998; Krampitz, H.E.,1988)

Baneth ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada enfekte kene yedirilen köpeklerin dokularında monozoik kistler görülmüştür. *Hepatozoon canis* enfeksiyonundan sonra, kistler dalakta tespit edilir ve boyutları 20-26 / 15-21 um'dir (Baneth, G.,2003). Bu kistlerin rolü bilinmemektedir. Benzer şekilde *H. americanum* ile enfekte olmuş köpeklerin kaslarında daha büyük kistler görülmüştür (Vincent-Johnson, N.A.,1997, Panciera, R.J.,1999). Diğer omurgalı hayvanlarda da *Hepatozoon* türlerinde de monozoik ve dizoik küçük kistler görüldüğü bildirilmiştir (Desser ve ark .,1990 ; Smith ve ark. 1994 ; Paperna ve ark.,2002).

Lökositlere geçen mikromerozoitlerin gamontlara dönüşümü dört hafta içinde gerçekleşir. Enfeksiyonun 26. gününde kemik iliğinde ve lökositlerde merozoit benzeri hücreler ve serbest merozoitler görülürken 28. gününde konağın kanında olgun gamontlar oluşmutur. Lökositlere ilk etken girişi muhtemelen dokularda gerçekleşir, çünkü doğal ve deneysel olarak enfekte olmuş köpeklerde, nötrofiller içinde sadece olgun gamontlar görülmüştür (Baneth, G. ve ark., 2007).



Şekil 3. *H. canis* ile deneysel enfeksiyon sırasındaki olayların sırası. Keneler enfeksiyonu günleri dairenin çevresi işaretlenir. (A) Gamontlar arasındaki ilişki konumu (B) Erken oocyst. (C) Oocyst'i gelişimi. (D) Kene hemosölünde olgun oosist. (E) Kemik iliğinde erken meront. (F) Bazal materyal yığını etrafında daire olarak dizilmiş mikromerozoid barındıran meront. (G) 2 makromerozoit içeren meront. (H) Kemik iliğinde serbest makromerozoit. (I) Kemik iliğinde serbest mikromerozoit. (J) Nötrofile nüfuz ettikten ve gamont'a dönüşüm sırasında mikromerozoit. (K) Periferik kandaki olgun gamont.(Baneth ve diğ. ,2007)

2.3.1. Klinik Bulgular

Enfeksiyon düşük parazit seviyesine sahip köpeklerde asemptomatik olarak görülür. Parazitemisi yüksek olan köpeklerde ise yüksek ateş, uyuşukluk, anemi, kaşeksi ile birlikte hayatı tehdit eden ciddi bir hastalık olarak ortaya çıkar . Köpek hepatozonoozisinde klinik bulgular parazitin suşuna ve konak bağışıklığı ile ilgili olarak parazitin az olduğu durumlarda asemptomatik durumdan paraziteminin yüksek seyrettiği, ateş ve aneminin öncelikli olduğu prognozun kötü beklendiği ciddi bir tabloya kadar değişkenlik gösterir (Baneth ve ark., 1997).

Hepatozoon canis dalak, lenf düğümleri ve kemik iliği gibi retikuloendotelial sistem organlarını etkiler, beyaz kan hücresi sayılarında artış, lenf yumrularında büyüme, ağrı, kilo kaybı, uyuşukluk, anemi ve ateş gibi semptomlara neden olur. Genelde kronik veya asemptomatik seyirli bir hastalık olmasına rağmen enfeksiyon, yüksek parazit yüküyle ilişkili olarak ciddi klinik belirtiler göstererek yaşamı tehdit edici olabilir (Baneth, 2011).

Hepatozoon canis, köpeklerde lökositlerin ve parankimal dokuların kene kaynaklı bir protozoonudur (Baneth ve ark., 2003). Hepatozoonosis enfeksiyonları köpeklerde en çok subklinik , ölümden hemen önce gelişen akut ve enfeksiyon belirtilerinin şiddetli olmadığı kronik dönem olmak üzere üç şekilde oluşur. Enfeksiyonun belirtileri çok çeşitlidir fakat diğer konaklardaki *Hepatozoon* spp. enfeksiyonlarından farklı değildir (Barton ve ark.,1985 ; Beaufils J.P. ve J. Martin-Granel , 1988).

Köpeklerde görülen hepatozoonozisin deneysel veya doğal enfekte enfeksiyonlarında en sık gözlenen klinik belirtiler anemi, kilo kaybı ve aralıklı ateştir (Gevrey J. ; 1993 , Craig T.M. ; 1990). Pek çok durumda da kaşeksi veya besin alımının azalmasından çok, artan enerji harcamasının kilo kaybına yol açtığı durumlar, depresyon, kas hiperaestezi, purulent konjonktivit ve rinit gözlemlenir (Baneth, G. ;2006 , Baneth, G., Samish M. ve ShkapV., ;2007). Nadiren de olsa kanlı ishal, anoreksia , arka ayakların felç olması, periostal kemik üremeleri gözlenmiştir (Baneth G. ve ark., 1997).

Nötrofillerin %5'inden az enfekte olduğu düşük parazitemi en sık rastlanan enfeksiyon şeklidir. Bu enfeksiyon derecesi genellikle asemptomatik olarak seyreder. Şiddetli enfeksiyonlarda bu oran %100'lere kadar ulaşır ve şiddetli enfeksiyon olarak değerlendirilir. Klinik belirtiler ile parazitemi doğru orantılıdır ve bu durum belirgin lökositosis durumu ile ilişkilidir (Baneth G. , 2006).

Asemptomatik seyirli enfeksiyonlar başka bir hastalığın da eşlik etmesi, hayvanın yaşının genç olması veya bağışıklığın baskılanması gibi durumlarda klinik olarak şiddetli duruma dönüşebilir (Mehlhorn ,2001). Özellikle yavrularda az gelişmiş bağışıklık sistemi, bulaşıcı ve bulaşıcı olmayan etkenler veya immünosupresyon durumları enfeksiyonun akut hale gelmesine sebep olabilir (Hervas J. Ve ark. , 1995). Köpeklerde prednizolon gibi immünosüprese edici ajanların kullanılması deneysel enfeksiyon çalışmalarında başarılı bulunmuştur (Mylonakis M.E., ve ark., 2004).

H.canis'in Parvovirus, *E. canis*, *T. gondii*, *L. infantum* gibi diğer patojenlerle birlikte seyrettiğini bildiren çok sayıda çalışma vardır ve bu çalışmalar enfeksiyonun tek başına olduğu bildirilen vakalarla karşılaştırıldığında klinik tablonun daha şiddetli olduğunu rapor etmişlerdir (Baneth G. ve B. Weigler. ,1997 ; Harmelin, A. ve ark., 1992).

H. canis, dünyanın birçok bölgesinden köpeklerden başka diğer etçillerde de varlığı bildirilen lökositlerin ve parankimal dokuların kene kaynaklı protozoan paraziti olarak yer alır (Craig ,1990; Baneth, 2001). Kahverengi köpek kenesi olarak isimlendirilen *R. sanguineus* *H. canis* için esas vektör olarak tanımlanmıştır (Craig ,1990 ; Baneth,2001; Baneth ve diğerleri 2003) , ancak diğer bazı keneler de *H.canis* için vektör olabileceği görülmüştür (Murata ve ark., 1993). Ayrıca enfekte anne köpeklerden doğan yavru köpeklerde parazitlere rastlanmıştır (Murata ve ark., 1993). Enfeksiyonun köpeklerde en sık görülme hali konak nötrofillerinin % 1-5' inde *H. canis* gamontlarının görüldüğü klinik olarak asemptomatik seyirli enfeksiyonlardır (Baneth ve Weigler ,1997; Baneth ve ark., 2003). Bazı köpeklerde parazitemi %100' e ulaşır ve bu durumda hastalık semptomları ateş, anoreksi, kilo kaybı, anemi, oküler akıntı, arka bacaklarda felç şeklindedir (Ezeokoli ve ark., 1983; Barton ve ark., 1985; Elias ve Homans, 1988; Craig ,1990; Baneth ve ark., 1995; Baneth ve Weigler, 1997; Macintire ve ark., 1997; Gondim ve ark., 1998; Baneth ,2001). Laboratuvar analizlerinde nötrofilik lökositoz, hipoglisemi, hipoalbuminemi, artmış serum alkalın fosfataz aktivitesi sıklıkla karşılaşılan bulgulardır (Barton ve ark., 1985; Craig, 1990; Baneth ve ark.,1995; Macintire ve ark., 1997; Baneth ,2001). Yüksek parazitemi bulunan köpeklerde genelde nötrofili, normositik normokromik nonrejeneratif anemi vardır (Yıldız K, 2006).

Enfekte hayvanlarda kaşeksi, depresyon, kas hiperaestezi, pürülan konjonktivit ve rinit sıklıkla bildirilirken genellikle kanlı olan ishali anoreksi, paraparezi ve paraparaliz oluşan vakalar da olabilmektedir (Baneth, G.ve ark.,1997).

Genç hayvanlarda az gelişmiş bağışıklık sistemi enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan ajanların veya immün yetmezlik durumlarının neden olduğu immünosüpresyon, yeni veya kalıcı bir *H. canis* enfeksiyonunun patogenezi üzerinde etkilidir (Harmelin, A. ve ark., 1992).

İmmüsupresyon köpek hepatozoonozisi üzerine oldukça etkilidir, deneysel enfeksiyonlarda köpeğe önce Prednisolon gibi immünosüpresif ajan verilmesi ile paraziteminin oldukça arttığı bilinmektedir (Voyvoda ve ark. ,2004).

Hepatozoon canis çoğunlukla parvovirüs *T. gondii*, *E. canis* ve *L. infantum* gibi etkenlerle birlikte seyretmekte ve bu enfeksiyöz ajanların belirtileri de klinik tabloya eklenmektedir (Hervas J.ve ark., 1995; Rioux J.A. ve ark.,1964).

Anemi çoğu vakada en sık görülen öncül hematolojik bulgudur ve çoğunlukla normositik, normochromic ve rejeneratif özelliktedir (Voyvoda ve ark., 2004).

Hepatozoon canis enfeksiyonları görülen köpeklerin üçte biri oranı trombositopeni ile birlikte seyreder ancak memeli konaklarda neredeyse bütün kene kaynaklı hastalıklarda trombositopeni klinik bulgulardan biri olarak görülmektedir. *Hepatozoon canis*'in klinik vakalarda trombositopeni ile ilişkilendirilen çalışma henüz yapılmadığından çoğunlukla iki enfeksiyonun ko-enfeksiyon durumuna bağlanmıştır. Bazı serum biyokimyasal parametrelerindeki değişiklikler oldukça belirgin olup, hiperglobulinemi ve hipoalbüminemi ile birlikte kreatin kinaz ve alkalın fosfaroz miktarlarında artış görülür (Kamani J. ve ark.,2013;Otranto D. Ve ark., 2011)

2.3.2. Patolojik Bulgular

Köpek hepatozoonozisinde kaşeksi sıklıkla karşılaşılan bulgudur. Kas atrofisi temporal bölgede en sık görülen ve en belirgin olanıdır (Baneth, G.,2006). Ayrıca anemi, mukozalar hafif ikterik, dalak ve karaciğer hafif büyüme gözlenir. Akciğerlerde konjestiv değişiklikler mide mukozasında kalınlaşma, lenfadenopati ve böbreklerde solgunluk konjestif değişiklikler gözlemlenir (Gevrey, J.,1993; Craig, T.M., 1990; Craig, T.M.,1984). Endemik bölgelerde yaşayan köpeklerde histopatolojik kesitlerde iskelet kaslarında, kalp kasında lenf düğümlerinde, dalak, karaciğer ve böbreklerde etkene tesadüfen rastlanır. Düşük parazitemili köpeklerde genelde hafif lezyonlar oluşurken paraziteminin yüksek olduğu hayvanlarda meront sayısı ile doğru orantılı olarak hepatitis, pneumoni, glomerulonefritis görülür (Gevrey, J.,1993; Craig, T.M., 1990; Baneth, G.,2006, Craig, T.M.,1984).

Mikromerozoitlerle dolu mikroşizontlar ve daha büyük olup makromerozoitlerle dolu makroşizontlar olmak üzere iki tip şizont görülür; Şizont oluşumu sırasında, genellikle hücre sel reaksiyon oluşmazken, merozoitlerin salınması sırasında, eşit miktarda makrofaj ve nötrofil ve çeşitli sayıda eozinofilden oluşan yoğun bir hücre tepkisi tespit edilir. Özellikle iskelet kası kesitlerinde 250 µm çapında kistler tespit edilmiştir. Bazı yazarlar tarafından mikroşizont

olduğu kabul edilen yaklaşık 10 µm çapında yapısal oluşumlar da bildirilmiştir (Craig, T.M., 1990).

