

**TÜRKİYE-SURİYE SINIRINDA YER ALAN MÜLTECİ
KAMPLARI ÇEVRESİNDE VE MÜLTECİ GÖÇ YOLLARI
ÜZERİNDEKİ SİVRİSİNEK (DIPTERA: CULICIDAE)
TÜRLERİNİN TESPİT EDİLMESİ**

**IDENTIFICATION OF MOSQUITO SPECIES (DIPTERA:
CULICIDAE) AROUND REFUGEE ZONES OF THE
TURKISH BORDER WITH SYRIA AND ON MIGRATION
ROUTES OF REFUGEES**

YASEMEN SARIKAYA

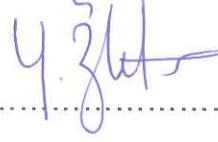
PROF. DR. SALİH BÜLENT ALTEN
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
BİYOLOJİ Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2017

Yasemen Sarıkaya'nın hazırladığı "Türkiye-Suriye Sınırında Yer Alan Mülteci Kampları Çevresinde ve Mülteci Göç yolları Üzerindeki Sivrisinek (DIPTERA: CULICIDAE) Türlerinin Tespit Edilmesi" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yusuf ÖZBEL
Başkan



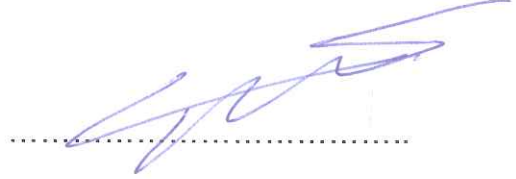
Prof. Dr. S. Bülent ALTEN
Üye (Danışman)



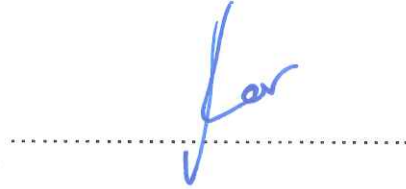
Prof. Dr. Selim Sualp ÇAĞLAR
Üye



Doç. Dr. Çağatay TAVŞANOĞLU
Üye



Doç. Dr. Sırrı KAR
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, tezinin arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

- Tezimin/Raporumun 5 / 6 / 2020 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı ve ya tamamının fotokopisi alınabilir)

- Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum, ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

- Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

16 / 6 / 2017


(İmza)

Öğrencinin Adı Soyadı

Yasemen SARIKAYA

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

06/06/17

YASEMEN SARIKAYA

ÖZET

TÜRKİYE-SURİYE SINIRINDA YER ALAN MÜLTECİ KAMPLARI ÇEVRESİNDE VE MÜLTECİ GÖÇ YOLLARI ÜZERİNDEKİ SİVRİSİNEK (DIPTERA: CULICIDAE) TÜRLERİNİN TESPİT EDİLMESİ

YASEMEN SARIKAYA

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez danışmanı: Prof. Dr. S. Bülent Altın

Haziran 2017, xi + 48 sayfa

Suriye'deki iç huzursuzluklar 4.000.000 Suriye vatandağını komşu ülkelere göçe zorlamıştır. Bu durum, bölgedeki sivrisinekler ve sivrisinek kaynaklı hastalıkların sürveyansının önemini arttırmıştır. Bu çerçevede, Türkiye'de göçmenlerin yoğun olarak yerleştikleri veya geçici olarak konakladıkları Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve Avrupa'ya göç etmek için ilk durakları olan batı ve kuzeybatı sınırlarında, sivrisinek üreme sezonları boyunca arazi çalışmaları yapılmış ve örnekler toplanmıştır. Çalışmalar sırasında 17 ayrı ilde 506 istasyondan ergin ve larva örnekleme yapılmıştır. Toplanan sivrisineklerin tamamı morfolojik olarak teşhis edilmiştir. Örneklerin bir kısmı, mitokondriyal COI gen bölgesinin sekansı yoluyla moleküler tür teşhisi için ayrılıp, kalan örneklerin tamamı tespit edilen sivrisinek türlerin taşıdıkları virüslerin belirlenmesi amacıyla analize gönderilmiştir. Morfolojik teşhisler sonucunda, toplanan 30.940 adet sivrisineğin 6 cins ve 22 türün örneklerini içerdiği ortaya konmuş, seçilen örneklerin ve özellikle tür komplekslerine ait bireylerin teşhisleri moleküler yöntemlerle doğrulanmıştır. Bu türlerden birincil vektör

olduğu bilinen *Aedes albopictus*, *Ae. aegypti*, *Anopheles sacharovi* ve *Culex pipiens s.l.* türlerinin çalışma alanındaki varlığı, Suriyeli göçmenlerin de bölgeye gelişiyle daha da önem kazanmıştır. Bu tez, söz konusu bölgeler için yapılacak geniş kapsamlı bir sürveyans çalışmasının önayağıdır.

Anahtar Kelimeler: Sivrisinek, Suriye mülteci kampları ve göç yolları, sivrisinek faunası, morfoloji, DNA Barkodlama



ABSTRACT

IDENTIFICATION OF MOSQUITO SPECIES (DIPTERA: CULICIDAE) AROUND REFUGEE ZONES OF THE TURKISH BORDER WITH SYRIA AND ON MIGRATION ROUTES OF REFUGEES

YASEMEN SARIKAYA

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. S. Bülent Alten

June 2017, xi + 48 pages

The internal unrest in Syria forced 4,000,000 Syrian citizens to immigrate to neighbouring countries. This has increased the importance of monitoring the mosquitoes and mosquito-borne diseases in the region. In this context, mosquito samples were collected during the mosquito seasons on Southeast Anatolia where immigrants are intensively settled and western, northwestern borders, which are the pathway of immigration to Europe. During the study, samples were taken from 506 stations on 17 different cities. After all the collected mosquitoes were morphologically identified, some of them were kept for the molecular species identification through the sequence of the mitochondrial COI gene region, whereas all the remaining samples were sent to the virus analysis. As a result of the morphological identification, 30,940 collected mosquitoes were found to contain 6 genera and 22 specimens, and the identification of selected specimens and especially individuals belonging to species complexes was confirmed by molecular methods. The presence of the species *Aedes albopictus*, *Ae. aegypti*, *Anopheles sacharovi* and *Culex pipiens s.l.* in the study area, which are known to be vectors,

has become even more important with the advent of the immigrants. This thesis is the prelude to a surveillance exercise for the region concerned.

Keywords: Mosquito, Syrian Refugee Camps and migration routes, mosquito fauna, morphology, DNA barcoding



TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim ve tüm çalışmalarım boyunca yardım ve destekleriyle yanımda olup bana hem ulusal hem de uluslararası pek çok imkan sağlayan sayın tez danışmanım Prof. Dr. Bülent Alten başta olmak üzere; çalışmam için gerekli merak ve motivasyonu aşıl原因an, maddi ve manevi desteğini asla esirgemeyen, tüm bilgi birikimini paylaşarak bana yol gösteren Dr. Filiz Günay'a; laboratuvar çalışmalarım sırasında deneyimleri ve ilgisiyle bana daima yardımcı olan Uz. Dr. Özge Erişöz Kasap'a ve tez çalışması boyunca sağladığı bilimsel destek için Doç. Dr. Koray Ergünay'a,

Tez çalışması için değerli örneklerini benimle paylaşan Doç. Dr. Sırrı Kar ve ekibi ile Yrd. Doç. Dr. Muhammet Mustafa Akıner ve ekibine,
Tüm Hacettepe Üniversitesi Ekoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyeleri, araştırma görevlileri, ve öğrencilerine,

Çalışmalarımı huzurlu bir ortamda keyifle sürdürmemi sağladıkları için başta sevgili Ceren Öncü, sevgili Ayda Yılmaz ve deneyimleriyle yanımda olan sevgili Gizem Oğuz olmak üzere Ekolojik Bilimler Araştırma Laboratuvarındaki tüm ekip arkadaşlarıma ve laboratuvar çalışmalarına özveriyle yardım eden lisans öğrencisi sevgili Kıvanç Sevim'e; yol arkadaşım sevgili Seda Ön'e

Bana her zaman varlıklarıyla mutluluk, destekleriyle güç veren ve her koşulda yanımda olan; annem Fatma Sarıkaya, babam Kadir Sarıkaya ve ağabeyim Onur Sarıkaya'ya sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	4
2.1. Suriyeli Mülteciler ve Türkiye'nin Vektöriyel Açından Etkileşimi	4
2.2. Türkiye'deki Vektör Türler, Taşıdıkları Patojen ve Virüsler	5
2.3. DNA Barkodlama ve Surveyans Çalışmalarındaki Yeri.....	8
3. YÖNTEM.....	10
3.1. Arazi Çalışmaları ve Örneklem Oluşturulması.....	10
3.2. Moleküler Analizler ve Filogenetik Verinin Elde Edilmesi	12
3.2.1 DNA İzolasyonu ve COI Gen Bölgesinin Amplifikasyonu	12
3.2.2. Sekansların Yorumlanması ve Filogenetik Verinin Elde Edilmesi	14
4. BULGULAR	16
4.1. Anophelinae Alt Ailesine İlişkin Bulgular	16
4.2. Culicinae Alt Ailesine İlişkin Bulgular.....	19
4.2.1. Aedes Cinsine İlişkin Bulgular.....	19
4.2.2. Culex Cinsine İlişkin Bulgular.....	22
4.2.3. Coquillettidia, Culiseta, Uranotaenia Cinslerine İlişkin Bulgular.....	24
5. TARTIŞMA.....	27
KAYNAKLAR.....	35
EKLER	45



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Türkiye’de, virüs taşınmasından sorumlu vektör türler ve taşıdıkları tespit edilmiş virüsler [18]–[42]	6
Çizelge 2. Anophelinae ve Culicinae alt aileleri için PZR karışımında bir örnek için kullanılacak bileşen miktarları	13
Çizelge 3. Anophelinae ve Culicine alt aileleri için ayrı ayrı uygulanan termal döngüler	13
Çizelge 4. Tez çalışmasında tespit edilen türler ve toplandıkları illere göre birey sayıları.....	16
Çizelge 5. <i>Anopheles</i> cinsine ait türlerin genetik mesafeleri. (Yukarı köşegen, türler arasındaki ikili farklılıkların standart sapmasını; aşağı köşegen türler arasındaki ikili farklılıkların ortalama sayısını ifade eder.)	17
Çizelge 6. <i>Anopheles maculipennis</i> tür kompleksine cinsine ait türlerin genetik mesafeleri. (Yukarı köşegen, türler arasındaki ikili farklılıkların standart sapmasını; aşağı köşegen türler arasındaki ikili farklılıkların ortalama sayısını ifade eder.)	19
Çizelge 7. <i>Aedes</i> cinsine ait türlerin genetik mesafeleri. (Yukarı köşegen, türler arasındaki ikili farklılıkların standart sapmasını; aşağı köşegen türler arasındaki ikili farklılıkların ortalama sayısını ifade eder.)	20
Çizelge 8. <i>Culex</i> cinsine ait türlerin genetik mesafeleri. (Yukarı köşegen, türler arasındaki ikili farklılıkların standart sapmasını; aşağı köşegen türler arasındaki ikili farklılıkların ortalama sayısını ifade eder.)	22
Çizelge 9. <i>Culex pipiens</i> tür kompleksine ait türlerin genetik mesafeleri. (Yukarı köşegen, türler arasındaki ikili farklılıkların standart sapmasını; aşağı köşegen türler arasındaki ikili farklılıkların ortalama sayısını ifade eder.)	24
Çizelge 10. <i>Coquillettidia</i> , <i>Culiseta</i> ve <i>Uranotaenia</i> cinslerine ait türlerin genetik mesafeleri. (Yukarı köşegen, türler arasındaki ikili farklılıkların standart sapmasını; aşağı köşegen türler arasındaki ikili farklılıkların ortalama sayısını ifade eder.)	25