Omurgalı konağın çeşitli dokularında şekillenen şizogoniye bağlı olarak, akciğer yüzeyinde hemorajiler, hepatik dejenerasyon, splenomegali, , myokardiyal nekrozis ve iskelet kaslarında fokal myositisler görülmektedir (Craig ,1990).

Nötrofillerde oluşan invazyonlara bağlı olarak kaslarda ağrı, ateş ve kemiklerde periost proliferasyonlarına neden olan nötrofil kümeleri oluşur ve bu proliferasyonlar kasların omur, pelvis yarıçapı, ulna, humerus, femur, fibula ve tibiaya bağlanma bölgelerinde lokalizedir. Kemik lezyonları enfekte bütün köpeklerde gözlemlenmemiş daha çok 1 yaş altı hayvanlarda daha sık bildirilmiştir (Craig, T.M., 1990).

2.4. Teşhis

Klinik olarak şüphelenilen köpeğin perifer kanından hazırlanan ve Giemsa ile boyanan ince yayma frotilerde nötrofillerin içinde ya da nadiren monositlerin içinde parazitin oval şekilli 8-12 / 3-6 µm boyutlarında gamontlarının görülmesi tanı için yeterlidir (Baneth, G.,2006). Ancak düşük parazitemi ile seyreden olgularda her zaman parazitli hücre görmek mümkün olmayabilir. Bu sebeple kas, lenf yumrusu, kemik iliği veya dalak gibi organlardan biyopsi alınarak parazitin gelişme dönemleri aranabilir (Taboada ,1999). Adı geçen organlardan hazırlanan preparatlarda şizontlar yaklaşık 30 µm çapında yuvarlak veya oval iki veya dört makromerozoit veya 20 mikromerozoitten fazla oluşumların gözlemlendiği oluşumlar olarak görülür. Bazı araştırmacılar bu görüntüyü "tekerlek direği" olarak isimlendirmişlerdir (Baneth, G.,2006).

Ayrıca femur radyolojisinde periostal kemik üremeleri görülmesi hepatozoonozis'i düşündürür (Mehlhorn, 1986). Düşük parazitemi olguları dikkate alınarak kanın buffy coat tabakası elde edilerek hazırlanan preparatlar boyanarak mikroskopik inceleme yapılabilir (Bowman, 2009). Serolojik olarak antijen antikor reaksiyonu esasına dayanan ve gamontların antijen olarak kullanıldığı İFA ve ELİSA gibi testler geliştirilmiştir. Serolojik testler mikroskopik tanıya göre sensitiviteleri oldukça yüksek olarak bulunurken birbirleri arasında önemli bir fark yoktur (Van Heerden, J.ve ark.,1995; Baneth ,1996; Inokuma ,1999; Gonen, 2004). Ülkemizde ve dünyada tanı ve tarama çalışmalarında *H.canis*'in tanısında PCR, realtime

PCR ve sekans analizleri gibi moleküler testler geniş kullanım alanı bulmuştur (Inokuma ,2002; Karagenç ve ark., 2006; Güven ve ark. 2017; Baneth ve ark., 2000; Oyamada ve Ark., 2005; Criado-Fornelio ve Ark., 2007; Li ve Ark., 2008).

Hepatozoon canis ile birlikte aynı vektör kene tarafından bulaştırılan *E.canis*, *B.canis*, *B. gibsoni* gibi diğer kan protozoonlarını da tespit etmeye yarayan multiplex PCR geliştirilmiştir (Kledmanee ve Ark., 2009). Özellikle yaygınlık araştırmalarında vektörlerde *H. canis* varlığı araştırıldığında hemosel, tükrük bezleri veya diğer iç organların Giemsa ile boyanıp incelenmesi ile kenenin vücudunda büyük ookist yapıları ile birlikte içlerinde oval sporokistler görülür (Baneth, G.,2006). Bu analizler çoğunlukla epidemiyolojik çalışmalarda yapılır (Baneth G.ve ark.,2002).

2.5. Tedavi

İmidocarb, diminazene, primaquine ve toltrazuril gibi antiprotozoal ilaçlarla birlikte trimetoprim sulfonamid ve klindamisin gibi tetrasklinler tek başlarına veya çeşitli kombinasyonlarda kullanılmaktadır (Craig, 1990; Baneth ve ark., 1995; Beaufils ve ark.,1996; Parra ve Arraga-Alvarado ,1996; Baneth ve Weigler 1997; Macintire ve ark.,1997; Baneth ,2001). Steroid olmayan aspirin, fenilbutazon ve flunixin meglumin gibi anti-enflamatuar ilaçlar hastalık süresince destekleyici olarak ağrı ve ateş gibi belirtilerin hafifletilmesinde kullanılmaktadır (Barton ve ark., 1985; Craig 1990).

İmidocarb dipropiyonat günlük 5-6 mg/kg dozunda kas içi olarak 14 gün süre ile uygulanır. Bu süreçte kanda gamont varlığı mikroskopik olarak devam edilmelidir. Kanda gamont varlığı devam ediyorsa süre uzatılabilir. Aynı şekilde doksisisiklin 21 gün süre ile oral olarak günlük 10 mg/kg uygulanır (Baneth ve Weigler, 1997). *H.canis* enfeksiyonlarının tedavisinde paraziteminin derecesi çok düşük bile olsa zamanla enfeksiyonun derecesi artabileceğinden enfekte bütün köpeklerle mutlaka tedavi uygulanmalı ve tedavi süresince düzenli aralıklarla sürme kan preparatlarında etken varlığı kontrol edilmelidir (Yıldız K., 2007). Deneyisel oluşturulan enfeksiyon tedavisi çalışmalarında Sulfadoxine + trimethoprim kombinasyonunun 6 gün süre ile 15-20 mg /kg uygulaması ile başarılı sonuç alınmıştır (Rommel ,2000). Hepatozoonozis'in tedavisinde sıklıkla kullanılan İmidocarb dipropiyonat uzun süreli kullanımlarında kanda parazit görülmediğinde kesilir (Baneth ve Weigler, 1997).

İmidocarb dipropionate'ların köpeklerde hepatozoonozis'in tedavisinde etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte *T. brucei*' ye karşı kullanıldıklarında inositolün eritrositlere girişini bloke ettiği, *B. ovis*'e karşı kullanıldığında ise poliamin üreterek etkili olduğu bilinmektedir (Bacchi ,1981; McHardy, 1986).

Köpek hepatozoonlarının bulaşmasında sorumlu vektör *R.sanguineus* olmasından dolayı aynı vektör kene ile bulaştırılan *E. canis*, *Babesia* spp. veya *Anaplasma* spp. diğer kan protozoonları da göz önüne alınarak tedaviye tetrasiklin eklenmesi düşünülmelidir (Baneth, 2006). İmidokarb dipropiyonat sıklıkla adı geçen hastalıkların eşzamanlı olarak tedavi etmek amacıyla 21 gün boyunca oral yoldan verilen 10 mg / Kg'da doksisisiklinle sıklıkla birleştirilir (Baneth, 2003).

Tedavi süresince yayma preparatlar hazırlanarak parazitemi kontrol edilerek prognoz değerlendirilmesi yapılmalı, paraziteminin durumuna göre tedavi protokülü yeniden değerlendirilmelidir (Ivanov A. ve Tsachew I. , 2008).

Tedavide trimethoprim-sülfadiazine, clindamycin, primethamine ve quinalone gibi ilaçlar da kullanılmaktadır (Yıldız K., 2007).

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Kliniklerine dört haftadır süren anoreksi, kilo kaybı, ateş, depresyon ve arka ayaklarda yürüme bozukluğu şikayetleri ile gelen bir köpeğin perifer kanından hazırlanan ince yayma preparatlarının incelenmesi sonucu *H.canis* teşhis koyulmuştur. Köpeğin üzerinde *R. sanguineus* larva ve nimfleri ile enfeste olduğu görülmüştür. Tanı sonrası köpek toltrazuril ve trimethoprim-sulfametoksazol kombinasyonu ile tedaviye alınmıştır. Toltrazuril, 10 mg / kg oral olarak beş gün boyunca günde bir kez, trimetoprim-sülfametoksazol ise günde iki kez 15 mg / kg olarak uygulanmıştır. Ayrıca tedavinin ilk 5 günü intramüsküler olarak B kompleks vitaminleri uygulanmıştır. Yetmiş iki saat içinde köpekte gözle görülür derecede iyileşme olduğu belirlenmiştir. Klinik olarak hareketlenme, yem yeme isteği ve rektal sıcaklığı normale dönmüştür. Onuncu gününde köpek parlak, daha uyanık ve iştahın tamamen normale döndüğü saptanmıştır. Kutanoz erezyon ve kaşıntı, ağrı ve sertlik belirtileri çözülmüştür. Tedavinin yirminci gününde köpeğin durumu düzelmeye devam etmiştir ve egzersize karşı daha iyi bir tolerans göstermiştir fakat iştahı artmasına rağmen hafif anemi devam etmiştir. Mikroskopik incelemede kanda *H. canis* gametositleri görülmüştür. İlaç uygulaması 25 gün devam etmiştir. Otuzuncu günde yapılan mikroskopik incelemede kan örneklerinde *H. canis* gametositi görülmemiştir. Köpek taburcu

edildikten sonra da dört ay boyunca takip edilmiş ve kanda etkene rastlanmamıştır. Bu çalışma ile piyasada bulunmasında sıkıntı yaşanan imidocarp dipropiyonat yerine çoğunlukla koksidiyoz tedavisinde kullanılan ve etkinliği bildirilen toltrazuril'ün kullanılabileceği de gösterilmiştir (Voyvoda H. ve ark. , 2004).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın materyalini sahipleri tarafından veya hayvan severler tarafından tedavi amacıyla Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi kliniklerine getirilen 03.2018-07.2019 tarihleri arasında getirilen köpeklerden toplanan 100 adet kan örneği oluşturmuştur. Köpeklerin *Vena cephalica antebrachii*'den etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ile kaplanmış tüplere yaklaşık 5 ml kan alınmıştır.

Tablo 3.Kan Alınan Köpeklerin Yaş ve Cinsiyet Dağılımı

Kanı Alınan Köpek Sayısı	Yaş Grubu		Cinsiyet	
	0-3 yaş	3 yaş üstü	Dişi	Erkek
100	55	45	53	47

3.1. Mikroskopik Teşhis

Köpeklerin kulak ucundan froti amacıyla da ayrıca kan alınmıştır. Kan örneği alınan köpeklerin cinsiyet, yaş, ırk, vücut kondüsyonları , kliniğe getiriliş sebebi ve kene hikayesi olup olmadığı, düzenli antiparazit uygulaması yapıp yapılmadığı kayıt altına alınmıştır. Mikroskopik muayene için, toplanan kan örneklerinden hızlıca froti hazırlanmıştır. Froti kuruduktan sonra 5 dakika metanol ile fiksasyon işlemine tabi tutulup %5 May-Grunwald Giemsa ile 30 dakika boyanmış ve lamalar mikroskop altında incelenmiştir (Matsuu 2004). Antikoagulanlı kan örnekleri DNA ekstraksiyonu yapılmaya kadar -20 °C'de saklanmıştır.

3.2. DNA ekstraksiyonu

DNA, her bir EDTA'lı kan örneğinin 200 µl'si ticari bir kit kullanılarak firmanın bildirdiği prosedür uygulanarak elde edilmiştir (Invitrogen by life Technologies by Thermo Fisher Scientific USA). Bu prosedüre göre kısaca ;

Her bir kan örneğinden 200 µl steril 1,5 ml'lik ependorf tüplerine kondu. Üzerlerine 20 µl Proteinase K eklendi ve 20 µl RNase eklenerek vortexlendi ve oda sıcaklığında 2dk

inkubasyona bırakıldı. Daha sonra 200 µl PureLink Genomic Lysis /Binding Buffer eklendi ve homejen olana kadar vortexlendi. Daha sonra 55 °C' ye ısıtılmış olan sıcak blokta 10 dk bekletildi. Bloktan alınan örneğin üzerine 200 µl saf etanol eklendi ve vortexlendi. Toplamda yaklaşık 640 µl lizat Pure Link™ Spin Column'a alındı ve 10.000 x g'de santrifüj edildi. Altta kalan kısım atılarak üstteki filtrede kalan kısım yeni ve temiz bir ependorfa geçirildi. Üzerine 500 µl kit içerisinde bulunan yıkama solüsyonu 1 eklendi ve 1 dk 10.000 x g' de santrifüj edildi. Daha sonra altta kalan kısım yine atıldı ve üstteki filtre yeni bir ependorfa geçirilerek 500 µl yıkama solüsyonu 2 eklenerek 14500 x g'de 3 dk santrifüj edildi. Üstteki filtre yeni bir ependorfa alınarak 100 µl Pure Link Genomic Elution eklendi 14500 x g'de 1 dk santrifüj edildi. Alttaki kısım atılarak üstteki filtre alındı ve DNA'nın saklanacağı yeni bir ependorfa geçirildi 1dk 14500 x g'de santrifüj edildi ve DNA PCR yapılncaya kadar - 20 °C de saklandı.

3.3. PCR

Hepatozoon spp. tanısı için soy spesifik 18S ssrRNA gen bölgesinin 666 bp büyüklüğündeki korunmuş bölgeyi çoğaltan Hep-F (5'-ATACATGAGCAAAATCTCAAC-3') ve Hep-R (5'-CTTATTATTCCATGCTGCAG-3') primerleri kullanılarak PCR yapılmıştır (Inokuma ve ark. 2002). PCR için her bir ependorf tüpünde 4 µl hedef DNA içeren 25 µl reaksiyon karışımı hazırlandı. Bu karışımında 100 µM dNTP (deoksinükleosidtrifosfat: dATP, dCTP, dGTP, dTTP, dUTP) (Solis BioDyne OÜ Estonia), 25 pmol forward-reverse primerleri (100pmol/µl), 1.25 U Taq DNA Polymerase hot FIRER ol 5U/ µl (Solis BioDyne OÜ Estonia), 1.50 mM MgCl₂ (Solis BioDyne OÜ Estonia), 10 × PCR buffer (200 mM Tris-HCL, pH 8,3 (25 °C); 200mM KCl; 50mM (NH₄)₂SO₄) (Solis BioDyne OÜ Estonia) kullanıldı. PCR'ın bütün aşamaları GeneAmp PCR sistem 2400 Thermal Cycler cihazında gerçekleşti (Perkin Emler, Foster City, California).

PCR şartlarında ise;

95 °C 5 dk başlangıç denatürasyon aşaması 1 siklus;

94 °C 30 s denatürasyon,

57 °C 30 s primer annealing, 34 siklus

72 °C 90 s ekstensiyon aşamaları;

72 °C 5 dk final ekstensiyon aşaması 1 siklus uygulandı.

Her PCR reaksiyonu pozitif ve negatif kontrol DNA örnekleri içerdi. Pozitif DNA örneği daha önce *Hepatozoon* spp. olarak belirlenen ve sekans analizleri yapılarak Genbank'ta KY247111 erişim numarası ile *H. canis* olarak bulunan Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji ABD' dan sağlandı. Elde edilen PCR ürünleri safe view içeren %1,5 'luk agaroz jelde elektroforez yöntemiyle yürütüldü. Jel ultra viyole (UV) ışık altında incelendi jelin en başına konan DNA belirleyicisi ile bp i ölçülerek örneğin pozitifliği değerlendirildi. PCR aşamasında her bir teste bir *H. canis* pozitif DNA sı ve bir negatif örnek (distile su) ilave edildi.

3.3.1. Sekans ve filogenetik analizleri

PCR ürününün saflaştırılması ve forward-reverse primerleri ile çift yönlü olarak sekanslanması Medsantek/İstanbul firmasından hizmet alımı yapılarak gerçekleştirilmiştir.

İzolatların elde edilen çift yönlü DNA dizileri Geneious 11.0.2 yazılımı ile analiz edildikten sonra forward ve reverse dizilimler birleştirilmiş ve final dizilimler elde edilmiştir (Kearse ve ark. 2013). Elde edilen sekansların tür teşhisleri için Geneious 11.0.2 üzerinden BLASTn analizleri yapılmıştır. Daha sonra izolatların Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinden ve Dünya'dan GenBank'a kaydedilmiş *Hepatazoon* izolatları ile MEGA X

genetik yazılımı kullanılarak çoklu hizalamaları yapılmış, tür içi ve türler arası nükleotid farklılıkları belirlenmiştir (Kumar ve ark. 2018).

Filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde MEGA X genetik yazılım programı kullanılarak Maximum-Likelihood (ML) metodu uygulanmıştır (Kumar ve ark. 2018). Bu aşamada Akaike bilgi kriterlerine göre sekans evrimi için en uygun DNA modelin belirlenmesinde MEGA X genetik yazılımından yararlanılmış ve filogenetik ağacın oluşturulmasında Hasegawa-Kishino-Yano + Gamma distribution (HKY+G) modeli kullanılmıştır (Hasegawa ve ark. 1985; Kumar ve ark. 2018). Nükleotit sekans farklılıklarının (%) çoklu karşılaştırmaları ise Kimura two-parameter modeli kullanılarak belirlenmiştir (Kimura 1980, Kumar ve ark. 2018). *Babesia canis canis* (KF499115) dış dal olarak kullanılmıştır.

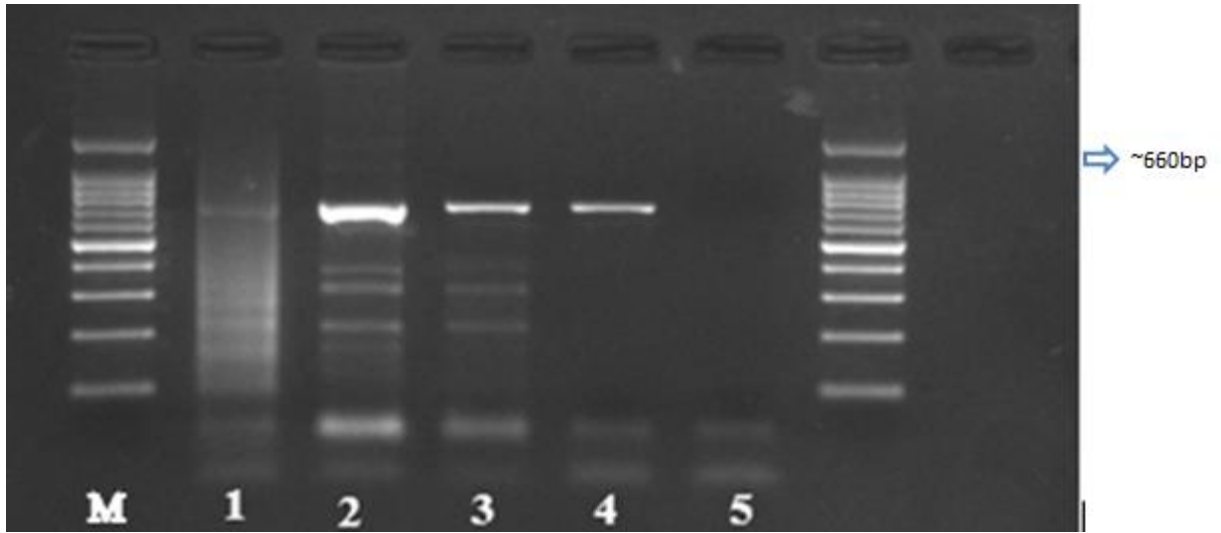


4. BULGULAR

Köpeklerden alınan kan örneklerinden hazırlanan yayma preparatlar X1000 büyütmede ışık mikroskobunda incelenmiştir. Ancak inceleme sonucunda mikroskopta parazitin gamontlarına rastlanmamıştır.

Hepatozoon spp. cinsine spesifik primerler kullanılarak yapılan PCR sonucunda 100 kan örneğinin %3'ünde pozitiflik saptanmıştır. PCR ile pozitiflik sağlanan köpeklerin ikisi dişi biri erkektir. Yaş dağılımında ise 3 ü de 3 yaş üstüdür. Kliniklere kusma ishal gibi gastrointestinal sistem şikayetleri ile getirilmiş olup, periyodik olarak iç dış paraziti uygulamalarının yapıldığı bilgisi edinilmiştir. Ancak geri dönüş bilgilendirilmesinde her üç köpeğin de mevcut sahiplerine gelmeden önce sokak, barınak bahçe hikayeleri olduğu gözlemlenmiştir.

Hepatozoon spp. cinsine spesifik primerler ile pozitif bulunan örneklerin agaroz jel elektroforez görüntüleri, saptanan bantlar, DNA cetveline göre büyüklükleri Resim-2'de verilmiştir.



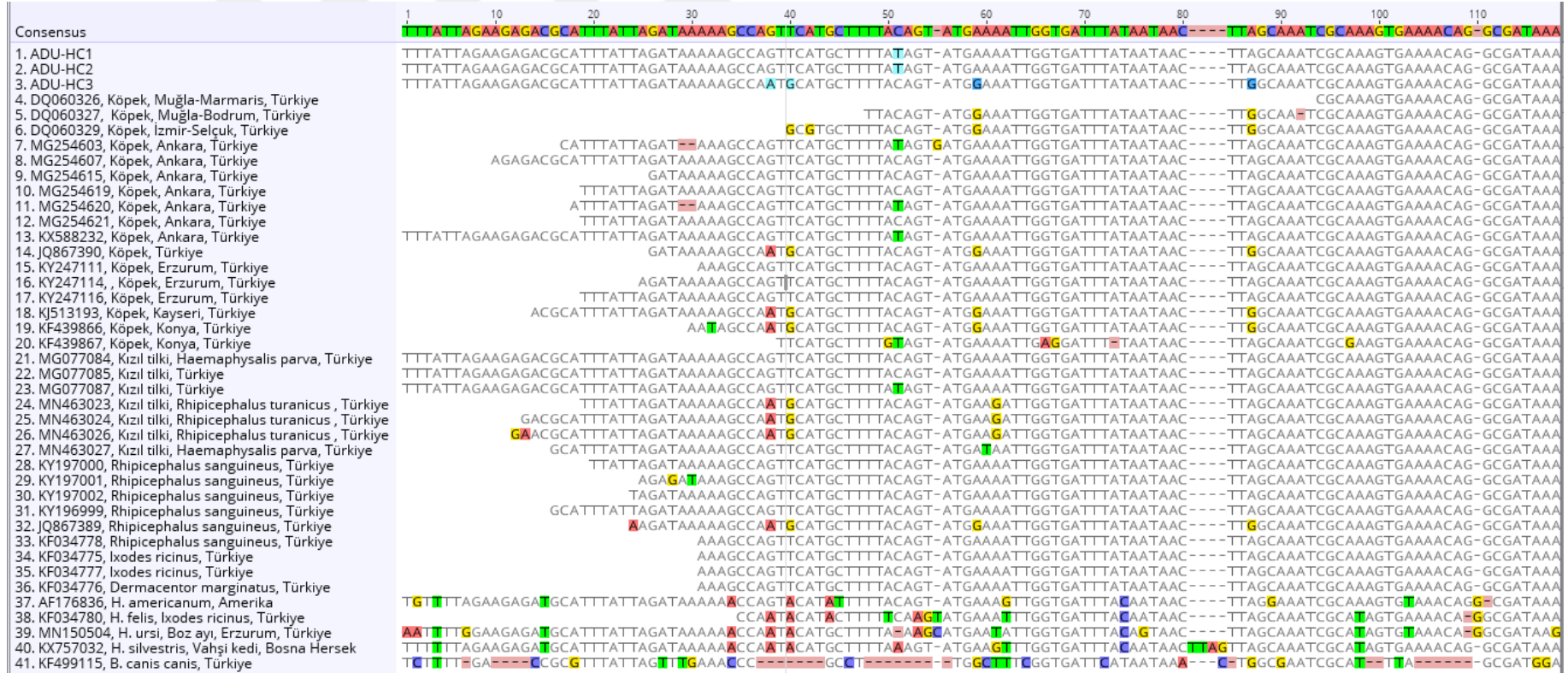
Resim 2. *Hepatozoon* spp. cinsine spesifik primerler ile pozitif bulunan örneklerin agaroz jel elektroforez görüntüleri. M: DNA cetveli (100bp) 2: Pozitif kontrol 1, 3, 4 : pozitif örnekler 5: Negatif kontrol (su)

4.1. Moleküler Bulgular

Çalışmada bulunan izolatların 18S rRNA gen bölgesine ait 625 bp uzunluğundaki sekans dizilimleri başarıyla elde edilmiştir. İzolatların 18S rRNA gen bölgesine ait sekans dizilimlerinin BLASTn analizleri sonucunda örnekler *H. canis* olarak teşhis edilmiş ve ADU-HC1-2-3 izolatları olarak isimlendirilmişlerdir. Veri setine dahil edilen *Hepatozoon* izolatlarının çoklu hizalamaları ve nükleotid karşılaştırmaları Şekil-4’de verilmiştir. Gerçekleştirilen analizler sonucunda ADU-HC izolatları kendi aralarında %0-1,6 nükleotid farklılığı göstermiştir. Çalışmada bulunan ADU-HC1-2 izolatları, Ankara’da köpeklerden izole edilen izolatlar (MG254603-20; KX588232 erişim numaralı) ve yine Türkiye’de Kızıl tilkiden izole edilen izolat (MG077087 erişim numaralı) ile %100 benzerlik göstermişlerdir. ADU-HC2 izolatı ise Kayseri’de köpeklerden izole edilen izolat (KJ513193 erişim numaralı) ve yine köpeklerden izole edilen bir başka izolat (JQ867390 erişim numaralı) ile %100 benzerlik göstermiştir. Türkiye’de farklı konaklardan izole edilen ve veri setine dahil edilen *H. canis* izolatlarının tür içi nükleotid farklılıkları %0,0-2,9 olarak belirlenmiştir. Çalışmada bulunan izolatların farklı türlerle olan nükleotid farklılıkları değerlendirildiğinde ise; *H. canis* - *H. americanum* (%6,2-6,4), *H. canis* - *H. felis* (%4,6-4,7), *H. canis* - *H. ursi* (%6,2-6,4), *H. canis* - *H. silvestris* (%6,0-6,6) olduğu görülmüştür (Şekil 5).