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Suriyeli mülteci kamplarının tahmini yerleri ve Temmuz 2014 verilerine göre barınan göçmen sayıları.....	10
Şekil 2. Tez çalışmasında kullanılan örneklerin elde edildiği lokaliteler	11
Şekil 3. Amplifiye edilen Polimer Zincir Reaksiyonu ürünlerinin elektroforezi sonucu elde edilen agaroz jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü	14
Şekil 4. <i>Anopheles</i> cinsi örneklerine ait Neighbor Joining ağacı	18
Şekil 5. <i>Aedes</i> cinsi örneklerine ait Neighbor Joining ağacı.....	21
Şekil 6. <i>Culex</i> cinsi örneklere ait Neighbor Joining ağacı	23
Şekil 7. <i>Coquillettidia</i> , <i>Culiseta</i> ve <i>Uranotaenia</i> cinsi örneklere ait Neighbor Joining ağacı	26
Şekil 8. Anadolu'da, insan, evcil hayvan ve ticaret hareketlerinin temel yönleri ile vektör kum sineği-patojen ilişkisi [75].	28
Şekil 9. <i>Aedes caspius</i> örneklerinin scutum renklenmesinde görülen varyasyonlar (<i>Aedes caspius</i> scutum görüntüsü [A], <i>Aedes dorsalis</i> scutum görüntüsü [B], çalışmalar sırasında karşılaşılan varyasyonlar [C,D,E,F]),[79]	30
Şekil 10. <i>Culex pipiens</i> sl haplotipleri için oluşturulmuş Neighbor Joining ağacı ve baz değişiklikleri	33

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	yüzde
°C	santigrat derece
µl	mikrolitre
Ae.	<i>Aedes</i>
An.	<i>Anopheles</i>
bç	baz çifti
BOLD	Barcode of Life Database
CHIKV	Çikungunya Virüsü
CL	Cutaneous Leishmaniasis
COI	Sitokrom Oksidaz I
Cq.	<i>Coquillettidia</i>
Cs.	<i>Culiseta</i>
CVV	Cache Vadisi Virüsü
Cx.	<i>Culex</i>
DENV	Dengue Virüsü
DNA	Deoksiribo nükleik asit
dNTP	Deoksiribo nükleozit trifosfat
EBAL	Ekolojik Bilimler Araştırma Laboratuvarı
EEEV	Eastern Equine Ensefalit Virüsü
GGV	Getah Virüsü
ITS2	Internal transcribed spacer 2
JEV	Japon Ensefalit Virüsü
LACV	LaCrosse Ensefalit Virüsü
MBI	Sivrisinek Barkodlama İnsiyatifi
MEGA	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
MgCl ₂	Magnezyum klorür
mM	milimolar
n	örnek sayısı

NJ	Neighbor - Joining
OOCKV	Ockelbo Virüs
ORUV	Orugo Virüs
OTU	İşlevsel Taksonomik Birim
P.	<i>Plasmodium</i>
PZR	Polimer Zincir Reaksiyonu
RVFV	Rift Vadisi Ateşi Virüsü
s.l.	sensu lato
s.s.	sensu stricto
sdH ₂ O	saf distile su
SINV	Sindbis Virüsü
SLEV	St. Louis Ensefalit Virüsü
spp.	türler
TAHV	Tahyna Virüs
TVTV	Trivittatus Virüsü
Ur.	<i>Uranotaenia</i>
VEEV	Venezuelan Equine Ensefaliti Virüsü
WNV	Batı Nil Virüsü
YFV	Sarı Humma Virüsü
ZIKV	Zika Virüs

GİRİŞ

Türkiye, coğrafi konumu ve iklim özellikleri sebebiyle sivrisinek faunası açısından oldukça zengindir. Ülkede 7 cinsten toplam 61 tür sivrisineğin varlığı gösterilmiştir [1], [2]. Sivrisinekler pek çok virüs, parazit ve diğer patojenlerin taşınmasından sorumlu olduğu bilinen vektör organizmalar olmaları bakımından [3], Türkiye'deki faunistik zenginlik, birçok vektör kaynaklı hastalık riskini de beraberinde getirmektedir.

Sivrisinekler yarı domestik canlılar olmaları, insan ve hayvanlar üzerinden beslenmeleri sebebiyle, insan hareketlerinden ve insanın evcil yaşam tarzından fazlasıyla etkilenir. Buna bağlı olarak, özellikle büyük göç hareketleri, sivrisinek kaynaklı patojenlerin yer değiştirmesine, yeniden taşınmasına yol açmaktadır [4].

Türkiye'nin sınır komşusu olan Suriye'de oluşan savaş ortamı 4 milyondan fazla Suriye vatandaşını çevre ülkelere göç etmek zorunda bırakmıştır. Bu ülkelere en çok göçü alan Türkiye'de 2,5 milyon göçmen yerleşmiştir; pek çok göçmen için ise Türkiye, Avrupa'ya geçmek için bir köprü işlevi görmektedir [5]. Beslenme ve barınma güçlüğü ve sağlık hizmetlerinin yetersizliği nedeniyle savaş ortamı vektör kaynaklı hastalıkların yayılımını tetikler [6]. Tüm bu bilgiler ışığında, Türkiye'de, aslında tarihsel olarak var olan vektör kaynaklı hastalıkların artması kaçınılmaz olarak beklenmektedir. Bu nedenle vektör ve patojenlerin sürveyans çalışmalarının yoğunlaşması, daha sonra ortaya çıkabilecek ve/veya halen var olan vektör-patojen kaynaklı insan ve hayvan sağlığı problemlerinin, öncelikle aza indirilebilmesi ve ortadan kaldırılabilmesi için kesin olarak gerekmektedir.

Türkiye'de başlıca vektör türler *Aedes vexans*, *Anopheles sacharovi*, *An. superpictus*, *Culex modestus*, *Cx. perexiguus*, *Cx. pipiens s.l.*, *Cx. theileri* ve *Cx. torrentium* olarak sıralanabilir. Listeye 2013 yılında *Ae. albopictus*, 2015 yılında da *Ae. aegypti* eklenmiştir [2], [7]. Bu türlerden bazılarının kompleks olmasının yanı sıra morfolojik yöntemlerin uzmanlık gerektirmesi ve tüm yaşam evrelerindeki karakterlerin karşılaştırılma zorunluluğu gibi sebeplerle yapılan teşhis

çalışmalarında moleküler yöntemlerin kullanılması, elde edilecek sonuçların kesinliğini artırır [8]. Bu sebeple çalışma bölgelerindeki çalışmalarda DNA Barkodlama yönteminin kullanılması, hem aydınlatıcı olacak hem de çalışmayı kolaylaştıracaktır. Bu amaçla Sivrisinek Barkodlama İnsiyatifi'nin (MBI) tür teşhisinde kullandığı birincil gen bölgesi olan sitokrom oksidaz I (COI)'in kullanılması faydalıdır [9]–[11].

Bu tez çalışmasında;

- 1) Suriyeli göçmenlerin Türkiye'de kalıcı veya geçici olarak kalabalıklar halinde yerleştikleri bölgelerden örnek toplanması ve bu örnekler analiz edilerek güncel sivrisinek faunası ve risk durumu hakkında bilgi sahibi olunması,
- 2) Buradan yola çıkılarak göçmen kampları çevrelerinde ve göçmenlerin Avrupa'ya geçiş yapmak için yoğun olarak konakladıkları bölgelerde örnekleme çalışmaları yaparak, elde edilen verileri Türkiye için daha önce oluşturulan sivrisinek veri bankası [1] ile karşılaştırılması ve doğruluğundan emin olunması,
- 3) Toplanan örneklerden morfolojik karakterlerine göre seçilenlerin DNA barkodlanması ve elde edilen sekans sonuçlarının "Barkod Bankası"na yüklenmesi,
- 4) Tür ayrımı gözetilmeksizin tüm bireylerde virüs analizi yapılması (virüs analizi çalışmaları, tezin konusunun da içinde olduğu üst projenin bir parçasıdır ve ayrı bir tez olarak değerlendirilmiştir. Bu nedenle, virüs analizlerinden elde edilen sonuçlar bu tez kapsamında kullanılmamıştır) ve pozitif sonuç veren havuzlar da tür teşhisinin moleküler olarak kesinleştirilmesi amaçlanmıştır.

Elde edilen bilgilerin tamamı göz önünde bulundurulduğunda, yapılan tez, çalışma bölgesinde varlığı bilinen sivrisinek kökenli hastalıklar ile mücadele çalışmalarına bilimsel temel hazırlayacaktır. Yakın zamanda yoğun göç almış ve birçok Suriyeli mülteciye kalıcı veya geçici olarak ev sahipliği yapan çalışma bölgelerinde varlığı tahmin edilen sivrisinek türlerinin sağlıklı bir listesini oluşturmak ileride yapılacak halk sağlığı risk analizi çalışmalarına bir veri tabanı sağlayacaktır. Tez çalışması sonucunda elde edilen sekanslar BOLD Systems veri tabanına yüklenerek

uluslararası kullanıma açık hale getirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar, ayrıca, T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Başkanlığı ile paylaşılacaktır. Sonuçlar, çalışma bölgelerinde yapılacak orta ve büyük ölçekli sivrisinek mücadele ve sürveyans aktiviteleri için sağlam bir temel oluşturabilecek kapsamdadır.



GENEL BİLGİ

1.1. Suriyeli Mülteciler ve Türkiye'nin Vektöriyel Açıdan Etkileşimi

Savaş ortamı diğer bütün salgın hastalıkların olduğu gibi vektör kaynaklı hastalıkların da ortaya çıkmasına ve artmasına zemin hazırlar [12]. Savaş sadece insan ve hayvan topluluklarının kaynaklara ulaşmasını kısıtlamasıyla değil, direkt ya da dolaylı olarak ortaya çıkardığı ekolojik, coğrafik, topoğrafik ve hatta mikro iklimik değişiklikler nedeniyle, aslında normal zamanlarda çok da önemsenmeyen vektör kaynaklı hastalıkların ortaya çıkmasına, artmasına ve hatta daha geniş alanlara yayılmasına yol açar. Var olan habitatların ortadan kalkması, yeni habitatların ortaya çıkması, insan ve hayvan yaşamında ve hareketlerinde alışlagelmişin dışına çıkma, yerleşim yerlerinde alt yapı sorunlarının artması, av-avcı ilişkilerinin bozulması gibi sebepler vektör organizmaların ve dolayısıyla taşıdıkları patojenlerin sayıca çoğalmasına neden olabilir. Bu koşullar altında vektör kontrolü de zorlaşacağından dolayı, vektör kaynaklı hastalıkların görülme sıklığının artması beklenir [13].

Oluşan kaos ortamında, beslenme yetersizliği, barınma güçlüğü gibi problemler yaşanırken sağlık hizmetleri de ciddi oranda sekteye uğrar; sağlık tesisleri zarar görür, sağlık personelinin işini yapması zorlaşır ve ilaç tedarik etmekte büyük sıkıntılar yaşanır [6]. Suriye'de 2011'den bu yana süre gelen iç huzursuzluk ve savaş ortamında, Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, çatışmalar sebebiyle kamu hastanelerinin %57'si hasar görmüş, %37'si tamamen servis dışı kalmış, ambulansların ise %40'ı kullanılamaz duruma gelmiştir. Sağlık personelinin bir kısmı öldürülürken çoğu göç etmiştir [14].

Sağlık hizmetleri bu durumdayken, hasta olmuş ve tedavi olamamış vatandaşlar komşu ülkelere göç ederek beraberlerinde olası patojenleri de taşımaktadırlar. Göçmenler savaş ortamından uzaklaştıktan sonra da hastalık tehdidi devam etmektedir. Göç edilen ülkelerin, çoğunlukla aynı coğrafyada yer alması, bir yandan benzer biyotik ve abiyotik özellikleri, benzer vektör türlerin varlığı, göçmenlerle bir ülkeden diğerine taşınmış patojenlerin salgına dönüşmesine sebep olabilir [12]. Benzer bir durum vektör kaynaklı bir hastalık olan Cutaneous

Leishmaniasis (CL) salgını olarak Lübnan'da görülmüştür. Kayıtlı CL vakası 2012 yılında Suriye'de 52.982, Lübnan'da 2 olarak bildirilmiştir. Bir yıl sonra bildirilen vaka sayısı, 1033 Lübnan vatandaşı ve 998 Suriyeli mülteci olmak üzere 2013'e yükselmiştir. Bu durum geçen on yıl içinde Lübnan'da görülen ilk CL salgınıdır [6], [15], [16]. Türkiye'de ise aynı yıllarda Gaziantep ilinden alınan CL verileri Lübnan verileri ile benzerlik göstermektedir. Kayıtlı vaka sayısı 2012 yılında 22 Türk vatandaşı ve 1 Suriyeli mülteci iken, 2013 yılında 28 Türk vatandaşı ve 76 Suriyeli mülteci olmuştur [17]. Örneklerde de görüldüğü gibi bu tip büyük göçler alan bölgelerde vektör kaynaklı hastalıkların tespiti ve izlenmesi büyük önem taşımaktadır.