18S rRNA gen bölgesine ait filogenetik ağaçta, *H. canis* ve diğer türlerin yer aldığı iki ana cluster oluşmuştur. *H. canis* izolatları kendi arasında farklı clusterlar oluşturmuş olsa da tüm *H. canis* izolatları kendi aralarında gruplanarak diğer *Hepatozoon* türlerinden farklı bir clusterda yer almıştır (Şekil 6). ADU-HC1-2 izolatları Ankara ve Konya’dan bildirilen *H. canis* izolatları ile gruplanırken, ADU-HC3 izolatı yine Ege bölgesinden kaydedilen izolatlar ile aynı grupta yer almıştır. 18S rRNA gen bölgesinin filogenetik ağacı dikkate alındığında Türkiye’de birçok *H. canis* haplotipinin olduğu açıkça görülmektedir.

Şekil 4. Veri setine dahil edilen *Hepatozoon* izolatlarının 18S rRNA gen bölgesinin çoklu hizalamaları ve nükleotid kıyaslamaları



Şekil 4. Veri setine dahil edilen *Hepatozoon* izolatlarının 18S rRNA gen bölgesinin çoklu hizalamaları ve nükleotid kıyaslamaları (devamı)

	120	130	140	150	160	170	180	190	200	210	220	230
Consensus	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
1. ADU-HC1	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
2. ADU-HC2	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
3. ADU-HC3	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
4. DQ060326, Köpek, Muğla-Marmaris, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
5. DQ060327, Köpek, Muğla-Bodrum, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
6. DQ060329, Köpek, İzmir-Selçuk, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
7. MG254603, Köpek, Ankara, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
8. MG254607, Köpek, Ankara, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
9. MG254615, Köpek, Ankara, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
10. MG254619, Köpek, Ankara, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
11. MG254620, Köpek, Ankara, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
12. MG254621, Köpek, Ankara, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
13. KX588232, Köpek, Ankara, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
14. JQ867390, Köpek, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
15. KY247111, Köpek, Erzurum, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
16. KY247114, Köpek, Erzurum, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
17. KY247116, Köpek, Erzurum, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
18. KJ513193, Köpek, Kayseri, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
19. KF439866, Köpek, Konya, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
20. KF439867, Köpek, Konya, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
21. MG077084, Kızıl tilki, Haemaphysalis parva, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
22. MG077085, Kızıl tilki, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
23. MG077087, Kızıl tilki, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
24. MN463023, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
25. MN463024, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
26. MN463026, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
27. MN463027, Kızıl tilki, Haemaphysalis parva, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
28. KY197000, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
29. KY197001, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
30. KY197002, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
31. KY196999, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
32. JQ867389, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
33. KF034778, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
34. KF034775, Ixodes ricinus, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
35. KF034777, Ixodes ricinus, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
36. KF034776, Dermacentor marginatus, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
37. AF176836, H. americanum, Amerika	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
38. KF034780, H. felis, Ixodes ricinus, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
39. MN150504, H. ursi, Boz ayı, Erzurum, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
40. KX757032, H. silvestris, Vahşi kedi, Bosna Hersek	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC
41. KF499115, B. canis canis, Türkiye	TCATTTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGTGAC	GGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGGAGC	CTGAGAAACGGCTAC

Şekil 4. Veri setine dahil edilen *Hepatozoon* izolatlarının 18S rRNA gen bölgesinin çoklu hizalamaları ve nükleotid kıyaslamaları (devamı)

Consensus	120	130	140	150	160	170	180	190	200	210	220	230
1. ADU-HC1	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
2. ADU-HC2	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
3. ADU-HC3	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
4. DQ060326, Köpek, Muğla-Marmaris, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
5. DQ060327, Köpek, Muğla-Bodrum, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
6. DQ060329, Köpek, İzmir-Selçuk, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
7. MG254603, Köpek, Ankara, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
8. MG254607, Köpek, Ankara, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
9. MG254615, Köpek, Ankara, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
10. MG254619, Köpek, Ankara, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
11. MG254620, Köpek, Ankara, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
12. MG254621, Köpek, Ankara, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
13. KX588232, Köpek, Ankara, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
14. JQ867390, Köpek, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
15. KY247111, Köpek, Erzurum, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
16. KY247114, Köpek, Erzurum, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
17. KY247116, Köpek, Erzurum, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
18. KJ513193, Köpek, Kayseri, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
19. KF439866, Köpek, Konya, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
20. KF439867, Köpek, Konya, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
21. MG077084, Kızıl tilki, Haemaphysalis parva, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
22. MG077085, Kızıl tilki, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
23. MG077087, Kızıl tilki, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
24. MN463023, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
25. MN463024, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
26. MN463026, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
27. MN463027, Kızıl tilki, Haemaphysalis parva, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
28. KY197000, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
29. KY197001, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
30. KY197002, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
31. KY196999, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
32. JQ867389, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
33. KF034778, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
34. KF034775, Ixodes ricinus, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
35. KF034777, Ixodes ricinus, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
36. KF034776, Dermacentor marginatus, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
37. AF176836, H. americanum, Amerika	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
38. KF034780, H. felis, Ixodes ricinus, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
39. MN150504, H. ursi, Boz ayı, Erzurum, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
40. KX757032, H. silvestris, Vahşi kedi, Bosna Hersek	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC
41. KF499115, B. canis canis, Türkiye	TCATTCAAG	TTTCTGACCT	ATCAGCTTT	CGACGGTAT	TGGTATT	TGGCTTACC	GTGGCAGT	GACGGTTAAC	CGGGGATTAG	GGTTTCGATT	CCGGAGAGGG	AGCCTGAGAAACGGCTAC

Şekil 4. Veri setine dahil edilen *Hepatozoon* izolatlarının 18S rRNA gen bölgesinin çoklu hizalamaları ve nükleotid kıyaslamaları (devamı)

	360	370	380	390	400	410	420	430	440	450	460	470
Consensus	AA	TTAAACCC	TTTAAAGTATCAAT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
1. ADU-HC1	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
2. ADU-HC2	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
3. ADU-HC3	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
4. DQ060326, Köpek, Muğla-Marmaris, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
5. DQ060327, Köpek, Muğla-Bodrum, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
6. DQ060329, Köpek, İzmir-Selçuk, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
7. MG254603, Köpek, Ankara, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
8. MG254607, Köpek, Ankara, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
9. MG254615, Köpek, Ankara, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
10. MG254619, Köpek, Ankara, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
11. MG254620, Köpek, Ankara, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
12. MG254621, Köpek, Ankara, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
13. KX588232, Köpek, Ankara, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
14. JQ867390, Köpek, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
15. KY247111, Köpek, Erzurum, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
16. KY247114, Köpek, Erzurum, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
17. KY247116, Köpek, Erzurum, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
18. KJ513193, Köpek, Kayseri, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
19. KF439866, Köpek, Konya, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
20. KF439867, Köpek, Konya, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
21. MG077084, Kızıl tilki, Haemaphysalis parva, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
22. MG077085, Kızıl tilki, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
23. MG077087, Kızıl tilki, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
24. MN463023, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
25. MN463024, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
26. MN463026, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
27. MN463027, Kızıl tilki, Haemaphysalis parva, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
28. KY197000, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
29. KY197001, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
30. KY197002, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
31. KY196999, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
32. JQ867389, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
33. KF034778, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
34. KF034775, Ixodes ricinus, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
35. KF034777, Ixodes ricinus, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
36. KF034776, Dermacentor marginatus, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
37. AF176836, H. americanum, Amerika	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
38. KF034780, H. felis, Ixodes ricinus, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
39. MN150504, H. ursi, Boz ayı, Erzurum, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
40. KX757032, H. silvestris, Vahşi kedi, Bosna Hersek	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				
41. KF499115, B. canis canis, Türkiye	AA	TTTAACCCCTTTT	TAAAGTATCAATT	TGGAGGGCAAGT	CTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT	TCCAGCTCCAATAGCGTATAT	TAAAAATTGTTGCAGT	TAAAAAGCTCGTAGTTGAAG				

Şekil 4. Veri setine dahil edilen *Hepatozoon* izolatlarının 18S rRNA gen bölgesinin çoklu hizalamaları ve nükleotid kıyaslamaları (devamı)

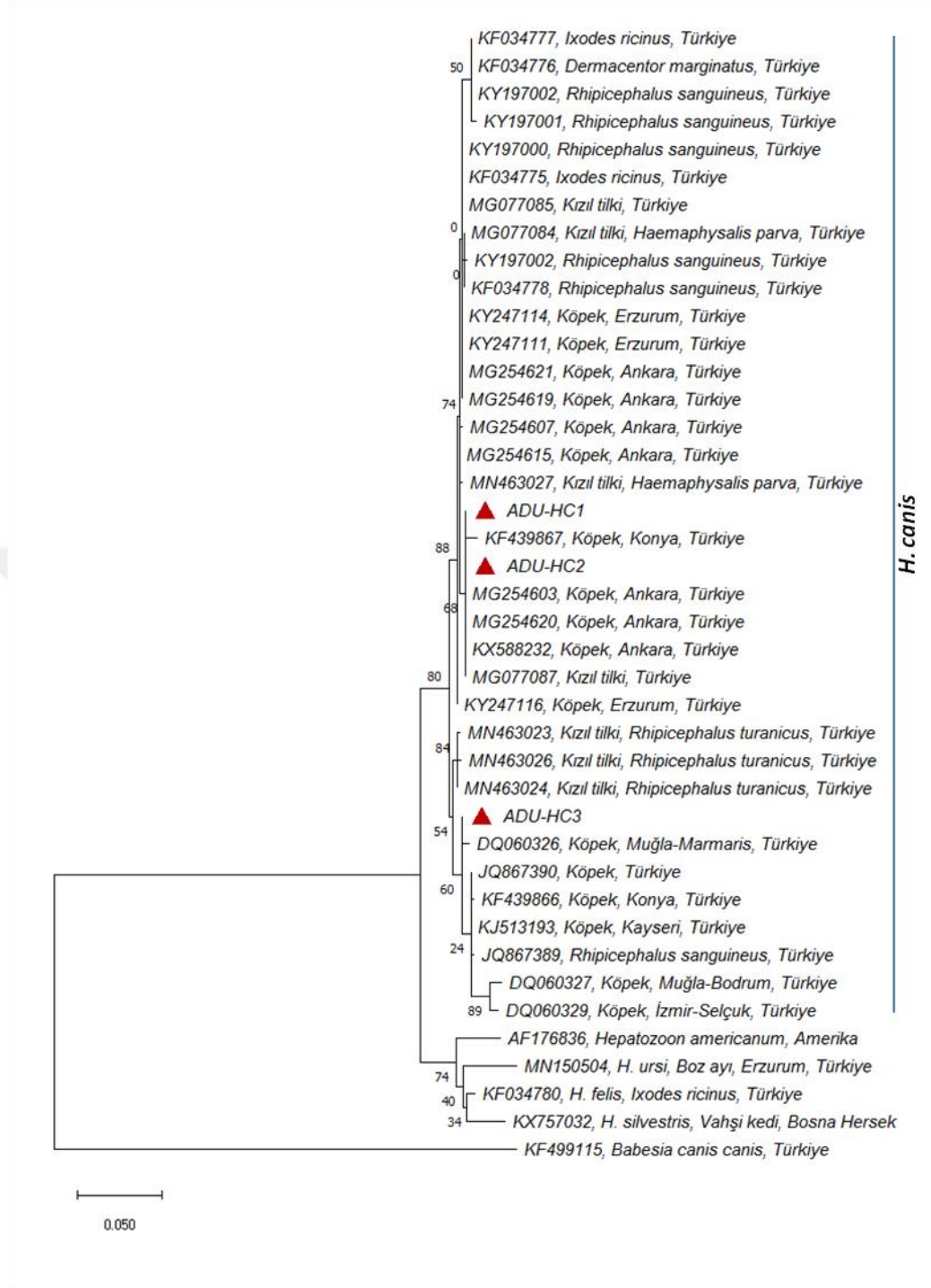
	480	490	500	510	520	530	540	550	560	570	580	590
Consensus	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
1. ADU-HC1	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
2. ADU-HC2	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
3. ADU-HC3	TTCTGCT	AAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
4. DQ060326, Köpek, Muğla-Marmaris, Türkiye	TTCTGCT	AAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
5. DQ060327, Köpek, Muğla-Bodrum, Türkiye	TTCTGCT	AAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
6. DQ060329, Köpek, İzmir-Selçuk, Türkiye	TTCTGCT	AAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
7. MG254603, Köpek, Ankara, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
8. MG254607, Köpek, Ankara, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
9. MG254615, Köpek, Ankara, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
10. MG254619, Köpek, Ankara, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
11. MG254620, Köpek, Ankara, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
12. MG254621, Köpek, Ankara, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
13. KX588232, Köpek, Ankara, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
14. JQ867390, Köpek, Türkiye	TTCTGCT	AAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
15. KY247111, Köpek, Erzurum, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
16. KY247114, Köpek, Erzurum, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
17. KY247116, Köpek, Erzurum, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
18. KJ513193, Köpek, Kayseri, Türkiye	TTCTGCT	AAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
19. KF439866, Köpek, Konya, Türkiye	TTCTGCT	AAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
20. KF439867, Köpek, Konya, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
21. MG077084, Kızıl tilki, Haemaphysalis parva, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
22. MG077085, Kızıl tilki, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
23. MG077087, Kızıl tilki, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
24. MN463023, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	TTCTGCT	AAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
25. MN463024, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	TTCTGCT	AAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
26. MN463026, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	TTCTGCT	AAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
27. MN463027, Kızıl tilki, Haemaphysalis parva, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
28. KY197000, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
29. KY197001, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
30. KY197002, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
31. KY196999, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
32. JQ867389, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TTCTGCT	AAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
33. KF034778, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
34. KF034775, Ixodes ricinus, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
35. KF034777, Ixodes ricinus, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
36. KF034776, Dermacentor marginatus, Türkiye	TTCTGCT	GAAAGTAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TATGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
37. AF176836, H. americanum, Amerika	TTCTGCT	AAAAATAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
38. KF034780, H. felis, Ixodes ricinus, Türkiye	TTCTGCT	AAAAATAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
39. MN150504, H. ursi, Boz ayı, Erzurum, Türkiye	TTCTGCT	AAAAATAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
40. KX757032, H. silvestris, Vahşi kedi, Bosna Hersek	TTCTGCT	AAAAATAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---
41. KF499115, B. canis canis, Türkiye	TTCTGCT	AAAAATAACCGGTC	TGCTTTTAATA	-----	AAAGTGGTATC	TTGG	TGTGTATTTAGC	---AATGATGTCC	TTTG	AAGTGTTTT	TTACTTTATTGTAATAAA	---