1.2. Türkiye'deki Vektör Türler, Taşıdıkları Patojen ve Virüsler

Sivrisineklerin taşıdığı arbovirüsler ve parazitler, farklı konaklar arasında döngüsel olarak görülmeleri ve çeşitli çevresel, iklimsel ve ekolojik faktörlerin etkisiyle değişen epidemiyolojik yapıları nedeniyle, son yıllarda halk sağlığı üstünde küresel boyutta bir etkiye sahiptir [3]. Türkiye'nin coğrafi konumu, iklimi ve yerleşik sivrisinek popülasyonları, hali hazırda var olan sivrisinek kaynaklı hastalıklara yenilerinin eklenmesi için uygun bir ortam sağlamaktadır. Dahası ülkeye giriş veya yeniden giriş yapacak sivrisinek kaynaklı diğer patojenlerin yayılması için de, değişen iklim koşulları ile birlikte yeni uygun habitatlar sağlamaktadır [18]. Ülkemizde bulunan sivrisinek türlerinden virüs taşıdığı bilinenler; *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. caspius*, *Ae. vexans*, *Anopheles claviger*, *Culex modestus*, *Cx. perexiguus*, *Cx. pipiens s.s.*, *Cx. pussilus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. theileri*, *Cx. torrentium*, *Cx. tritaeniorhynchus*, *Culiseta annulata* ve *Uranotenia unguiculata* olarak sıralanabilir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Türkiye’de, virüs taşınmasından sorumlu vektör türler ve taşıdıkları tespit edilmiş virüsler [18]–[42]

	Türler	Virüsler	Kaynaklar
1	<i>Ae. aegypti</i>	CHIKV, DENV, ORUV, VEEV, WNV, YFV, ZIKV	Juliano <i>et. al.</i> 2005, CDC 2015, Chouin-Carneiro <i>et. al.</i> 2016
2	<i>Ae. albopictus</i>	CHIKV, CVV, DENV, EEEV, LACV, WNV, YFV	Rezza <i>et. al.</i> 2007, Vazeille <i>et. al.</i> 2007, Juliano <i>et. al.</i> 2005, Mitchell <i>et. al.</i> 1998, Niebylski <i>et. al.</i> 1991, Hurlbut 1956, Miller <i>et. al.</i> 1989
3	<i>Ae. caspius</i>	TAHV, WNV	Ergunay <i>et. al.</i> 2013
4	<i>Ae. vexans</i>	TAHV, TVTV, WNV	Fontenille <i>et. al.</i> 1998, McIntosh 1975
	<i>An. claviger</i>	TAHV	Pchelkina <i>et. al.</i> 1978
5	<i>Cx. modestus</i>	WNV, TAHV, LEDV	Balenghien <i>et al.</i> , 2007, Lundström 1994
6	<i>Cx. perexiguus</i>	WNV, SINV, RVFV	Orshan <i>et al.</i> , 2008, Samina <i>et. al.</i> 1986, Turell <i>et. al.</i> , 1996
7	<i>Cx. pipiens s.s.</i>	WNV, OCKV, TAHV	Orshan <i>et al.</i> 2008, ECDC, Lundström 1994
8	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	WNV, SLEV	Goddard <i>et al.</i> , 2003, Flores <i>et al.</i> , 2010
9	<i>Cx. pusillus</i>	WNV, SINV, RVFV	Azari-Hamidian <i>et. al.</i> , 2009, McIntosh 1975, Morchon <i>et. al.</i> , 2012
10	<i>Cx. theileri</i>	OCKV	Lundström 1994
11	<i>Cx. torrentium</i>	JEV, GGV, DENV, SINV, RVFV	Rosen <i>et. al.</i> 1980, Takashima <i>et. al.</i> , 1983
12	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	WNV	Hayes <i>et. al.</i> 1984
13	<i>Cs. annulata</i>	WNV	Buchatsky 1977
14	<i>Ur. unguiculata</i>	WNV	Kemenesi <i>et. al.</i> 2014, Pachler <i>et. al.</i> 2014, Rudolf <i>et. al.</i> 2015

Arbovirüslerin önemli bir kısmı kan emen sivrisinekler yoluyla taşınır ve flavivirüsler ve alphavirüsler olarak sınıflandırılırlar. Flavivirüsler, içinde önemli insan patojenlerinin de bulunduğu 70’den fazla virüsü içeren bir gruptur. Bunlardan bazıları Batı Nil Virüsü, Dengue Virüsü ve Japon Ensefalit Virüsü’dür [43]. Alphavirüsler, Güney Avrupa’da epidemik vakaları olan, medikal açıdan çok önemli Chikungunya Virüsü’nü içerir [36], [44]. Serolojik veriler, Türkiye’nin, medikal açıdan önemli olan çok sayıda arbovirüs barındırdığını göstermektedir; ancak Arbovirüslerle ilgili hedef vektörlerin faunistik çalışmaları, özellikle hastalık taşıyan sivrisineklere yönelik araştırmalar, oldukça yetersizdir [45].

Son yıllarda yoğun olarak tespit edilen semptomatik Batı Nil Virüsü enfeksiyonu vakaları ülkemizde sivrisinek kaynaklı hastalıkların önemli bir halk sağlığı problemi haline gelme potansiyeli olduğunu ortaya koymuş ve virüs taşıyan sivrisinek türlerinin, eksiksiz bir faunistik listesinin yapılması gerektirdiğini göstermiştir [45]–[47]. Batı Nil Virüsünün başlıca vektör türleri Avrupa’da *Culex pipiens* s.s. ve *Culex modestus*; Asya’da *Culex quinquefasciatus* ve *Culex tritaeniorhyncus* olarak rapor edilmiştir [48], [49].

Sıtma, Türkiye’nin sivrisinek kökenli paraziter hastalıklarından en önemlisidir [50]. *Anopheles sacharovi* ve *An. superpictus* Türkiye’de *Plasmodium vivax* parazitini taşımaktadırlar [51]. Bu tür Batı Afrika kökenli *P. malariae* ve *P. ovale* türlerine karşı hassasiyet eğilimi göstermektedir [52]. *Anopheles sacharovi*, Avrupa’nın güneydoğusu için potansiyel; Türkiye, Suriye, Kuzey Irak ve İran için ise kanıtlanmış sıtma vektörüdür [51], [53]. Türkiye’deki sıtma vakaları özellikle Suriye sınırı boyunca yoğunlaşmaktadır [54]. Türkiye’de teşhis edilmiş; *An. algeriensis*, *An. claviger*, *An. hyrcanus*, *An. maculipennis*, *An. marteri*, *An. melanoon*, *An. messeae*, *An. plumbeus*, *An. pulcherrimus*, *An. sacharovi*, ve *An. superpictus* olmak üzere 11 *Anopheles* türü bulunmaktadır [1]. Bunlardan vektöriyel önemi en yüksek olan birincil tür *An. sacharovi*, ikincil tür ise *An. superpictus*’tur [18]. Ülkemizde bugüne kadar *An. claviger* türünün enfekte ya da enfektif örnekleri tespit edilmemiş olmasına rağmen, Kıbrıs ve Suriye’de sporozoit pozitif dişilerin bulunması sebebiyle, Türkiye’nin kırsal kesimlerinde sıtmanın taşınmasında etkisi olabileceği kabul edilmektedir. *Anopheles claviger*, sıtma vektörlüğünün yanı sıra, Tahyna virüse de vektörlük yapabilmesi nedeniyle, medikal açıdan önemli bir *Anopheles* türü olarak kabul edilmektedir [55]. Avrupa ile sıtma endemik ülkeler arasındaki insan hareketliliğinin artması, çevre ve iklim değişiklikleri göz önüne alındığında, bu veriler *An. plumbeus*’un da sıtma için bir vektör görevi görebileceği ve Orta-Batı Avrupa’daki sıtma bulaşma riskini önemli ölçüde artırdığı düşünülmektedir [56]. Yapılan haritalama çalışmaları da kanıtlamıştır ki, küresel ısınma vektörlerin yayılımını etkilediğinden, pek çok enfeksiyon hastalığında olduğu gibi, sıtmanın da yayılımını ve hastalık yükünü artırmıştır [57].

1.3. DNA Barkodlama ve Surveyans Çalışmalarındaki Yeri

Tür teşhisi için morfolojik karakterlerin klasik kullanımı bazı sınırlamalara sahiptir. Bunlar arasında, örneğin, incelenen özelliğin fenotipik plastisitesi veya türün bir tür kompleksi içinde bulunması sebebiyle yanlış tanımlanması önde gelen sınırlamalardır [58]. Dahası morfolojik anahtarlar bazen sadece belirli bir yaşam evresi veya cinsiyet için etkindir; Diptera'da, tanımlamanın temel olarak erkek genitalyasına dayanması bu duruma örnektir [3]. Bu nedenle araştırmalarda türlerin doğru teşhisi için sıklıkla yüksek düzeyde bir uzmanlığa ihtiyaç duyulmaktadır [8]. DNA barkodlama yaklaşımı, morfolojik yöntemlerin sınırlamalarından ötürü, doğru ve güvenilir teşhis için en iyi yaklaşımı temsil etmektedir [59]. Morfolojik teşhisin zorluklarına ek olarak surveyans çalışmalarında patojen analizlerinin yapılabilmesi için örneklerin hızlı ve doğru bir şekilde teşhis edilmesi açısından DNA barkodlama yöntemi güvenilir ve hızlı bir metottur [60]. Eğer söz konusu çalışmalar bir savaş ve onu takip eden göç dalgası sebebiyle yapılıyorsa, hızlı çalışmak ve doğru sonuçlar elde etmenin önemi artacaktır.

Morfolojik tür teşhisini doğrulayan DNA barkodlama yöntemi, aynı zamanda, biyoçeşitliliği, türlerin coğrafi dağılımı, evrimsel gelişmelerini ve taşıdıkları hastalıkların önemini de ortaya koymaktadır [8], [61], [62].

Mitokondriyal COI gen bölgesinin DNA barkodlama için en kolay çalışılabilir gen bölgesi olduğu, avantajları ve dezavantajları ile daha önceki birçok çalışmada gösterilmiştir. Bölgenin amplifikasyonu ve sonuçların yorumlanması diğer gen bölgelerine göre daha kolaydır ve karşılaştırılabilir sonuçlar elde edilir. DNA barkodlama yöntemi Neighbor Joining (NJ) Metodu ile Kimura 2 Parametre Modeli kullanılarak çizilen filogenetik ağaçlarla yapılan karşılaştırmalardan temel almaktadır [9], [63]. NJ metodu nükleotid substitüsyonu veya amino asit değişimi gibi mesafe ölçümlerine dayanan "uzaklık matrisleri" yöntemlerinden biridir. Bu metoda göre çalışılan bütün işlevsel taksonomik birimler (OTU) arasındaki nükleotid substitüsyonlarının sayısına göre bir uzaklık matrisi hazırlandıktan sonra, bu uzaklık matrisinden yola çıkılarak bütün olası OTU çiftleri içinden oluşturulacak olan filogenetik ağaç için en küçük toplam dal uzunluğunu verecek olan ilk komşu çift seçilir. Seçilen OTU çifti, tek bir bileşik OTU olarak ele alınarak

yeni bir uzaklık matriksi oluşturmak için OTU'lar arasındaki aritmetik ortalamalar bulunur ve yine en küçük dal uzunluğunu veren OTU ifti seçilir. Bu işlem, bütün dallar bulununcaya kadar devam ettirilir [64].



YÖNTEM

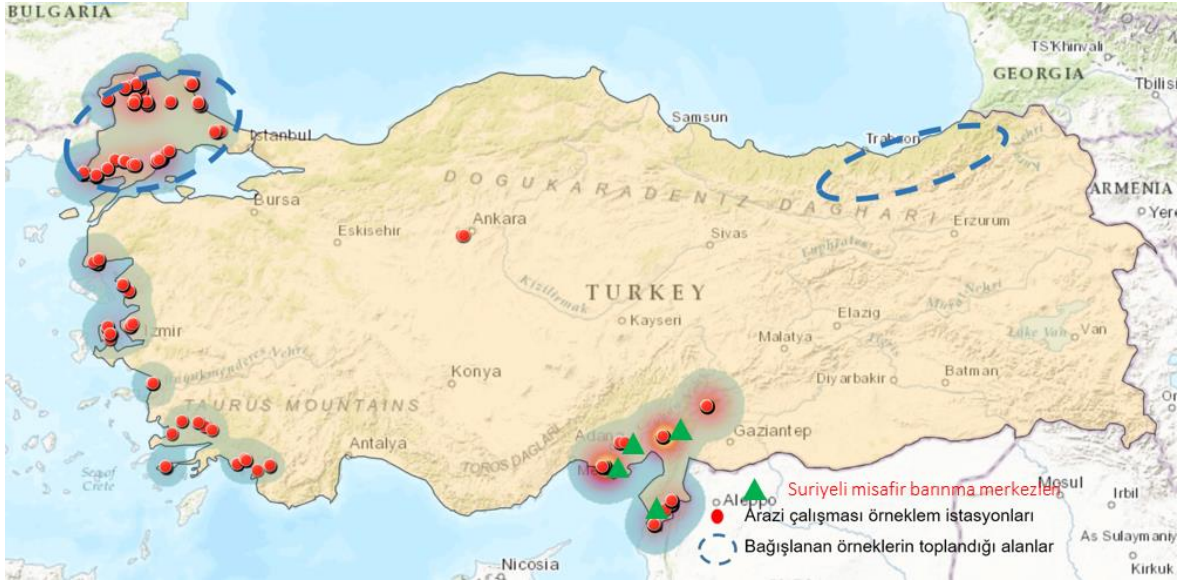
1.4. Arazi Çalışmaları ve Örneklem Oluşturulması

Bu tez için kullanılan örnekler; sahadan toplanmak ve bağışlanmak suretiyle iki farklı yöntemle elde edilmiştir. Smithsonian Enstitüsü ile ortak gerçekleştirilen uluslararası Global Emerging Infection Surveillance (GEIS) tarafından desteklenen “Insect Disease Vector Surveillance and Arbovirus Testing along Syrian Refugee Routes in Turkey, Lebanon and Jordan” isimli proje kapsamında, 2015 ve 2016 sivrisinek üreme sezonlarında ergin ve ergin öncesi evresindeki sivrisinekler örneklenmiştir. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi’nden Doç. Dr. Sırrı Kar ve Rize Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi’nden Yrd. Doç. Dr. Mustafa Akıner tarafından 2013-2016 tarihleri arasında toplanan örnekler tez çalışması için bağışlanmıştır. Arazi çalışmaları mülteci kampları çevresi ve mültecilerin Avrupa’ya göç yolları üzerine planlanmıştır.



Şekil 1. Suriyeli mülteci kamplarının tahmini yerleri ve Temmuz 2014 verilerine göre barınan göçmen sayıları [65]

Yapılan arazi çalışmaları; 2015 yılında Adana, Osmaniye, Hatay ve Kahramanmaraş illerinde toplam 49; Kırklareli, Edirne ve Tekirdağ illerinde toplam 100; İzmir, Balıkesir ve Çanakkale illerinde toplam 58 istasyondan örnek alınmıştır; 2016 yılında ise Aydın ve Muğla illerinden toplam 50; Edirne ve Kırklareli illerinden toplam 22 istasyondan örnek alınmıştır. Bunlara ek olarak, Trakya Bölgesi'nden 2013-2016 yılları arasında toplam 153 istasyondan elde edilmiş örnekler ile Doğu Karadeniz Bölgesi'nden 2015-2016 yıllarında toplam 74 istasyondan elde edilmiş örnekler tez çalışması için araştırmacılar tarafından bağışlanmıştır.



Şekil 2. Tez çalışmasında kullanılan örneklerin elde edildiği lokaliteler

Örnekler toplanırken; John W. Hock marka CDC ışık tuzakları, ağız aspiratörleri ve akülü aspiratör kullanılarak sadece aktif ergin bireyler değil, dinlenme durumundaki erginlerin de toplanmasının yanı sıra, larva kepçeleri ile ergin öncesi evredeki sivrisinekler de örneklenmiştir. Işık tuzakları, öğleden sonra kurulup gece boyu çalıştırılmış ve takip eden sabahın erken saatlerinde durdurularak içindeki örnekler alınmıştır.

Arazi çalışmaları sırasında, akıllı telefon veya tablet bilgisayarlarda çalıştırılabilen FASTFIELD isimli uygulama yardımıyla tuzak istasyonları ve bu noktalara ait

çevresel etmenler kaydedilmiş ve sistem yardımıyla veri kaybı yaşanmadan tablolar haline getirilmiştir [65].

Toplanan ergin örnekler, arazi çalışmaları süresince doğrudan kuru buzda muhafaza edilmiş ve Hacettepe Üniversitesi Ekolojik Bilimler Araştırma laboratuvarına (EBAL) taşınmıştır. Ergin öncesi örnekler ise örneklendikleri su ile muhafaza edilerek EBAL'e getirildikten sonra erginleştirilmiş, sonrasında ergin fazda toplanan örneklerle aynı muameleyi görmüştür. Laboratuvarda morfolojik teşhisleri yapılan örneklerin bir kısmı moleküler analizler için %96 etanol içinde muhafaza edilmek suretiyle ayrılmış, kalanların tamamı virüs analizleri için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilmek üzere -80°C' de muhafaza edilmiştir. Morfolojik teşhisler Türkiye'yi de içine alacak şekilde Avrupa, Güney Batı Asya, Orta Doğu ve Mısır'da bulunan türler için hazırlanmış anahtarlar kullanılarak yapılmıştır [3], [66], [67].

1.5. Moleküler Analizler ve Filogenetik Verinin Elde Edilmesi

Moleküler analizler, barkodlama için ayrılanlar ve virüs pozitif sonuç alınanlar olmak üzere iki grup örneğe uygulanmıştır. Morfolojik teşhisi tamamlanan örneklerin moleküler analizlerinin ilk aşaması olan DNA izolasyonu ve onu takip eden COI mitokondriyal gen bölgesinin amplifikasyonu Hacettepe Üniversitesi Evrimsel ve Ekolojik Genetik Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiş, elde edilen ürünlerin temizlenmesi ve dizi analizleri MedSanTek Laboratuvarı tarafından yapılmıştır.

3.2.1. DNA İzolasyonu ve COI Gen Bölgesinin Amplifikasyonu

DNA izolasyonu QIAgen® DNeasy Blood and Tissue (Hilden, Germany) izolasyon kiti kullanılarak, sivrisinek erginlerinin bacak ve abdomen bölgeleri kullanılarak yapılmış, erkek bireylerin genitelyaları preparat yapılması ihtimali için %96 etanol içinde saklanmıştır. İzolasyon aşaması, üretici firmanın talimatları takip edilerek tamamlanmıştır.

DNA izolasyonu tamamlanan örnekler, evrensel barkodlama primeri olarak kabul edilen HCO2198 ve LCO1490 primer çifti ile [68] polimer zincir reaksiyonuna

sokularak, primer bölgeleri hariç 658 baz çiftinden oluşan gen bölgeleri ürün olarak elde edilmiştir. Kullanılan primerler aşağıdaki gibidir:

LCO1490 (ileri) 5' GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG 3'

HCO2198 (geri) 5' TAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA 3'

PZR karışımı, sivrisinek ailesinin iki alt ailesi için iki farklı şekilde optimize edilmiş ve çalışmalar sırasında oransal olarak birbirinden farklı iki karışım kullanılmıştır (Çizelge 2).

Çizelge 2. Anophelinae ve Culicinae alt aileleri için PZR karışımında bir örnek için kullanılacak bileşen miktarları

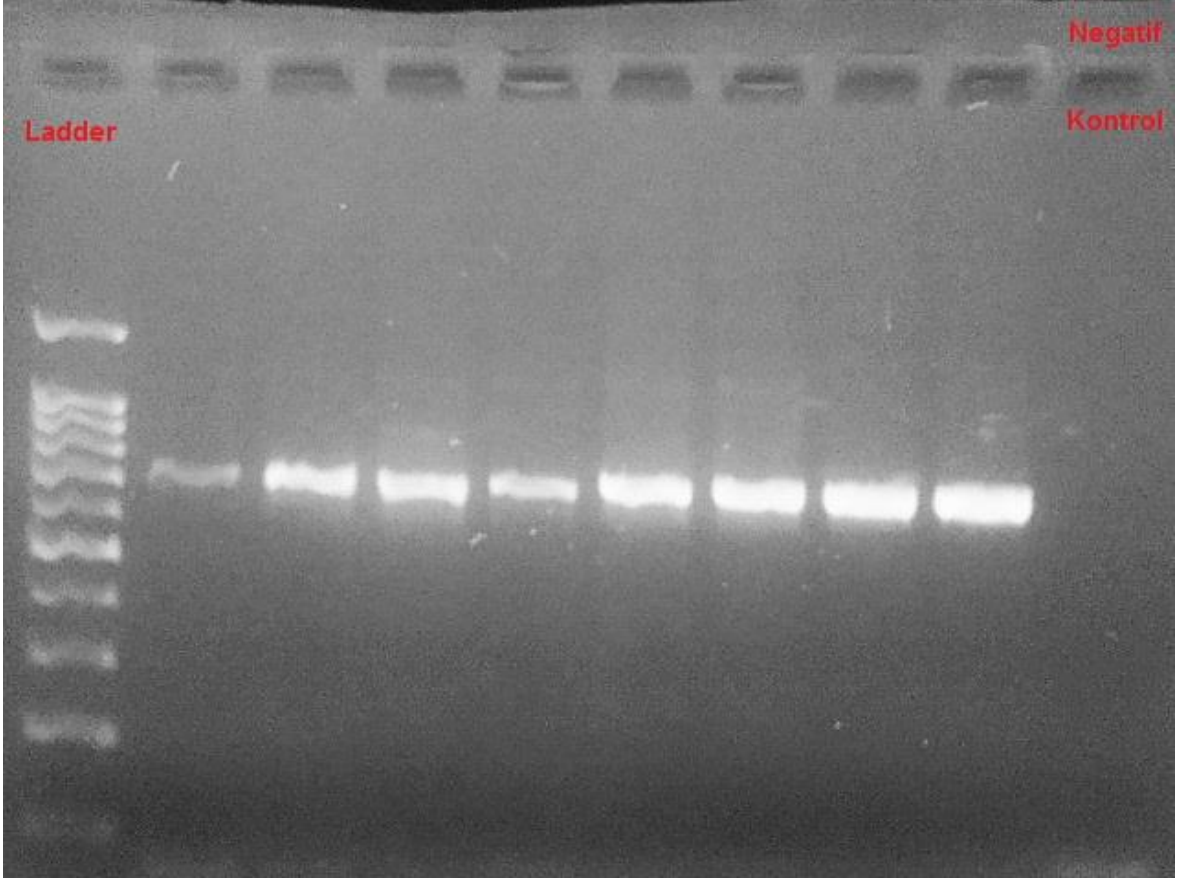
	Anophelinae	Culicinae
sdH ₂ O	18,9 µ	16,875 µ
10X tampon	3 µ	2,5 µ
2,5 mM dNTP karışımı	1,5 µ	1,5 µ
25 mM MgCl ₂	1,2 µ	1 µ
İleri primer	0,9 µ	1 µ
Geri primer	0,9 µ	1 µ
Taq polimeraz	0,6 µ	0,125 µ
DNA	3 µ	2 µ
Toplam	30 µ	26 µ

SNP Hotstart DNA Taq Polymerase setleri ile hazırlanan karışımlar iki farklı alt aile için farklı şekilde optimize edilmiş sıcaklık profilleriyle, ThermoHybaid marka termal döngüleyici kullanılarak reaksiyona sokulmuştur (Çizelge 3).

Çizelge 3. Anophelinae ve Culicine alt aileleri için ayrı ayrı uygulanan termal döngüler

	Anophelinae			Culicinae		
Ön denaturasyon	95 °C	5 dakika		94 °C	2 dakika	
Denaturasyon	95 °C	30 saniye	35 döngü	94 °C	30 saniye	35 döngü
Bağlanma	48 °C	45 saniye		50 °C	30 saniye	
Uzama	72 °C	45 saniye		72 °C	40 saniye	
Son uzama	72 °C	10 dakika		72 °C	10 dakika	

Tüm amplifikasyon reaksiyonları hazırlanırken, kontaminasyon olasılığına karşı, negatif kontrol kullanılmıştır. Her bir bireye ait PZR ürününün 4 mikrolitresi yükleme boyasıyla boyanarak %2'lik etidyum bromürlü agaroz jele yüklenmiş ve reaksiyonun çalıştığından emin olunmuştur.