Şekil 4. Veri setine dahil edilen *Hepatozoon* izolatlarının 18S rRNA gen bölgesinin çoklu hizalamaları ve nükleotid kıyaslamaları (devamı)

Consensus	550	560	570	580	590	600	610	620	630	640	650	661
	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
1. ADU-HC1	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
2. ADU-HC2	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
3. ADU-HC3	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
4. DQ060326, Köpek, Muğla-Marmaris, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
5. DQ060327, Köpek, Muğla-Bodrum, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
6. DQ060329, Köpek, İzmir-Selçuk, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
7. MG254603, Köpek, Ankara, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
8. MG254607, Köpek, Ankara, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
9. MG254615, Köpek, Ankara, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
10. MG254619, Köpek, Ankara, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
11. MG254620, Köpek, Ankara, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
12. MG254621, Köpek, Ankara, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
13. KX588232, Köpek, Ankara, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
14. JQ867390, Köpek, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
15. KY247111, Köpek, Erzurum, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
16. KY247114, Köpek, Erzurum, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
17. KY247116, Köpek, Erzurum, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
18. KJ513193, Köpek, Kayseri, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
19. KF439866, Köpek, Konya, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
20. KF439867, Köpek, Konya, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
21. MG077084, Kızıl tilki, Haemaphysalis parva, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
22. MG077085, Kızıl tilki, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
23. MG077087, Kızıl tilki, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
24. MN463023, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
25. MN463024, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
26. MN463026, Kızıl tilki, Rhipicephalus turanicus, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
27. MN463027, Kızıl tilki, Haemaphysalis parva, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
28. KY197000, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
29. KY197001, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
30. KY197002, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
31. KY196999, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
32. JQ867389, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
33. KF034778, Rhipicephalus sanguineus, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
34. KF034775, Ixodes ricinus, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
35. KF034777, Ixodes ricinus, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
36. KF034776, Dermacentor marginatus, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
37. AF176836, H. americanum, Amerika	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
38. KF034780, H. felis, Ixodes ricinus, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
39. MN150504, H. ursi, Boz ayı, Erzurum, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
40. KX757032, H. silvestris, Vahşi kedi, Bosna Hersek	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						
41. KF499115, B. canis canis, Türkiye	ATGATGTCCTTTG-AAGTGT	TTACTTTATTGTAATAAAGCATA	TTTACGAGACTTTT-AC	TTT-GAGAAAAATTAGAGTGT	TTTCTAGCAGGC	TTACGCTT-TGAATA						

Şekil 5. Veri setine dahil edilen *Hepatozoon* izolatlarının 18S rRNA gen bölgesinin nükleotit sekans farklılıklarının ikili karşılaştırmaları

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	
1 ADU-HC1																																									
2 ADU-HC2	0,000																																								
3 ADU-HC3	0,016	0,016																																							
4 DQ060326, Köpek, Muğla-Marmaris, Türkiye	0,010	0,010	0,004																																						
5 DQ060327, Köpek, Muğla-Bodrum, Türkiye	0,029	0,029	0,014	0,010																																					
6 DQ060329, Köpek İzmir-Selçuk, Türkiye	0,022	0,022	0,009	0,008	0,007																																				
7 MG254603, Köpek, Ankara, Türkiye	0,000	0,000	0,017	0,010	0,029	0,022																																			
8 MG254607, Köpek, Ankara, Türkiye	0,005	0,005	0,015	0,010	0,027	0,020	0,005																																		
9 MG254615, Köpek, Ankara, Türkiye	0,003	0,003	0,013	0,010	0,025	0,020	0,003	0,002																																	
10 MG254619, Köpek, Ankara, Türkiye	0,002	0,002	0,015	0,010	0,027	0,020	0,002	0,003	0,002																																
11 MG254620, Köpek, Ankara, Türkiye	0,000	0,000	0,017	0,010	0,029	0,022	0,000	0,005	0,003	0,002																															
12 MG254621, Köpek, Ankara, Türkiye	0,002	0,002	0,015	0,010	0,027	0,020	0,002	0,003	0,002	0,000	0,002																														
13 KX588232, Köpek, Ankara, Türkiye	0,000	0,000	0,016	0,010	0,029	0,022	0,000	0,005	0,003	0,002	0,000	0,002																													
14 JQ867390, Köpek, Türkiye	0,017	0,017	0,000	0,004	0,014	0,009	0,017	0,015	0,013	0,015	0,017	0,015	0,017																												
15 KY247111, Köpek, Erzurum, Türkiye	0,002	0,002	0,015	0,010	0,027	0,020	0,002	0,003	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,015																											
16 KY247114, Köpek, Erzurum, Türkiye	0,002	0,002	0,015	0,010	0,027	0,020	0,002	0,003	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,015	0,000																										
17 KY247116, Köpek, Erzurum, Türkiye	0,005	0,005	0,012	0,008	0,023	0,018	0,005	0,003	0,002	0,003	0,005	0,003	0,005	0,012	0,003	0,003																									
18 KJ513193, Köpek, Kayseri, Türkiye	0,016	0,016	0,000	0,000	0,000	0,002	0,016	0,014	0,014	0,014	0,016	0,014	0,016	0,000	0,014	0,014	0,012																								
19 KF439866, Köpek, Konya, Türkiye	0,019	0,019	0,002	0,004	0,014	0,009	0,017	0,017	0,015	0,017	0,017	0,015	0,017	0,017	0,017	0,017	0,019	0,002	0,017	0,017	0,014	0,002																			
20 KF439867, Köpek, Konya, Türkiye	0,007	0,007	0,023	0,012	0,036	0,030	0,007	0,012	0,010	0,009	0,007	0,009	0,007	0,023	0,009	0,009	0,012	0,023	0,023																						
21 MG077084, Kızıl tilki, <i>Haemaphysalis parva</i> , Türkiye	0,003	0,003	0,013	0,010	0,025	0,020	0,003	0,002	0,000	0,002	0,003	0,002	0,003	0,014	0,002	0,002	0,002	0,014	0,015	0,010																					
22 MG077085, Kızıl tilki, Türkiye	0,002	0,002	0,015	0,010	0,027	0,020	0,002	0,003	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,015	0,000	0,000	0,003	0,014	0,017	0,009	0,002																				
23 MG077087, Kızıl tilki, Türkiye	0,000	0,000	0,016	0,010	0,029	0,022	0,000	0,005	0,003	0,002	0,000	0,002	0,000	0,017	0,002	0,002	0,005	0,016	0,019	0,007	0,003	0,002																			
24 MN463023, Kızıl tilki, <i>Rhipicephalus turanicus</i> , Türkiye	0,015	0,015	0,008	0,008	0,023	0,018	0,015	0,013	0,012	0,013	0,015	0,013	0,015	0,008	0,014	0,013	0,010	0,010	0,010	0,021	0,012	0,013	0,015																		
25 MN463024, Kızıl tilki, <i>Rhipicephalus turanicus</i> , Türkiye	0,013	0,013	0,007	0,006	0,021	0,017	0,013	0,012	0,010	0,012	0,013	0,012	0,013	0,007	0,012	0,012	0,008	0,008	0,008	0,019	0,010	0,012	0,013	0,002																	
26 MN463026, Kızıl tilki, <i>Rhipicephalus turanicus</i> , Türkiye	0,017	0,017	0,010	0,006	0,021	0,017	0,013	0,015	0,010	0,012	0,013	0,012	0,017	0,007	0,012	0,012	0,008	0,008	0,008	0,019	0,013	0,015	0,017	0,002	0,002																
27 MN463027, Kızıl tilki, <i>Haemaphysalis parva</i> , Türkiye	0,005	0,005	0,015	0,010	0,027	0,022	0,005	0,003	0,002	0,003	0,005	0,003	0,005	0,015	0,003	0,003	0,003	0,016	0,017	0,012	0,002	0,003	0,005	0,013	0,012	0,012															
28 KY197000, <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , Türkiye	0,002	0,002	0,015	0,010	0,027	0,020	0,002	0,003	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,015	0,000	0,000	0,003	0,014	0,017	0,009	0,002	0,000	0,002	0,013	0,012	0,012	0,003														
29 KY197001, <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , Türkiye	0,010	0,010	0,020	0,012	0,029	0,022	0,010	0,005	0,007	0,008	0,010	0,008	0,010	0,020	0,005	0,008	0,008	0,018	0,020	0,014	0,007	0,008	0,010	0,019	0,017	0,017	0,008	0,008													
30 KY197002, <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , Türkiye	0,007	0,007	0,017	0,012	0,029	0,022	0,007	0,002	0,003	0,005	0,007	0,005	0,007	0,017	0,005	0,005	0,005	0,014	0,019	0,014	0,003	0,005	0,007	0,015	0,013	0,013	0,005	0,005	0,003												
31 KY197002, <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , Türkiye	0,003	0,003	0,013	0,010	0,025	0,020	0,003	0,002	0,000	0,002	0,003	0,002	0,003	0,013	0,002	0,002	0,002	0,014	0,015	0,010	0,000	0,002	0,003	0,012	0,010	0,010	0,002	0,002	0,007	0,003											
32 JQ867389, <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , Türkiye	0,019	0,019	0,002	0,004	0,014	0,009	0,019	0,017	0,014	0,017	0,019	0,017	0,019	0,000	0,015	0,015	0,013	0,002	0,002	0,023	0,015	0,017	0,019	0,010	0,008	0,008	0,017	0,017	0,020	0,019	0,015										
33 KF034778, <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , Türkiye	0,002	0,002	0,012	0,010	0,022	0,020	0,002	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000	0,002	0,012	0,000	0,000	0,002	0,014	0,014	0,009	0,000	0,000	0,002	0,011	0,009	0,009	0,002	0,000	0,002	0,002	0,000	0,012									
34 KF034775, <i>Ixodes ricinus</i> , Türkiye	0,002	0,002	0,012	0,010	0,022	0,020	0,002	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000	0,002	0,012	0,000	0,000	0,002	0,014	0,014	0,009	0,000	0,000	0,002	0,010	0,009	0,009	0,002	0,000	0,002	0,002	0,000	0,012	0,000								
35 KF034777, <i>Ixodes ricinus</i> , Türkiye	0,007	0,007	0,017	0,012	0,029	0,022	0,007	0,002	0,003	0,005	0,007	0,005	0,007	0,017	0,005	0,005	0,005	0,014	0,019	0,014	0,003	0,005	0,007	0,015	0,014	0,014	0,005	0,005	0,000	0,000	0,003	0,017	0,002	0,002							
36 KF034776, <i>Dermacentor marginatus</i> , Türkiye	0,007	0,007	0,017	0,012	0,029	0,022	0,007	0,002	0,003	0,005	0,007	0,005	0,007	0,017	0,005	0,005	0,005	0,014	0,019	0,014	0,003	0,005	0,007	0,015	0,014	0,014	0,005	0,005	0,000	0,000	0,003	0,017	0,002	0,002	0,000						
37 AF176836, <i>H. americanum</i> , Amerika	0,062	0,062	0,064	0,044	0,071	0,068	0,061	0,062	0,060	0,059	0,059	0,059	0,062	0,062	0,060	0,060	0,057	0,055	0,064	0,067	0,063	0,062	0,062	0,063	0,062	0,066	0,060	0,059	0,067	0,063	0,059	0,063	0,059	0,060	0,064	0,064					
38 KF034780, <i>H. felis</i> , <i>Ixodes ricinus</i> , Türkiye	0,046	0,046	0,047	0,036	0,061	0,057	0,047	0,047	0,046	0,044	0,046	0,044	0,046	0,047	0,044	0,044	0,044	0,044	0,047	0,050	0,046	0,044	0,046	0,046	0,044	0,044	0,047	0,044	0,049	0,049	0,046	0,047	0,046	0,045	0,049	0,049	0,030				
39 MN150504, <i>H. ursi</i> , Boz ayı, Erzurum, Türkiye	0,062	0,062	0,064	0,048	0,071	0,065	0,057	0,060	0,058	0,055	0,055	0,055	0,062	0,058	0,056	0,056	0,055	0,054	0,060	0,061	0,064	0,062	0,062	0,055	0,054	0,058	0,058	0,055	0,065	0,061	0,057	0,059	0,057	0,058	0,062	0,062	0,047	0,031			
40 KX757032, <i>H. silvestris</i> , Vahşi kedi, Bosna Hersek	0,060	0,060	0,066	0,056	0,080	0,075	0,060	0,063	0,061																																