Şekil 3. Amplifiye edilen Polimer Zincir Reaksiyonu ürünlerinin elektroforezi sonucu elde edilen agaroz jelin ultraviyole ışık altındaki görüntüsü

1.5.2. Sekansların Yorumlanması ve Filogenetik Verinin Elde Edilmesi

İki yönlü olarak okunan sekansların tümü Sequencher versiyon 5.2.4. (Genes Codes Corporation, Ann Arbor, MI) kullanılarak düzenlenmiş, hizalanmış ve MEGA 6.0 [69] yazılımı ile nükleotid sekansları omurgasız mitokondri kodu [70] kullanılarak aminoasit sekanslarına dönüştürüldüğünde, kodonların bir ve ikinci bazlarının protein sentezini etkileyip etkilemedikleri kontrol edilmiştir.

COI gen bölgesine ait dizilerin Neighbor-Joining analizleri, Kimura 2 Parametre Modeli kullanılarak oluşturulmuş uzaklık matrisleri ile ortaya çıkarılmıştır [63]. Buna göre, uzaklık matrisi farklı transisyon ve transversiyon oranları dikkate alınarak, dört nükleotit frekansının eşit olduğu ve bölgeler arasında substitüsyon oranlarının değişmediği varsayılarak hesaplanmıştır. Kodonların her üç nükleotidi de analize dahil edilmiş olup çalışmadaki NJ analizlerinin tamamı MEGA 6.0 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. NJ ağaçlarının hepsi 0.02 skalayla çizilerek türler arasındaki genetik uzaklığın bu değerin altında veya üstünde olmasına göre yorum yapılmıştır. Bootstrap değerleri 10.000 tekrarla hesaplanmış ve dalların yakınında gösterilmiştir [71].

Elde edilen tüm sekans ürünleri Blast Yöntemi ile (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) GenBank veri bankasında yer alan sekanslarla karşılaştırılmıştır. Seçilen örnekler çizilen NJ ağaçları oluşturulurken kullanılmış, erişim kodları belirtilmiştir. Bu örneklerle ait taksonomik, çevresel ve genetik veri BOLD (Barcode of Life Database) veri bankasında “Mosquitos of Turkey Borders” isimli dosyada birleştirilmiştir (<http://www.boldsystems.org>).

BULGULAR

Bu tez çalışmasında, 17 ilde 506 istasyondan toplanmış 30.940 birey morfolojik olarak teşhis edilmiştir (Çizelge 4). Teşhis sonucunda 6 cinsten 22 farklı türün örneklendiği görülmüştür. Bu örneklerden 270'i ayrılarak DNA'ları barkodlanmıştır. Türlerin toplandığı iller birey sayılarıyla birlikte Çizelge 4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4. Tez çalışmasında tespit edilen türler ve toplandıkları illere göre birey sayıları

	Türler	2013	2014	2015	2016
Anophelinae	<i>Anopheles algeriensis</i>				Kırklareli (n=3)
	<i>Anopheles claviger s.l.</i>	Edirne (n=3), Kırklareli (n=2)	Kırklareli (n=17), Tekirdağ (n=1)	Adana (n=37), Edirne (n=11), Osmaniye (n=18), Tekirdağ (n=1)	Kırklareli (n=15), Muğla (n=3)
	<i>Anopheles hyrcanus s.l.</i>			Çankırı(n=1)	Kırklareli (n=3)
	<i>Anopheles maculipennis s.l.</i>	Edirne (n=964), Kırklareli (n=1297)	Edirne (n=880), Kırklareli (n=2546), Tekirdağ (n=48)	Adana (n=53), Edirne (n=393), Hatay (n=1), Kırklareli (n=1188), Osmaniye (n=36), Tekirdağ (n=177)	Edirne (n=30), Kırklareli (n=303), Muğla (n=7)
	<i>Anopheles plumbeus</i>	Edirne (n=8)			Kırklareli (n=4)
	<i>Anopheles sp.</i>			Adana (n=9), Edirne (n=3), Kırklareli (n=1), Tekirdağ (n=1)	Kırklareli (n=7), Muğla (n=1)
	<i>Anopheles superpictus</i>			Izmir (n=1),	
	<i>Aedes aegypti</i>				Artvin (n=8), Rize (n=48)
Culicinae	<i>Aedes albopictus</i>				Artvin (n=292), Kırklareli (n=86), Rize (n=40), Trabzon (n=93)
	<i>Aedes caspius</i>	Edirne (n=14)	Kırklareli (n=23), Tekirdağ (n=2)	Adana (n=13), Çanakkale (n=1), Çankırı(n=1), Edirne (n=2828), Hatay (n=44), İzmir (n=75), Kırklareli (n=5024), Osmaniye (n=14), Tekirdağ (n=209)	Edirne (n=64), Kırklareli (n=11), Muğla (n=3)
	<i>Aedes geniculatus</i>			Kırklareli (n=18)	Kırklareli (n=1)
	<i>Aedes pulcritarsis</i>			Izmir (n=1), Kırklareli (n=3), Tekirdağ (n=1)	Muğla (n=2)
	<i>Aedes rusticus</i>		Kırklareli (n=1)		Edirne (n=1)
	<i>Aedes vexans</i>	Edirne (n=3), Kırklareli (n=1)	Kırklareli (n=6)		
	<i>Coquillettidia buxtoni</i>				Kırklareli (n=3)
	<i>Coquillettidia richardii</i>			Edirne (n=16)	Kırklareli (n=26)
	<i>Culex impudicus</i>	Edirne (n=16), Kırklareli (n=2)	Kırklareli (n=1)		Kırklareli (n=2)
	<i>Culex modestus</i>			Çankırı(n=1), Edirne(n=1)	
	<i>Culex perexiguus</i>	Edirne (n=3), Kırklareli (n=2)		Adana (n=1), Osmaniye (n=5)	
	<i>Culex pipiens s.l.</i>	Edirne (n=1929), Kırklareli (n=2223)	Edirne (n=28), Kırklareli (n=643), Tekirdağ (n=4446)	Adana (n=100), Balıkesir (n=26), Çanakkale (n=49), Edirne (n=796), Hatay (n=103), İzmir (n=48), Kahramanmaraş (n=94), Kırklareli (n=504), Osmaniye (n=147), Tekirdağ (n=1079)	Aydın (n=4), Edirne (n= 60), Kırklareli (n=711), Muğla (n=62)
	<i>Culex sp.</i>	Edirne (n=3), Kırklareli (n=1)	Tekirdağ (n=1)	Adana (n=3), Edirne (n=1), Hatay (n=2), Kahramanmaraş (n=32), Kırklareli (n=1), Osmaniye (n=3), Tekirdağ (n=2)	Muğla (n=1)
	<i>Culex theileri</i>	Edirne (n=2)	Edirne (n=1), Kırklareli (n=71)	Balıkesir (n=1), Çanakkale (n=55), Çankırı(n=2), Edirne (n=116), Hatay (n=11), İzmir (n=2), Kahramanmaraş (n=10), Kırklareli (n=97), Tekirdağ (n=13)	Edirne (n=29), Muğla (n=3)
	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>			Adana (n=32), Osmaniye (n=21)	
	<i>Culiseta annulata</i>		Kırklareli (n=12), Tekirdağ (n=84)	Kırklareli (n=11), Tekirdağ (n=25)	Edirne (n=2)
<i>Culiseta longiareolata</i>	Kırklareli (n=1)	Tekirdağ (n=83)	Çanakkale (n=5), Hatay (n=1), İzmir (n=2), Kırklareli (n=2), Tekirdağ (n=20)	Aydın (n=1), Muğla (n=5)	
<i>Uranotaenia unguiculata</i>			Edirne (n=3), Kahramanmaraş (n=3),	Edirne (n=11), Kırklareli (n=14)	
	Toplam örnek sayısı	6474	8894	13613	1959

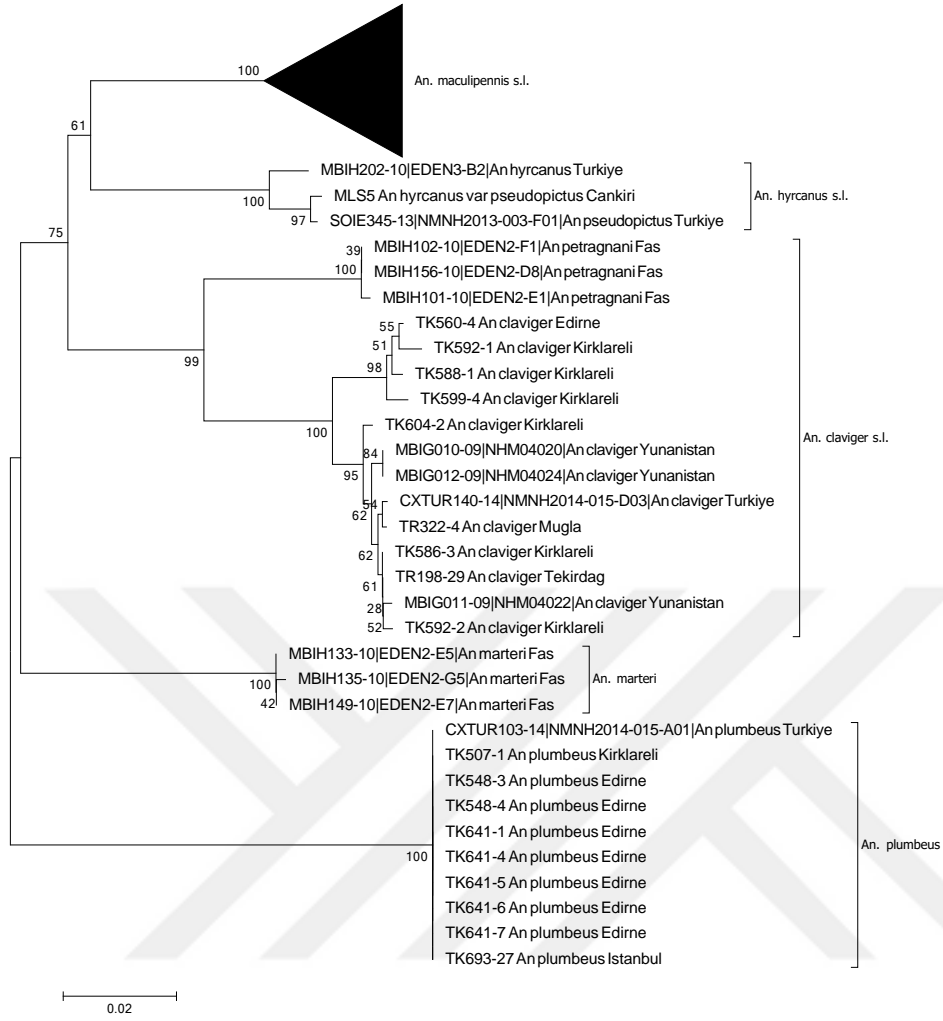
1.6. Anophelinae Alt Ailesine İlişkin Bulgular

Anophelinae alt ailesine ait 8.073 örnek 9 ilden toplanmış ve örneklerin tümü morfolojik olarak teşhis edilmiştir. Örnekler ağırlıklı olarak *Anopheles maculipennis s.l.* türü olup, bunun dışında *An. algeriensis*, *An. claviger*, *An. hyrcanus*, *An. plumbeus* ve *An. superpictus* türleri de örneklenmiştir. Anophelinae örneklerinden 87 tanesi moleküler olarak analiz edilmiş ve teşhisleri doğrulanmıştır.

Moleküler analizleri tamamlanan 87 adet örneğe ait COI gen bölgesi sekansları 17 adet referans sekans [*An. claviger* (BOLD MBIG010-09, MBIG012-09, MBIG011-09 Yunanistan; CXTUR140-14 Türkiye), *An. hyrcanus* (BOLD MBIH202-10 Türkiye), *An. marteri* (BOLD MBIH133-10, MBIH135-10, MBIH149-10 Fas), *An. petraghani* (BOLD MBIH102-10, MBIH156-10, MBIH101-10 Fas), *An. plumbeus* (BOLD CXTUR103-14 Türkiye), *An. pseudopictus* (BOLD SOIE345-13 Türkiye), *An. labranchiae* (GenBank HQ860418 Cezayir), *An. maculipennis* s.s. (BOLD MBIM9-G1 Türkiye), *An. melanoon* (BOLD NMNH2014-015-E05 Türkiye), *An. sacharovi* (BOLD NMNH2014-016-B01 Türkiye)] dahil edilerek hizalanmış ve 651 baz çifti uzunluğunda kesilmiştir. Bu veri seti üzerinden Kimura 2 Parametre Modeli kullanılarak yapılan hesaplamalar, beş *Anopheles* türü arasında %2'nin üzerinde (%9.4 - %14.4) genetik mesafe bulunduğunu göstermiş ve bu hesaplamalara göre NJ ağacı çizilmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. *Anopheles* cinsine ait türlerin genetik mesafeleri. (Yukarı köşegen, türler arasındaki ikili farklılıkların standart sapmasını; aşağı köşegen türler arasındaki ikili farklılıkların ortalama sayısını ifade eder.)

	<i>An. plumbeus</i>	<i>An. claviger</i> s.l.	<i>An. maculipennis</i> s.l.	<i>An. marteri</i>	<i>An. hyrcanus</i> s.l.
<i>An. plumbeus</i>		0,015	0,015	0,014	0,014
<i>An. claviger</i> s.l.	0,142		0,012	0,012	0,011
<i>An. maculipennis</i> s.l.	0,144	0,116		0,013	0,012
<i>An. marteri</i>	0,122	0,111	0,113		0,012
<i>An. hyrcanus</i> s.l.	0,133	0,099	0,095	0,094	
c=484, v=167, Pi=162, s=5					



Şekil 4. *Anopheles* cinsi örneklerine ait Neighbor Joining ağacı

Moleküler olarak analiz edilen 87 örnekten 68 tanesi *An. maculipennis* s.l. tür kompleksinden seçilmiş ve analizler sonucunda 45 tanesinin *Anopheles maculipennis* s.s., 10 tanesinin *Anopheles melanoon* ve 13 tanesinin de *Anopheles sacharovi* türü olduğu görülmüştür. Ancak aynı kompleksin tipik üyelerinden olduğu bilinen *Anopheles messeae* türüne ait örneğe rastlanmamıştır (Çizelge 6, Ek 1). Aynı yöntemlerle genetik mesafeleri hesaplanarak NJ ağacı çizilen kompleks üyesi türlerin genetik olarak birbirlerine %2'den uzak oldukları görülmüştür (Çizelge 6).

Çizelge 6. *Anopheles maculipennis* tür kompleksine cinsine ait türlerin genetik mesafeleri. (Yukarı köşegen, türler arasındaki ikili farklılıkların standart sapmasını; aşağı köşegen türler arasındaki ikili farklılıkların ortalama sayısını ifade eder.)

	<i>An. melanoon</i>	<i>An. sacharovi</i>	<i>An. maculipennis s.s.</i>	<i>An. messae</i>
<i>An. melanoon</i>		0,008	0,005	0,008
<i>An. sacharovi</i>	0,049		0,008	0,009
<i>An. maculipennis s.s.</i>	0,023	0,049		0,007
<i>An. messae</i>	0,038	0,058	0,038	
c=585, v=66, Pi=50, s=16				

1.7. Culicinae Alt Ailesine İlişkin Bulgular

Tez çalışması için oluşturulan örneklem içinde Culicinae alt ailesine dahil *Aedes*, *Culex*, *Coquillettidia*, *Culiseta* ve *Uranotaenia* cinslerine ait bireylerin varlığı morfolojik olarak tespit edilmiştir.

4.2.1. *Aedes* Cinsine İlişkin Bulgular

Toplam 13 ilden alınan örneklerden *Aedes* cinsine ait 8931 birey morfolojik olarak teşhis edilmiştir. Teşhis sonuçlarına göre sayısal ağırlık *Aedes caspius* türünde olup bu cinsten 7 farklı tür örneklenmiştir. *Aedes* örneklerinden 41 tanesi moleküler olarak çalışılmış ve morfolojik teşhisleri doğrulanmıştır.

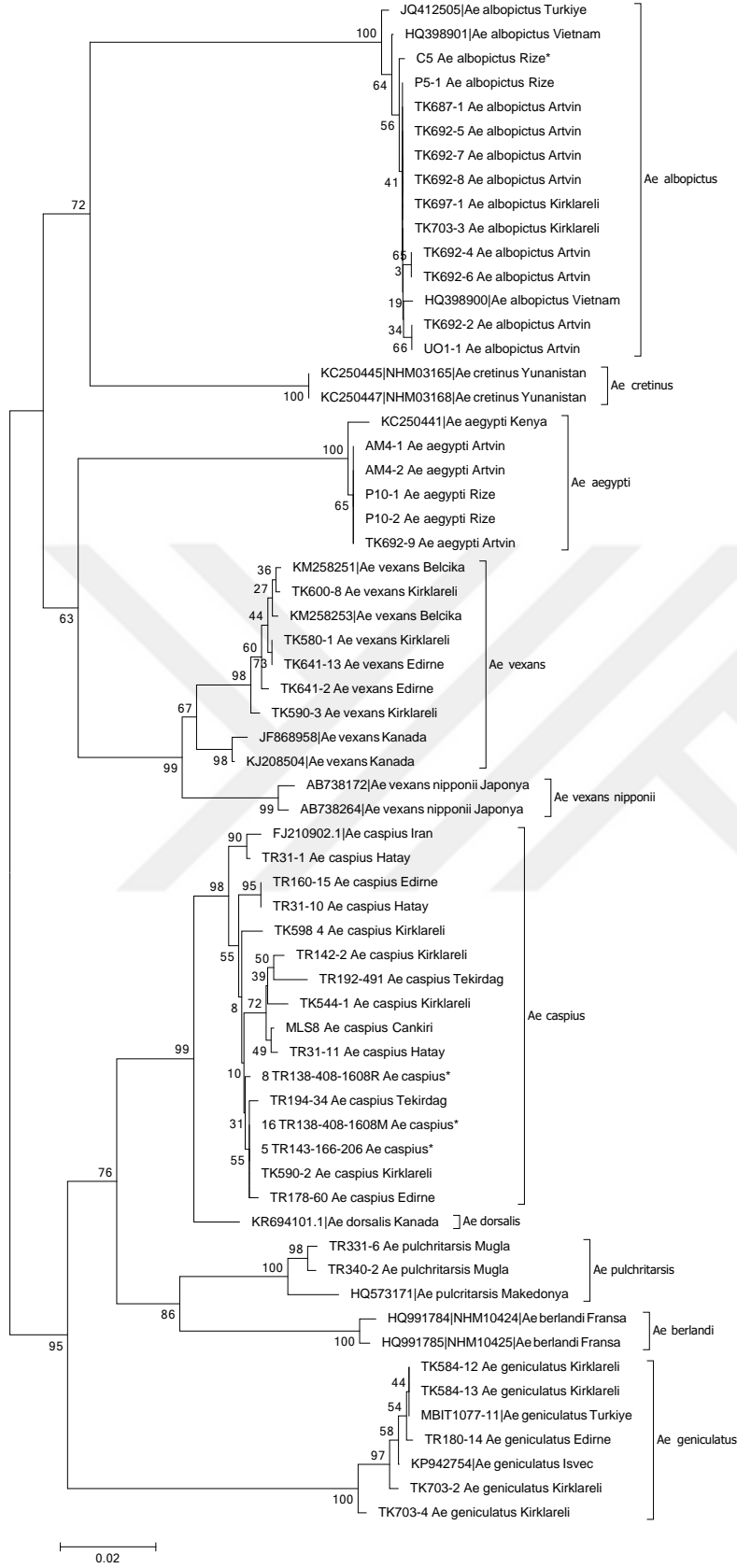
Bu 41 bireyin mitokondriyal COI gen bölgesi dizileri 19 adet referans dizi [*Ae. aegypti* (GenBank KC250441 Kenya), *Ae. albopictus* (GenBank JQ412505 Türkiye; HQ398901, HQ398900 Vietnam), *Ae. berlandi* (GenBank HQ991784, HQ991785 Fransa), *Ae. caspius* (GenBank FJ210902 İran), *Ae. cretinus* (GenBank KC250445, KC250447), *Ae. dorsalis* (GenBank KR694101 Kanada), *Ae. geniculatus* (BOLD MBIT1077-11 Türkiye; GenBank KP942754 İsveç), *Ae. pulchritarsis* (GenBank HQ573171 Makedonya), *Ae. vexans* (GenBank

KM258251, KM258253 Belçika; JF868958, KJ208504 Kanada), *Ae. vexans nipponii* (GenBank AB738172, AB738264 Japonya)] eklenerek hizalanmış ve 550 baz çifti uzunluğunda kesilmiştir. Elde edilen veri seti ile Kimura2 Parametre Modeli kullanılarak yapılan hesaplamalar, dokuz *Aedes* türü arasında %2'nin üzerinde (%2.4 - %16.9) genetik uzaklık olduğunu göstermiş ve bu hesaplamalara göre NJ ağacı oluşturulmuştur (Çizelge 7, Şekil 2).

Çizelge 7. *Aedes* cinsine ait türlerin genetik mesafeleri. (Yukarı köşegen, türler arasındaki ikili farklılıkların standart sapmasını; aşağı köşegen türler arasındaki ikili farklılıkların ortalama sayısını ifade eder.)

	<i>Ae. vexans</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. albopictus</i>	<i>Ae. caspius</i>	<i>Ae. pulchritarsis</i>	<i>Ae. berlandi</i>	<i>Ae. cretinus</i>	<i>Ae. geniculatus</i>	<i>Ae. dorsalis</i>
<i>Ae. vexans</i>		0,013	0,015	0,013	0,014	0,016	0,014	0,015	0,013
<i>Ae. aegypti</i>	0,100		0,015	0,015	0,015	0,017	0,015	0,018	0,014
<i>Ae. albopictus</i>	0,123	0,130		0,016	0,018	0,017	0,014	0,017	0,015
<i>Ae. caspius</i>	0,108	0,126	0,139		0,011	0,012	0,014	0,014	0,006
<i>Ae. pulchritarsis</i>	0,128	0,128	0,159	0,074		0,011	0,016	0,015	0,011
<i>Ae. berlandi</i>	0,146	0,154	0,151	0,084	0,071		0,018	0,015	0,013
<i>Ae. cretinus</i>	0,110	0,119	0,110	0,114	0,144	0,151		0,017	0,014
<i>Ae. geniculatus</i>	0,132	0,169	0,150	0,110	0,123	0,121	0,146		0,014
<i>Ae. dorsalis</i>	0,102	0,114	0,123	0,024	0,065	0,087	0,109	0,105	