Şekil 6. *Hepatozoon* izolatları arasındaki filogenetik ilişkiler. *Hepatozoon* türlerinin 18S rRNA veri setinin filogenisinde HKY+G modelini temel alan Maximum-Likelihood (ML) analiz yöntemi kullanılmıştır. *Babesia canis canis* (KF499115) dış grup olarak kullanılmıştır. İzolatlar GenBank erişim numaraları, konak ve lokasyonları ile birlikte verilmiştir. Bu çalışmada saptanan izolatlar üçgen sembolü ile işaretlenmiştir. Ölçek çizgisi %0,050 farklılığı göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Hepatozoon canis enfeksiyonunun omurgalı konaklara aktarılması ya doğrudan vektör kenelerinin ya da enfektif sporozoitleri olan olgun oositleri içeren kenelerin parçalarının alınması yoluyla gerçekleşmektedir. Köpeklerde *H. canis* enfeksiyonu farklı klinik belirtilere neden olmaktadır. Bu parazit genellikle hafif semptomlara neden olup subklinik bir seyir gösterir ancak hayatı tehdit edici belirtilere de neden olabilir. Hastalık ağır vakalarda ateş, anoreksi, uyuşukluk, kaşeksi, hiper globulinemi, kilo kaybı ve anemi ile karakterizedir (Baneth ve Vincent-Johnson, 2006).

Hepatozoon canis enfeksiyonundan şüphelenilen köpeklerde periferik kandan hazırlanan frotilerin Giemsa boyamalarında nötrofillerin nadiren monositlerin içerisinde parazitin oval şekilli 8-12 / 3-6 µm boyutlarında görülmesi tanının konulması için yeter kabul edilmektedir (Baneth, G.,2006). Nitekim paraziteminin düşük düzeyde bulunduğu hayvanlarda ya da froti sahası içerisinde etkenin belirlenememiş olması hastalığın bulunmadığı anlamını da taşımamakta birlikte, kas, lenf yumrusu, kemik iliği veya dalak gibi organlardan alınan biyopsi örneklerinde de inceleme yapılmasının önemi vurgulanmaktadır (Taboada 1999).

Söz konusu biyopsi örneklerinde şizontlar yaklaşık 30 µm çapında yuvarlak veya oval iki veya dört makromerozoit veya 20 mikromerozoitten fazla oluşumların gözlemlendiği oluşumlar olarak görülmekte ve "tekerlek direği" olarak da isimlendirilmektedir (Baneth, ,2006).

Paraziteminin düşük olduğu olgularda buffy coat tabakası elde edilerek hazırlanan preparatlar boyanarak mikroskopik inceleme yapılabilir (Bowman 2009). Hastalığın tespitinde serolojik olarak IFA ve ELİSA gibi testlerden de yararlanılmaktadır. Mikroskopik tanı ile yapılan karşılaştırmalarda IFA ve ELİSA yöntemlerinin sensivitelerinin oldukça yüksek olduğu ancak her iki serolojik testin kendi aralarında tanısal anlamda önemli farklılıklarının bulunmadığı bir çok araştırmacı tarafından belirtilmektedir (Van Heerden, J.ve ark.1995, Baneth 1996, Inokuma 1999, Gonen 2004).

Son yıllarda hemen her parazitemi durumunun değerlendirilmesinde yaygın bir şekilde kullanılan PCR yöntemi *H.canis*'in tanısında da PCR, realtime PCR ve sekans

analizleri gibi moleküler testler geniş kullanım alanı bulmuştur (Inokuma ve ark. 2002; Karagenç ve ark. ., 2006; Baneth ve ark., 2000; Oyamada ve ark., 2005; Criado-Fornelio ve ark., 2007; Li ve ark., 2008).

Hepatozoon canis ile birlikte aynı vektör kene tarafından bulaştırılan *E.canis*, *B.canis*, *B. gibsoni* gibi diğer kan protozoonlarını da tespit etmeye yarayan multiplex PCR geliştirilmiştir (Kledmanee ve ark., 2009). Özellikle epidemiyolojik çalışmalarda PCR tercih edilen önemli tanısal metodlar arasında yer almaktadır (Baneth, G.,2006; Baneth, G.ve ark.,2002). Tez çalışmamız kapsamında yapılan prevalans çalışmasında da değerlendirmeler periferik yaymada mikroskopik değerlendirme ve PCR sonucu elde edilen ürünlerin sekanslanması ile gerçekleştirilmiştir.

Köpeklerde kene kaynaklı patojenlerin varlığı ve prevalansının bilinmesi, tedavi, kontrol ve korunma önlemleri için moleküler epizootiyolojilerinin ortaya konması önem taşımaktadır. Uluslararası seyahat aktivitelerinin artması ile birlikte, köpekleri ile seyahat edenler, ekolojik ve iklimsel değişiklikler enfeksiyonların yayılmasına neden olarak hastalıkların bulaşma riskini artırmaktadır. Bu çerçevede köpeklerde klinik ve subklinik seyirli babesiosis, hepatozoonosis, anaplasmosis ve ehrlichiosis gibi kenelerle nakledilen enfeksiyonların takiplerinin yapılabilmesi hem insan hem de hayvan sağlığı açısından oldukça önem arz etmektedir (Irvin P., 2009). Araştırmamız kapsamında da vektör kaynaklı hastalıkların yaygın bir şekilde görüldüğü bölgemizde *H. canis* enfeksiyonu varlığı değerlendirildi. Ege Bölgesi'nde evcil hayvanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmada *H. canis* enfeksiyonu varlığı mikroskopik, serolojik ve moleküler olarak tespit edilmiş olup 349 köpekte kan preparatlarında %10.6, PCR sonucunda ise %25.8 pozitiflik görülmüştür (Karagenç ve ark., 2006). Bununla birlikte Aktaş ve ark. (2013) Güney-Doğu Anadolu Bölgesi'nde gerçekleştirilen bir başka moleküler çalışmada ise 63 köpeğin %15.87'si PCR ile *H. canis* yönünden pozitif bulunmuş ve ayrıca toplanan kenelerde *H.canis* ve *H. felis* etkenleri tespit edilmiştir. Bahsedilen araştırma ile birlikte insanlardan toplanan *Rh. sanguineus*, *Dermacentor marginatus*, *Haemaphysalis sulcata*, *Haemaphysalis* spp. (nimf), *Ixodes ricinus* ve *Ixodes* spp. (nimf) kenelerinden *H. canis*'ait DNA izole edilmiştir (Aktaş M., 2014). Tilkilerde yapılan bir çalışmada ise, *H. canis*'in varlığı ülkemizde ilk kez yaban hayatında tespit edilmiştir (Orkun ve Nalbantoğlu, 2018). Orkun ve ark. (2018)'ın gerçekleştirdikleri çalışmada, *Hepatozoon* enfeksiyonu mikroskopik incelemelerde %3,8, PCR sonucunda ise %49,5 pozitiflik saptamışlardır.

Araştırmamız kapsamında şehir yaşıntısında bulunan sahipli köpeklerin periferik kanlarından yapılan mikroskopik incelemelerde ve PCR değerlendirmelerinde hastalığın genel dağılımının % 3 düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Günümüze kadar ülkemiz genelinde yapılan yukarıdaki çalışmalar ile araştırmamızda bulunan sonuçlar karşılaştırıldığında incelenen köpeklerin *H. canis* enfeksiyonunun çok düşük bir düzeyde bulunduğu görülmüştür. Buna sebep olarak araştırmaya dahil edilen köpeklerin sahipli, düzenli iç ve dış parazit mücadelesi yapılan köpekler olması dolayısıyla vektör kene ile karşılaşma durumlarının olmaması ile ilişkilendirilebilir. Çalışmamızda PCR ile pozitiflik sağlanan köpeklerin ikisi dişi biri erkektir. Yaş dağılımında ise 3 ü de 3 yaş üstüdür. Kliniklere kusma ishal gibi gastrointestinal sistem şikayetleri ile getirilmiş olup, periyodik olarak iç dış paraziti uygulamalarının yapıldığı bilgisi edinilmiştir. Ancak geri dönüş bilgilendirilmesinde her üç köpeğin de mevcut sahiplerine gelmeden önce sokak, barınak bahçe hikayeleri olduğu gözlemlenmiştir. Hastalığın klinik formunda trimethoprim-sulfadiazine, klindamisin, ve pyrimethamine uygulamalarının yaklaşık 14 gün süre ile uygulanması önerilmektedir (Ewing ve Panciera, 2003). Vektör kaynaklı diğer hastalıklarda da olduğu gibi *H.canis* enfeksiyonlarında da kene mücadelesi önem taşımaktadır. Bu kapsamda düzenli aralıklarla yapılacak antiparaziter sağaltımlar hastalığın prevalansının azalmasında önemli rol oynamaktadır (Ewing ve Panciera, 2003). Araştırmamız kapsamında incelenilen köpeklerin şehir hayatında sahipli, evde beslenen köpekler olması ve rutin antiparaziter uygulamalarının düzenli olarak yapıldığı belirlendi. Hastalığın prevalansının düşük çıkmasının da söz konusu köpeklerin olası vektör keneler ile temasının düşük düzeyde olması ile şekillendiği düşünülmektedir.

2017’de Erzurum’da yapılan çalışmada araştırmacılar köpeklerde 133 örneğin 43’ü *Hepatozoon* spp. soy düzeyinde pozitif olarak bulmuşlar *H. americanum*’un vektörü *A. maculatum*’un ülkemizde olmamasından dolayı bütün örnekleri *H.canis* olarak kabul etmişlerdir. Örneklerden 7 tanesini sekans analizine göndermişler ve bekledikleri şekilde sonuçlar *H.canis* olarak gelmiştir (Güven ve ark. 2015). Bu çalışmada da benzer şekilde sekans analizleri sonucu bütün örnekler *H. canis* olarak bulunmuştur.