c=400, v=150, Pi=144, s=6



Şekil 5. *Aedes* cinsi örneklerine ait Neighbor Joining ağacı

1.7.2. *Culex* Cinsine İlişkin Bulgular

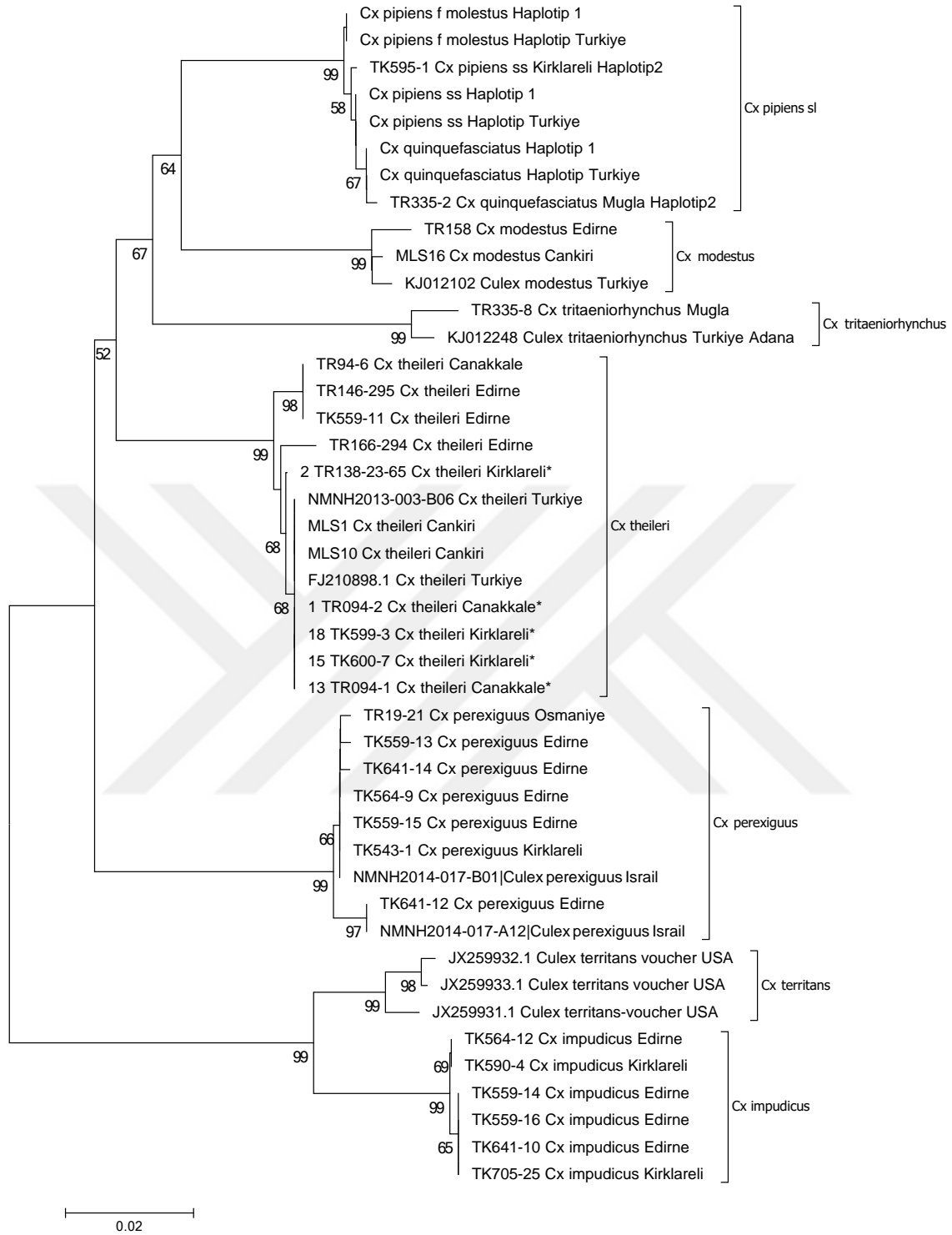
Culex cinsine ait toplam 13.602 örnek 13 farklı ilden toplanmış ve morfolojik teşhisler sonucunda 6 tür teşhis edilmiştir. Toplanan örnekler arasında 50 birey ancak cins düzeyine kadar teşhis edilebilmiştir. Teşhis sonuçları, *Culex pipiens* s.l.'in en bol bulunan tür olduğunu ortaya çıkarmıştır.. *Culex* örneklerinden 86 tanesi seçilerek moleküler analizleri yapılmış ve morfolojik teşhisleri doğrulanmıştır.

Moleküler analizleri tamamlanan 86 örneğin COI mitokondiyal gen bölgesi dizileri 11 adet referans dizi [*Cx. modestus* (GenBank KJ012102 Türkiye), *Cx. perexiguus* (BOLD NMNH2014-017-A12, NMNH2014017-B01 İsrail), *Cx. theileri* (BOLD NMNH2013-003-B06 Türkiye; GenBank FJ210898), *Cx. territans* (GenBank JX259931, JX259932, JX259933 ABD), *Cx. torrentium* (BOLD NMNH2014-016-A10 Türkiye) *Cx. tritaeniorhynchus* (GenBank KJ012248 Türkiye)] ile birlikte hizalanıp 654 baz çifti uzunluğunda kesilmesiyle elde edilen veri seti kullanılarak Kimura2 Parametre Modeli'yle genetik mesafeler hesaplanmış ve NJ ağaçları çizilmiştir (Çizelge 8, Şekil 5).

Çizelge 8. *Culex* cinsine ait türlerin genetik mesafeleri. (Yukarı köşegen, türler arasındaki ikili farklılıkların standart sapmasını; aşağı köşegen türler arasındaki ikili farklılıkların ortalama sayısını ifade eder.)

	<i>Cx. theileri</i>	<i>Cx. pipiens</i> s.l.	<i>Cx. territans</i>	<i>Cx. modestus</i>	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	<i>Cx. perexiguus</i>	<i>Cx. impudicus</i>
<i>Cx. theileri</i>		0,010	0,013	0,010	0,011	0,010	0,014
<i>Cx. pipiens</i> s.l.	0,066		0,014	0,010	0,010	0,012	0,015
<i>Cx. territans</i>	0,110	0,122		0,014	0,014	0,014	0,008
<i>Cx. modestus</i>	0,072	0,060	0,126		0,011	0,012	0,015
<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	0,080	0,074	0,131	0,088		0,012	0,014
<i>Cx. perexiguus</i>	0,071	0,086	0,121	0,084	0,093		0,014
<i>Cx. impudicus</i>	0,114	0,136	0,041	0,130	0,134	0,119	

c: 517, v: 137, pi: 128, s: 9



Şekil 6. *Culex* cinsi örneklere ait Neighbor Joining ağacı

Moleküler olarak analiz edilen örneklerden 64 tanesi *Culex pipiens* s.l. tür kompleksinden seçilmiş ve analizler sonucunda 48 tanesinin *Culex pipiens* s.s., 3 tanesinin *Culex pipiens* f. *molestus*, 13 tanesinin de *Culex quinquefasciatus*

olduğu görülmüştür. Aynı yöntemler kullanılarak genetik mesafeleri hesaplanan türlerin NJ ağaçları çizilmiştir (Çizelge 9, Ek 2).

Çizelge 9. *Culex pipiens* tür kompleksine ait türlerin genetik mesafeleri. (Yukarı köşegen, türler arasındaki ikili farklılıkların standart sapmasını; aşağı köşegen türler arasındaki ikili farklılıkların ortalama sayısını ifade eder.)

	<i>Cx. pipiens f. molestus</i>	<i>Cx. pipiens s.s.</i>	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	<i>Cx. territans</i>
<i>Cx. pipiens f. molestus</i>		0,002	0,002	0,013
<i>Cx. pipiens s.s.</i>	0,002		0,001	0,014
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	0,003	0,002		0,014
<i>Cx. territans</i>	0,129	0,131	0,133	
c=600, v=54, Pi=3, s=51				

Culex pipiens tür kompleksi analizleri sonucunda bir tanesi *Culex pipiens s.s.* ve bir tanesi de *Culex quinquefasciatus* olmak üzere iki yeni haplotiple karşılaşılmış ve bu örnekler “Haplotip2” olarak isimlendirilmiştir.

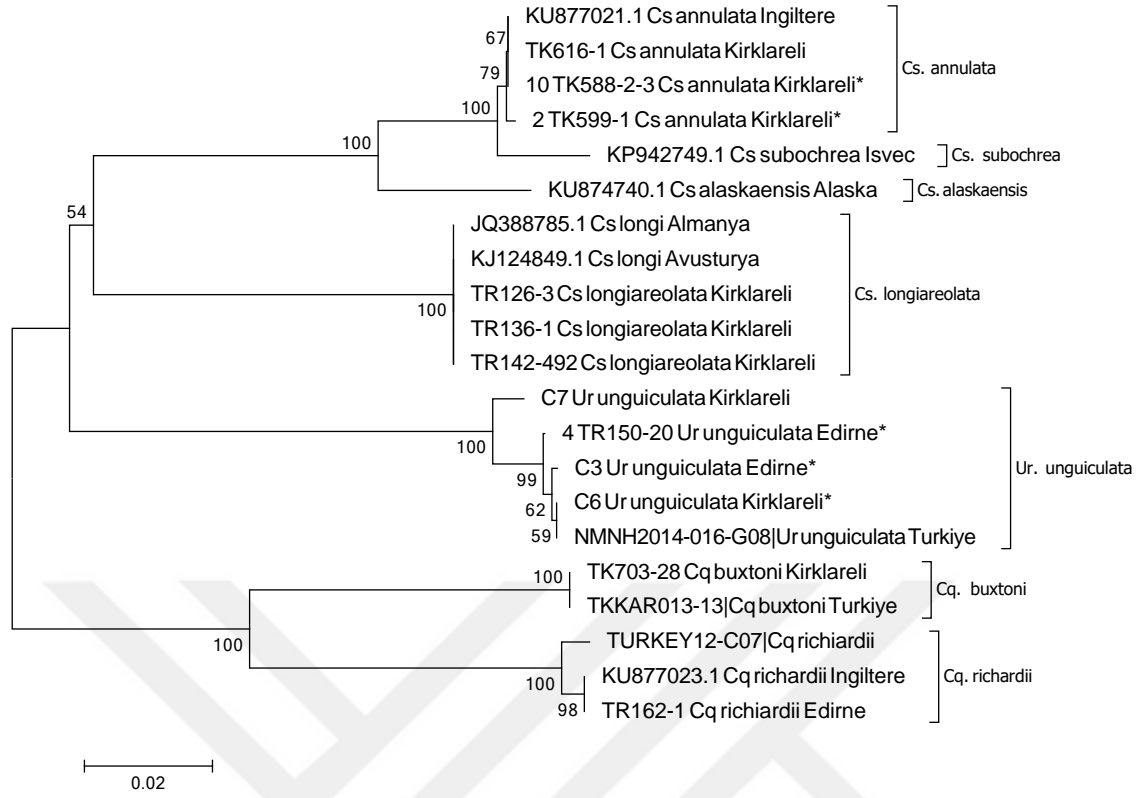
1.7.3. *Coquillettidia*, *Culiseta*, *Uranotaenia* Cinslerine İlişkin Bulgular

Tez çalışması için 2 ilden *Coquillettidia* cinsine ait *Cq. buxtoni* ve *Cq. richardii* türleri, 7 ilden *Culiseta* cinsine ait *Cs. annulata* ve *Cs. longiareolata* türleri, 3 ilden *Uranotaenia* cinsine ait *Uranotaenia unguiculata* türü örneklenmiştir. Morfolojik teşhislerinin ardından toplam 214 bireyden 21 tanesi moleküler olarak analiz edilmiştir. Seçilen bireylerin sekansları 8 adet referans sekans [*Cq. buxtoni* (BOLD TKKAR013-13 Türkiye), *Cq. richardii* (BOLD TURKEY12-C07 Türkiye; GenBank KU877023 İngiltere), *Cs. alaskaensis* (GenBank KU874740 Alaska), *Cs. annulata* (GenBank KU877021 İngiltere), *Cs. subochrea* (GenBank KP942749 İsveç), *Ur.*

unguiculata (BOLD NMNH2014-016-G08 Türkiye)] eklenerek hizalanmış ve 637 baz çifti uzunluğunda kesilmiştir. Bu veri seti üzerinden Kimura2 Parametre Modeli ile yapılan hesaplamalar, 3 farklı cinsten 5 türe ait örneklerin arasında %2'nin üzerinde genetik mesafe olduğunu göstermiş, hesaplamalardan yola çıkılarak NJ ağacı çizilmiştir (Çizelge 10, Şekil 6).

Çizelge 10. *Coquillettidia*, *Culiseta* ve *Uranotaenia* cinslerine ait türlerin genetik mesafeleri. (Yukarı köşegen, türler arasındaki ikili farklılıkların standart sapmasını; aşağı köşegen türler arasındaki ikili farklılıkların ortalama sayısını ifade eder.)