Elde edilen sekans sonuçlarına göre; ADU-HC1-2 izolatları, Ankara’da köpeklerden izole edilen izolatlar (MG254603-20; KX588232 erişim numaralı) ve yine Türkiye’de Kızıl tilkiden izole edilen izolat (MG077087 erişim numaralı) ile %100 benzerlik göstermişlerdir. Filogenetik ağaçta da görüldüğü üzere kızıl tilkilerde bulunan *H. canis* izolatları

köpeklerden ve kenelerden bulunan izolatlarla aynı ve veya yakın clusterlarda yer almıştır. Daha önce yapılan çalışmada da köpeklerden, kurtlardan ve çakallardan izole edilen *H. canis* izolatları filogenetik ağaçta aynı grupta yer aldığı belirlenmiş (Najm ve ark. 2014) ve kurtlar ve çakalların bu etkenin yayılmasında ve dağılımında önemli bir role sahip olabileceği vurgulanmıştır (Majlathova ve ark. 2007). Türkiye’de farklı konaklardan izole edilen *H. canis* izolatlarının tür içi nükleotid farklılıkları %0,0-2,9 olarak belirlenmiştir. 18S rRNA gen bölgesinin filogenetik ağacı dikkate alındığında Türkiye’de birçok *H. canis* haplotipinin olduğu açıkça görülmektedir. Daha önce Pakistan’da yapılan bir çalışmada da *H. canis* olmak üzere tek bir türün olduğu ancak 15 farklı genotipinin olduğu ortaya konulmuş ve *H. canis* izolatlarında tür içi genetik çeşitliliğin oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir (Ahmad ve ark 2018). Çalışmada bulunan izolatlar farklı coğrafik bölgelerdeki izolatlarla benzerlik göstermiş ve aynı grupta yer almıştır. *H. canis*’in geniş bir coğrafyada dağılım gösterdiği daha önce belirtilmiştir (Najm ve ark. 2014). Bu parazitin genetik çeşitliliği, köpeklerin farklı coğrafyalara, ülkelere ve kıtalara insanlar vasıtasıyla taşınmalarının oldukça yaygın olmasıyla açıklanabileceği belirtilmiştir (Vojta ve Ark., 2009; Ul-Hasan ve Ark., 2012; Najm ve ark. 2014). Bu durum, vektör ve vektör kaynaklı hastalıkların yayılmasında önemli olabileceği ve bunun göz ardı edilmemesi gerektiği vurgulanmaktadır (Stich ve Ark., 2014; Sutherst, 2004).

ABD’de, Güney Amerika’da, Afrika’da, Avrupa’da ve Asya’da da dahil olmak üzere, dünyadaki köpeklerde *H. canis* enfeksiyonları tanımlanmıştır. Bugüne kadar Türkiye’de de vaka bildirimleri ve epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır (Tüzdil, 1933; Voyvada ve Ark., 2004; Karagenc ve ark, 2006; Aktaş ve ark., 2013; Güven ve ark., 2017). Genel olarak kene kaynaklı protozoer hastalıklarda (*Theileria* ve *Babesia* başta olmak üzere) prevalans çalışmaları Türkiye’nin bulunduğu 36-42° kuzey paralelleri ile 26-45°er meridyenlerinde Avrupa ve Asya arasında 770.760 km² lik karasal alandan oluşan ve yedi farklı coğrafi bölgeden oluşan farklı ekolojik ve iklim koşullarını gösteren bir kara köprüsünü oluşturan bölgede yer almaktadır (Altay ve ark, 2008; Aydın ve ark., 2012, 2013, 2015). Köpekler söz konusu olduğunda ise tüm ülkeyi temsil eden kene kaynaklı hastalıklar için yapılan daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamız kapsamında hastalıkla mücadelede rutin kene mücadelesinin önemi bir kez daha öne çıkmış olup, yalnızca *H. canis* değil, hemen tüm vektör kaynaklı hastalıklarla mücadelede öncelikle vektör ile mücadele edilmesinin uzun vadede vektör kaynaklı hastalıkların eradike edilmesine katkı sağlayacağı sonucuna ulaşıldı.



KAYNAKLAR

- Aktaş M., Vatansever Z., Altay K., Aydın M.F. ve Dumanli N.** 2010. Molecular evidence for *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* from Turkey. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 104,10–15.
- Aktaş M., Altay K., Ozubek S. ve Dumanli N.** 2012. A survey of ixodid ticks feeding on cattle and prevalence of tick-borne pathogens in the Black Sea Region of Turkey. *Veterinary Parasitology* 187, 567–571.
- Aktaş M., Özübek S., Ipek ND.** 2013. Molecular investigations of *Hepatozoon* species in dogs and developmental stages of *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasitology Research* 112, 2381–2385.
- Aktaş M.,** 2014. A survey of ixodid tick species and molecular identification of tick-borne pathogens. *Veterinary Parasitology* 200,276–283.
- Aktaş M., Özübek S.,** 2017. Transstadial transmission of *Hepatozoon canis* by *Rhipicephalus sanguineus* (Acari, Ixodidae) in field conditions. *Journal of Medical Entomology* 54, 1044–1048.
- Altay K., Aydın MF., Dumanli N., Aktaş M.,** 2008. Molecular detection of *Theileria* and *Babesia* infections in cattle. *Veteriner Parasitology* 158 (4), 295–301.
- Aydın MF., Aktas M.,Dumanli N.,** 2012. Tick Infestations on sheep and goats in the Black Sea Region of Türkiye. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 18 (Suppl. A), A17–A22.
- Aydın M.F., Aktaş M., Dumanli N.,** 2013. Molecular identification of *Theileria* and *Babesia* in sheep and goats in the Black Sea Region in Turkey. *Parasitology Research* 112(8), 2817–2824.
- Aydın, M.F., Aktas, M., Dumanli, N.,** 2015. Molecular identification of *Theileria* and *Babesia* in ticks collected from sheep and goats in the Black Sea region of Turkey. *Parasitol. Res.* 114 (1), 65–69.

B. Weigler. 1997. Retrospective case-control study of hepatozoonosis in dogs in Israel. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 11, 365-370.

Bacchi CJ, Nathan HC, Hutner SH, Duch DS, Nichol CA., 1981. Prevention by polyamines of the curative effect of amicarbalide and imidocarb for *Trypanosoma brucei* infections in mice. *Biochem Pharmacol* 30,883–886

Ball GH.,Chao J.,Telford SR., 1967. The life history of *Hepatozoon rarefaciens* (Sambon and Seligman, 1907) from *Drymarchon corais* (Colubridae), and its experimental transfer to *Constrictor constrictor* (Boidae). *Journal of Parasitology* 53, 897-909.

Baneth G., Harmelin A., Presentey BZ., 1995. *Hepatozoon canis* infection in two dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 206, 1891– 1894.

Baneth G., Shkap V., Presenty BZ., Pipano E., 1996. *Hepatozoon canis*, the prevalence of antibodies and gamonts in dogs in Israel. *Veterinary Research Communication* 20,41–46.

Baneth G., Weigler B., 1997. Retrospective case control study of hepatozoonosis in dogs in Israel. *Journal Veterinary Internal Medicine* 11,365–370.

Baneth G.,Samish M.,Alekseev E.,Aroch I.,Shkap V., 2001. Transmission of *Hepatozoon canis* to dogs by naturally-fed or percutaneously injected *Rhipicephalus sanguineus* ticks. *Journal of Parasitology* 87, 606–611.

Baneth G., Mathew J.S., Shkap V., Macintire DK., Barta JR., Ewing SA., 2003. Canine hepatozoonosis: two disease syndromes caused by separate *Hepatozoon* spp. *Trends Parasitology* 19, 27–31.

Baneth G., Vincent-Johnson N., 2005. Hepatozoonosis. In: Shaw SE, Day MJ (eds) *Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat*, 1st edn. Manson Publ, London, pp 78–88.

Baneth G.,Samish M.,Shkap V., 2007. Life cycle of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa:Adeleorina: Hepatozoidae) in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and domestic dog (*Canis familiaris*). *Journal of Parasitology* 93 (2), 283–299.

Baneth G. 2011. Perspectives on canine and feline hepatozoonosis. *Veterinary Parasitology* 181, 3–11.

Barton CL., Russo EA., Craig TM., Green RW., 1985. Canine hepatozoonosis: a retrospective study of 15 naturally occurring cases. *Journal American Animal Hospital Association* 21, 125–134.

Bashtar A., Abdel-Ghaffar FA., Shazly MA. 1991. Life cycle of *Hepatozoon mehlhorni* sp. nov. in the viper *Echis carinatus* and the mosquito *Culex pipiens*. *Parasitology Research* 77, 402-410.

Beaufil S., Martin-Granel J., Jumelle P. 1996. Hepatozoonosis in dogs and foxes: epidemiology, clinical findings and treatment. *Pratique Medicale and Chirurgicale de l'Animal de Compagnie* 31, 243-253.

Bowman DD., 2009, Georgis' Parasitology for Veterinarians. Saunders Elsevier, Ninth Edition, St. Louis, Missouri.

Clark GM. 1958. *Hepatozoon griseisciuri* n. sp.; A new species of *Hepatozoon* from the Grey squirrel (*Sciurus carolinensis* Gmelin, 1788) with studies on the life cycle. *Journal of Parasitology* 44, 52-63.

Craig TM., 1990. Hepatozoonosis. In: Greene C (ed) Infectious diseases of the dog and cat, 2nd edn. Saunders, Philadelphia, pp 778–785.

Craig TM., 1998. Hepatozoonosis. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat. 2nd Edition. Edited by Greene CE. Philadelphia: W.B. Saunders 458–465.

Criado-Fornelio A., Rey-Valeiron C., Buling A., Barba-Carretero JC., Jefferies R., Irwin P., 2007. New advances in molecular epizootiology of canine hematic protozoa from Venezuela, Thailand and Spain. *Veterinary Parasitology* 144, 261–269.

Dantas-Torres F., Latrofa MS., Weigl S., Tarallo V. D., Lia R. P., Otranto D., 2012. *Hepatozoon canis* infection in ticks during spring and summer in Italy. *Parasitology Research* 110, 695–698.

DeMiranda RL., deCastro JR., Olegário MM., Beletti ME., Mundim AV., O'Dwyer LH., Eyal O., Talmi-Frank D., Cury MC., Baneth G., 2011. Oocysts of *Hepatozoon canis* in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* collected from a naturally infected dog. *Veterinary Parasitology* 177 (3–4), 392–396.

Desser S. S. 1990. Tissue "cysts" of *Hepatozoon griseisciuri* in the grey squirrel, *Sciurus carolinensis*: The significance of these cysts in species of *Hepatozoon*. *Journal of Parasitology* 76, 257-259.

Duscher , Hodžić A., Alić A., Fuehrer HP., Harl J., Wille-Piazzai W., 2015. A molecular survey of vector-borne pathogens in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Bosnia and Herzegovina. *Parasites Vectors* 8, 88. Irwin, P.J., Jefferies, R., 2004. Arthropod-transmitted diseases of companion animals in Southeast Asia. *Trends Parasitology* 20, 27–34.

Elias E., Homans PA., 1988. *Hepatozoon canis* infection in dogs: clinical and hematological findings; treatment. *Journal Small Animal Practice* 29,55–62.

Ewing SA.,Panciera RJ. 2003. American canine hepatozoonosis. *Clinical microbiology reviews* 16(4), 688-697.

Ezeokoli CD, Ogunkoya AB, Abdullahi R, Tekdek LB, Sannusi A, Ilemobade AA., 1983. Clinical and epidemiological studies on canine hepatozoonosis in Zaria, Nigeria. *Journal Small Anim Practice* 24,455–460.

Florioti H.,Duymuş H., 2014. “Eski Kültürlerde Köpeğin Algılanışı: “Eski Mezopotamya Örneği”, *A.Ü. Tarih Araştırmaları Dergisi*, Cilt XXXIII, Sayı: 55, Ankara, s. 45-70.

Forlano M.,Scofield A.,Elisei C., Fernandes KR., Ewing SA., Massard CL.. 2005. Diagnosis of *Hepatozoon* spp in *Amblyomma ovale* and its experimental transmission in domestic dogs in Brazil. *Veterinary Parasitology* 134, 1–7.

Gabrielli, S., Kumlien, S., Calderini, P., Brozzi, A., Iori, A., Cancrini, G., 2010. The first report of *Hepatozoon canis* identified in *Vulpes vulpes* and ticks from Italy. *Vector Borne Zoonotic Diseases* 10, 855–859.

Giannelli A., Ramos RA., Di Paola G., Mencke N., Dantas-Torres F., Baneth G., Otranto D., 2013a. Transstadial transmission of *Hepatozoon canis* from larvae to nymphs of *Rhipicephalus sanguineus*. *Veterinary Parasitology* 196, 1–5.

Giannelli A., Ramos RA., Dantas-Torres F., Mencke N., Baneth G., Otranto D., 2013b. Experimental evidence against transmission of *Hepatozoon canis* by *Ixodes ricinus*. *Ticks Tick Borne Diseases* 4, 391–394.

Guven E, Avcioglu H, Cengiz S, Hayirli A., 2017. Vector-Borne Pathogens in Stray Dogs in Northeastern Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2017 Aug;17(8):610-617. doi: 10.1089/vbz.2017.2128.

Harmelin A., Presentey BZ. 1995. *Hepatozoon canis* infection in two dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 206, 1891-1894.

Hervas J., Carrasco L., Gomez-Villamandos JC., 1995. Acute fatal *hepatozoonosis* in a puppy: histological and ultrastructural study. *Veterinary Record* 137, 518–519.

Hornok S.,Tanczos B.,Isabel G.,de Mera F.,de la Fuente J.,Hofmann- Lehmann R., Farkas R. 2013. High prevalence of *Hepatozoon*-infection. among shepherd dogs in a region considered to be free of *Rhipicephalus sanguineus*. *Veterinary Parasitology* 196, 189–193.

Kamani J.,Baneth G.,Mumcuoglu KY.,Waziri NE.,Eyal O.,Guthmann Y.,Harrus S., 2013 Molecular detection and characterization of tick-borne pathogens in dogs and ticks from Nigeria, *Plos Neglected Tropical Diseases* 7 (3) .

Jittapalapong S., Rungphisutthipongse O., Maruyama S., Schaefer JJ., Stich RW., 2006. Detection of *Hepatozoon canis* in stray dogs and cats in Bangkok, Thailand. *Annals New York Academy Science* 1081, 479–488.

Johnson EM., Panciera RJ., Allen KE., Sheets ME., Beal JD., Ewing SA., Little SE., 2009b. Alternate pathway of infection with *Hepatozoon americanum* and the epidemiologic importance of predation. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23, 1315–1318.

Karagenc TI., Pasa S., Kirli G., Hosgor M., Bilgic HB., Ozon YH., Atasoy A., Eren H., 2006. A parasitological, molecular and serological survey of *Hepatozoon canis* infection in dogs around the Aegean coast of Turkey *Veterinary Parasitology* 135,113–119.

Kjemtrup AM.,Conrad PA. 2006. A review of the small canine piroplasms from California: *Babesia conradae* in the literature, *Veterinary Parasitology* 138 (1-2) 112–117.

Kledmanee K., Suwanpakdee S., Krajangwong S., Chatsiriwech J., Suksai P., Suwannachat P., Sariya L., Buddhirongawatr R., Charoonrut P., Chaichoun K., 2009. Development of multiplex polymerase chain reaction for detection of *Ehrlichia canis*,

Babesia spp. and *Hepatozoon canis* in canine blood. *Southeast Asian. Journal Tropical Medicine Public Health* 40, 35–39.

Krampitz HE, Haberkorn A., 1988. Experimental treatment of *Hepatozoon* infections with anticoccidial agent toltrazuril. *Journal Veterinary Medical Science* 35,131–137.

Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K.,2018 MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms.*Molecular Biology and Evolution*, Volume 35, Issue 6, June 2018, Pages 1547–1549.

Landau I., Michel JC., Chabaud AG.,Brygoo ER., 1972. Cycle biologique d'*Hepatozoon domergeui*; Discussion sur les caractères fondamentaux d'un cycle de coccidie. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 38, 250–270.

Landau I. 1973. A comparison of the life cycles of *Toxoplasma* and *Hepatozoon*,with referencet o the generalp henomenona ndt he role of cyst formation in the coccidia. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 67, 403-407.

Li Y., Wang C., Allen KE., Little SE., Ahluwalia SK., Gao D., Macintire DK., Blagburn BL., Kaltenboeck B., 2008. Diagnosis of canine *Hepatozoon* spp. infection by quantitative PCR. *Veterinary Parasitology* 157, 50–58.

Little SE., Allen KE., Johnson EM., Panciera RJ., Reichard MV., Ewing SA., 2009. New developments in *canine hepatozoonosis* in NorthAmerica: a review. *Parasitology Vectors* 2 (Suppl. 1), S5.

Aydin M.F., Sevinc F., Sevinc M., 2015 Molecular detection and characterization of *Hepatozoon* spp. in dogs from the central part of Turkey, *Ticks and Tick-Borne Diseases* 6, 388–392.

Zahler M., Rinder H., Zweggarth E., Fukata T., Maede Y., Schein E., Gothe R., 2000. '*Babesia gibsoni*' of dogs from North America and Asia belong to different species, *Parasitology* 120, 365–369.

Macintire DK, Vincent-Jonson N, Dillon AR, Blagburn B, Lindsay D, Whitley EM, Banfield C., 1997. *Hepatozoonosis* in dogs. 22 cases (1989–1994). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 210,916–922.

Mathew JS.,Ewing SA.,Panciera RJ.,Woods JP. 1998. Experimental transmission of *Hepatozoon americanum* Vincent- Johnson et al., 1997 to dogs by the Gulf Coast tick, *Amblyomma maculatum* Koch. *Veterinary Parasitology* 80, 1-14.

Mathew JS., Van Den Bussche RA., Ewing SA., Malayer JR., Latha BR., Panciera RJ., 2000. Phylogenetic relationships of *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleorina) based on molecular, morphologic, and life-cycle characters. *Journal of Parasitology* 86, 366– 372.

Matsuu A, Ono S, Ikadai H, Uchide T, Imamura S, Onuma M, Okano S, Higuchi S., 2005. Development of a SYBR green real-time polymerase chain reaction assay for quantitative detection of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) DNA. *Journal Veterinary Diagn Invest* 17, 569-573.

McHardy N, Woollon RM, Clampitt RB, James JA, Crawley RJ., 1986. Efficacy, toxicity and metabolism of imidocarb dipropionate in the treatment of *Babesia ovis* infection in sheep. *Research Veterinary Science* 41,14–20.

Mehlhorn H. 2001. Encyclopedic reference of parasitology, biology, structure,function.2. edition, Heidelberg: Springer-Verlag.

Michel J. C. 1973. *Hepatozoon mauritanicum* (Et. et Ed. Sergent, 1904) n. comb., parasited e Testudog raeca: Redescriptiond e la sporogonie chez *Hyalomma aegyptiuyum* et de la schizogonie tissulaire d'apres le materiel d'E. Brumpt. *Annales de Parasitologie* 48, 11-21.

Miller WW., 1908. *Hepatozoon perniciosum* a haemogregarine pathogenic for white rats; With a brief description of the sexual cycle in the intermediate host, a mite (*Laelaps echidninus* Berlese). *Bull Hygiene Laboratory Washington* 46, 51–123.

Murata T., Shiramizu K., Hara Y., Inoue M., Shimoda K., Nakama S., 1991. First case of *Hepatozoon canis* infection of a dog in Japan. *Journal Veterinary Medical Science* 53, 097–099.

Murata, T., Inoue, M., Tateyama, S., Taura, Y., Nakama, S., 1993. Vertical transmission of *Hepatozoon canis* in dogs. *Journal Veterinary Medical Science* 55, 867–868.

Murata T., Shimoda K., Inoue M., Shiramizu K., Kanoe M., Taura Y., Nakama S., 1993. Seasonal periodical appearance of *Hepatozoon canis* gamont in the peripheral blood. *Journal Veterinary Medical Science* 55, 877–879.

Murata T., Inoue M., Taura Y., Nakama S., Abe H., Fujisaki K., 2005. Detection of *Hepatozoon canis* oocyst from ticks collected from the infected dogs. *Journal Veterinary Medical Science* 57, 111–112.

Mylonakis M.E., Koutinas A.F., Billinis C., Leontides L.S., Kontos V., Papadopoulos O., Rallis T., Fytianos A., 2003. Evaluation of cytology in the diagnosis of acute canine monocytic Ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*) a comparison between five methods a comparison between five methods. *Veterinary Microbiology* 91, 197–204.

Orkun O., Koc N., Sursal N., Cakmak A., Nalbantoglu S., Karaer Z., 2018. Molecular characterization of tick-borne blood protozoa in stray dogs from Central Anatolia Region of Turkey with a high-rate *Hepatozoon* infection. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 24 (2), 227–232.

Orkun O., Karaer Z., Cakmak A., Nalbantoglu S., 2014. Identification of tick-borne pathogens in ticks feeding on humans in Turkey, *PLoS Neglected Tropical Diseases* 8 (8) e3067.

Otranto D., Dantas-Torres F., Weigl S., Latrofa M.S., Stanneck D., deCaprariis D., Capelli G., Baneth G., 2011. Diagnosis of *Hepatozoon canis* in young dogs by cytology and PCR. *Parasitology Vectors* 4, 55.

Panciera R.J., Ewing S.A., Mathew J.S., Lehenbauer T.W., Cummings C.A., Woods J.P. 1999. *Canine hepatozoonosis*: Comparison of lesions and parasites in skeletal muscle of dogs experimentally or naturally infected with *Hepatozoon americanum*. *Veterinary Parasitology* 82, 261–272.

Pasa S., Kiral F., Karagenc T., Atasoy A., Seyrek K., 2009. Description of dogs naturally infected with *Hepatozoon canis* in the Aegean region of Turkey. *Turkish Journal Veterinary and Animal Science* 33, 289–295.

Paperna I., Kremer-Mecabell T., Finkelman S. 2002. *Hepatozoon kisrae* n. sp. infecting the lizard *Agama stellio* is transmitted by the tick *Hyalomma cf. aegyptium*. *Parasite* 9, 17-27.

Rahman I., Bel A., Mulier B., Lawson MB., Harrison DJ., MacNee W., Smith CAD., 1996. Transcriptional regulation of g-glutamylcysteine synthase-heavy subunit by oxidants in human alveolar epithelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 229, 832–837.

Redington BC., Jachowski LA. 1971. Syngamy and sporogony of *Hepatozoon griseisiuri* Clark, 1958 (Sporozoa: *Haemogregarinidae*), in its natural vector, *Haemogamasus reidi* Ewing, 1925 (Acari: *Mesostigmata*). *Journal of Parasitology* 57, 953-960.

Rioux JA., Golvan YJ., Honin R., 1964. *Hepatozoon canis* and *Leishmania canis* infection in a dog in the sets area, France. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee* 39, 131–135.

Rojas A., Rojas D., Montenegro V., Gutiérrez R., Yasur-Landau D., Baneth G., 2014. Vector-borne pathogens in dogs from Costa Rica: first molecular description of *Babesia vogeli* and *Hepatozoon canis* infections with a high prevalence of monocytic ehrlichiosis and the manifestations of co-infection. *Veterinary Parasitology* 199, 121–128.

Rommel A., Rubin RL. 2000. Disruption of positive selection of thymocytes causes autoimmunity. *Nature Medicine* 2000 Mar;6(3):298-305.

Rubini AS., Paduan KS., Martins TF., Labruna MB., O'Dwyer LH., 2009. Acquisition and transmission of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: *Hepatozoidae*) by the tick *Amblyomma ovale* (Acari: *Ixodidae*). *Veterinary Parasitology* 164, 324–327.

Sasanelli M., Paradies P., Lubas G., Otranto D., De Caprariis D., 2009. Atypical clinical presentation of coinfection with *Ehrlichia*, *Babesia* and *Hepatozoon* species in a dog. *Veterinary Record* 164, 22–23.

Shaw SE., Day MJ., Birtles RJ., Breitschwerdt EB. 2001. Tick-borne infectious diseases of dogs. *Trends in Parasitology* 17, 74-80

Smith TG., Desser SS., Martin DS., 1994. The development of *Hepatozoon sipedon* n. sp. (Apicomplexa: Adeleina: *Hepatozoidae*) in its natural host, the northern water snake (*Nerodia sipedon sipedon*), the culicine vectors, *Culex pipiens* and *Culex territans*, and an intermediate host, the northern leopard frog (*Rana pipiens*). *Parasitology Research* 80, 559–568.

Smith TG. 1996. The genus *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleina). *Journal of Parasitology* 82, 565-585.

Taboada J. .,1998. *Babesiosis*, Greene CG (eds) *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 2nd edn, WB Saunders pp: 473–481., Philadelphia.

Tsachev I., Ivanov A., Dinev I., Simeonova G., Kanakov D., 2008. Clinical *Ehrlichia canis* and *Hepatozoon canis* coinfection in a dog in Bulgaria *Revue Medical Veterinary* 159, 68–73.

Tüzdil, A.N., 1933. Türkiye’de ilk defa görülen bir *Hepatozoon canis* vakası. *Türk Baytarlar Cemiyeti Mecmuası* 13, 35.

Vincent-Johnson N.A.,Macintire D. K., Lindsay D. S., Lenz S. D., Baneth G., Shkap V., Blagburn B. L.. 1997. A new *Hepatozoon* species from dogs: Description of the causative agent of canine *hepatozoonosis* in North America. *Journal of Parasitology* 83, 1165-1172.

Vincent-Johnson, N., Macintire, D.K., Baneth, G., 1997. *Canine hepatozoonosis: pathophysiology, diagnosis, and treatment. Compendium on Continuing Education Practising Vet.* 19, 51–65.

Voyvoda H.,Pasa S., Uner A. ,2004. Clinical *Hepatozoon canis* infection in a dog in Turkey *Journal of Small Animal Practice* 45, 613–617.

Wenyon C.M., 1911. Oriental sore in Bagdad, together with observations on a gregarine in *Stegomyia fasciata*, the *haemoegregarine* of dogs, and the flagellates of house flies. *Parasitology* 4, 273–343.

Yıldız K. 2016. Veteriner Parazitoloji(çeviri) 3.baskı medipress s:376

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : DEMİRBİLEK Muhammed Veli

Uyruk : TC

Doğum Yeri ve Tarihi: ISPARTA 1990

Telefon : 0533 021 0832

E-mail : mvdemirbilek@gmail.com

Yabancı Dil : İNGİLİZCE

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	ADÜ VET. FAK. PARAZİTOLOJİ A.B.D.	HALEN
Lisans	ADÜ F.E.F. BİYOLOJİ	2016

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
-----	-----------	-------