	<i>Cs. annulata</i>	<i>Ur. unguiculata</i>	<i>Cs. longiareolata</i>	<i>Cs. subochrea</i>	<i>Cs. alaskaensis</i>	<i>Cq. richardii</i>	<i>Cq. buxtoni</i>
<i>Cs. annulata</i>		0,015	0,014	0,005	0,008	0,017	0,017
<i>Ur. unguiculata</i>	0,144		0,015	0,015	0,014	0,017	0,017
<i>Cs. longiareolata</i>	0,121	0,136		0,015	0,014	0,016	0,016
<i>Cs. subochrea</i>	0,016	0,153	0,130		0,009	0,018	0,018
<i>Cs. alaskaensis</i>	0,044	0,140	0,128	0,059		0,017	0,017
<i>Cq. richardii</i>	0,167	0,174	0,158	0,179	0,170		0,013
<i>Cq. buxtoni</i>	0,166	0,169	0,157	0,178	0,164	0,103	
c=486, v=169, Pi=158, s=11							



Şekil 7. *Coquillettidia*, *Culiseta* ve *Uranotaenia* cinsi örneklere ait Neighbor Joining ağacı

TARTIŞMA

Kum sinekleri iyi uçucu olmamalarına rağmen coğrafi bariyerleri aşabilmekte ve alt populasyonlar arasında genetik köprüleri oluşturabilmektedirler. Bu yayılımda, evrimsel bir bakış açısı olarak antropolojik ilişkinin büyük önemi bulunmaktadır. Nitekim, zorunlu insan hareketlerinin en tipik ve genel örneklerinden biri olan Suriyeli mülteci göç yollarının ve ülkemizde mültecilerin yerleştirildikleri alanların, kum sineği türlerinin ve populasyonlarının yoğun olduğu bölgelerde olması; ayrıca patojen sirkülasyonu bu alanların çakışması, bu insan hareketleriyle ülkemize giriş yapan potansiyel kum sineği populasyonlarının ve taşıdıkları patojenlerin var olan sirkülasyona katılmasını sağlamıştır [72] (Şekil 8). Sivrisineklerin, kum sineklerine göre daha yüksek uçuş kabiliyetlerinin olmasına, insan ve dolayısıyla evcil hayvan hareketleri de eklendiğinde yeni coğrafi alanlara yayılmaları görece daha hızlı ve kolay olması beklenmektedir [13], [73], [74]. Nitekim insan hareketleri, en çok ulaşım ve taşıma teknolojileri ile uluslararası ticaretteki gelişmelere bağlı olarak, en istilacı sivrisinek türlerinin yayılmasından sorumludur [73]. Küreselleşmenin etkileri patojenlerin ve vektörlerin yeni alanlara yayılması ve yerleşik popülasyonlar oluşturma kapasitesini artırırken, insan ve hayvan sağlığına yönelik artan tehditleri tetiklemektedir. Egzotik *Ae. aegypti* ve *Ae. albopictus* türlerinin kullanılmış lastik ve süs bitkisi ticareti yoluyla ülkemize kadar yayılması bu duruma örnek teşkil etmektedir [74]. Bu istilacı türlerin başarılı olmalarının nedenleri arasında yumurtalarının kuraklığa dayanıklı olması ve ticareti yapılan nesnelere doğal habitatlarını taklit etmesi sayılabilir [13].

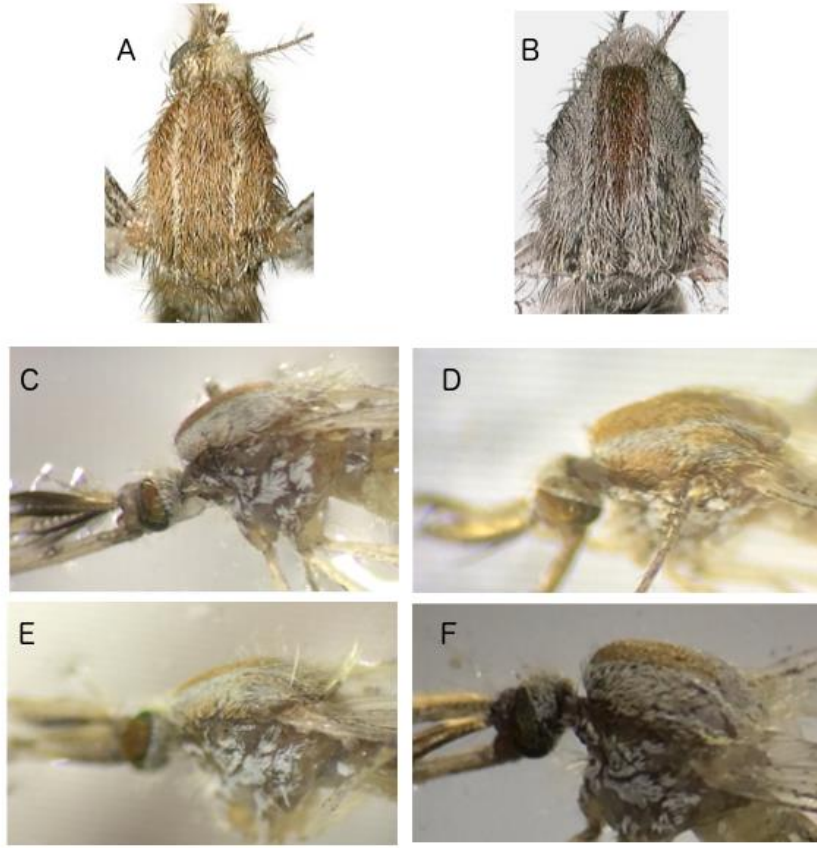


Şekil 8. Anadolu’da, insan, evcil hayvan ve ticaret hareketlerinin temel yönleri ile vektör kum sineği-patojen ilişkisi [75].

Yayılm alanı geniş olan *Ae. albopictus* ile kısıtlı olan *Ae. cretinus* birbirlerine çok yakın iki tür olup, ikisi de ülkemizde yerleşik populasyonlar halinde bulunmaktadır [3]. Benzer habitatlarda yaşamaları ve morfolojik olarak birbirlerine çok benzemeleri nedeniyle klasik yöntemlerle yapılan teşhis çalışmaları hatalı olabilmektedir [76]. Doğru teşhis yapılması, türler arasındaki vektöriyel kapasite farklılığı nedeniyle sürveyans çalışmaları sırasında büyük önem taşımaktadır [36], [77]. Örneğin, bu tez çalışması için *Ae. albopictus* olarak teşhis edilen örneklerin, bu türe morfolojik olarak çok benzeyen ve ülkemizde yayılım gösteren *Ae. cretinus* türü olma ihtimali moleküler yöntemlerle ortadan kaldırılmıştır. *Aedes albopictus*'un ülkemize kuzeybatısından ve kuzeydoğusundan giriş yapmış olması ileride bu iki yönden gelen popülasyonların birleşme ihtimalini doğurmaktadır. Her iki popülasyonun da örneklenmesi ve barkodlanması çalışma sonuçları açısından faydalı olmuştur.

Tez çalışması sırasında, Karadeniz Bölgesi'nden toplanan örnekler için üretilen diziler, vektör bir tür olan *Ae. aegypti* 'nin Türkiye'deki ilk kaydını doğrulamıştır. Moleküler analizler sonucunda, Artvin ve Rize illerinden toplanmış *Ae. aegypti* örnekleri, NJ ağacında da görülebileceği gibi, kendi aralarında genetik farklılık göstermemektedir. *Aedes aegypti* Zika virüsü (ZIKV) için, *Ae. albopictus* ise Çikungunya (CHIKV) virüsü için birincil vektör konumundadır [39], [42]. Bu vektör türlerin ülkemizde yerleşik populasyonlarının olması, insan sağlığı açısından büyük bir risk faktörüdür. Bunun yanısıra tez örnekleme içinden *An. sacharovi*, *An. maculipennis s.s.*, *Ae. caspius*, *Cs. annulata* ve *Cx. pipiens s.s.* türlerine ait örneklerde CHIKV bulunduğu tespit edilmiştir. Bu türler CHIKV için taşıyıcı rol oynamamalarına rağmen virüsün tespiti, patojen (CHIKV) ile vektörün (*Ae. albopictus*) aynı anda aynı bölgede var olduğunu kanıtlanması açısından ülkemiz için önemli bir risk göstergesidir [78].

Morfolojik varyasyonlardan ötürü *Ae. dorsalis* olma ihtimalinden yola çıkılarak barkodlanan örneklerin, *Ae. caspius* oldukları moleküler çalışmalar sonucunda ortaya çıkmıştır. Şekil 5'te de görüldüğü gibi *Aedes caspius* örneklerinin scutumunda bulunan pulların desenlenmesinde geniş varyasyon bulunmaktadır; fakat moleküler sonuçlar tüm örneklerin aynı türe ait olduğunu göstermiştir.



Şekil 9. *Aedes caspius* örneklerinin scutum renklenmesinde görülen varyasyonlar (*Aedes caspius* scutum görüntüsü [A], *Aedes dorsalis* scutum görüntüsü [B], çalışmalar sırasında karşılaşılan varyasyonlar [C,D,E,F]), [79]

Aedes caspius arbovirüsler için potansiyel vektör konumundadır [80]. Türkiye’de 2014 yılında yapılan araştırma sonuçlarına göre, tezin de çalışma alanı dahilinde olan Kırklareli’nden alınan örneklem içinde, *Ae. caspius* için Batı Nil Virüsü (WNV) pozitif sonuçlar çıkmıştır [81]. İran’da 2017 yılında yapılan bir çalışma da aynı sonuçları desteklemektedir [82]. Bu bilgiler ışığında *Ae. caspius* WNV için birincil vektör olmamakla birlikte virüsün sirkülasyonunda rol oynadığı görülmektedir. Arazi çalışmaları sonucunda toplanan tüm örneklerin yaklaşık %27’sinin, *Aedes* cinsi örneklerin ise yaklaşık %93’ünün *Ae. caspius* türüne ait olması göstermektedir ki, bu tür, sürveyans çalışmaları için çok büyük önem taşımaktadır.

Morfolojik teşhisler yapılırken kimi örneklerin zedelenmiş ya da bütünlüklerinin bozulmuş olması sebebiyle sadece cins düzeyine kadar teşhis edilebilmiş veya morfolojik olarak birbirine yakın en iki tür arasında kalınmıştır. Bu morfolojik

teşhisler moleküler çalışmalarla kesinleştirilmiştir. Bu duruma örnek olarak, renk farkıyla birbirinden ayrılan *An. claviger* ile *An. plumbeus* ve kanat pullarıyla birbirinden ayrılan *An. claviger* ile *An. maculipennis* teşhisleri gösterilebilir.

Anopheles claviger, zoofilik bir tür olmasının yanında hayvansal kaynakların yeterli olmadığı koşullarda antropofilik özellik göstermesi nedeniyle ekzofil olmasına rağmen hayvan ahırları gibi kapalı alanlarda sıklıkla bulunabilir [3]. Bu özelliklerine bağlı olarak da, sıtma vektörlüğü açısından önem derecesi, dağılım alanına göre farklılıklar göstermektedir [55]. Türkiye’de, *An. claviger*’in enfekte ya da enfektif örnekleri tespit edilememiş olmasına rağmen, Suriye’de sporozoit pozitif dişiler bulunmuştur [55], [83]. Bu nedenle ülkemizin kırsal kesimlerinde sıtmanın taşınmasında etkisi olabileceği kabul edilmektedir [84]. *Anopheles claviger* Türkiye’de sıtma için birincil vektör olmasa da, Suriye ve Suriye’li göçmen hareketleri nedeniyle ileriki zamanlarda, insan sağlığı açısından sorun teşkil edebilir.

Anopheles maculipennis tür kompleksi üyeleri, yumurtalarının morfolojik karakterleriyle birbirlerinden ayırt edilirler [85]. Tez çalışması için toplanan sivrisinekler virus analizi de yapılacağı için doğrudan kuru buza alınmış ve -80°C’de muhafaza edilmişlerdir. Bu nedenle morfolojik yöntemlerle ayırt etmek imkansız hale geldiğinden DNA barkodlama yöntemi ile kesin sonuçlara ulaşılmıştır. Kesin sonuca ulaşmak, sürveyans çalışmaları için çok önemli bir aşamadır [86]. *Anopheles maculipennis* tür kompleksi içinde yer alan *An. sacharovi*, birincil sıtma vektörü olması sebebiyle, tespit edildiği lokaliteler sıtma riski ile karşı karşıyadır. Kayıtlara göre, 1917 ile 1925 yılları arasında Türkiye’nin en kalabalık şehirleri olan İstanbul, İzmir ve Ankara’da, nüfusun sırasıyla %80, %72 ve %30 ‘unun sıtmalı hasta olduğu bildirilmiştir. Bu oran Denizli’de %90, Antalya’da %86, Balıkesir’de %82 ve Mardinde %80 olmuştur [87]. Tez çalışması için toplanan örnekler içinden Adana, Edirne, Muğla ve Tekirdağ illerinden *An. sacharovi* türü teşhis edilmiştir. Mardin’de 2013 yılında görülen sıtma salgını da göstermektedir ki, bu 4 il için sıtma riski söz konusudur [15].

Culex cinsine ait sivrisinek türlerinin büyük çoğunluğu, Çizelge 1’de de görüldüğü gibi, arbovirüsler için önemli vektörler konumundadır.

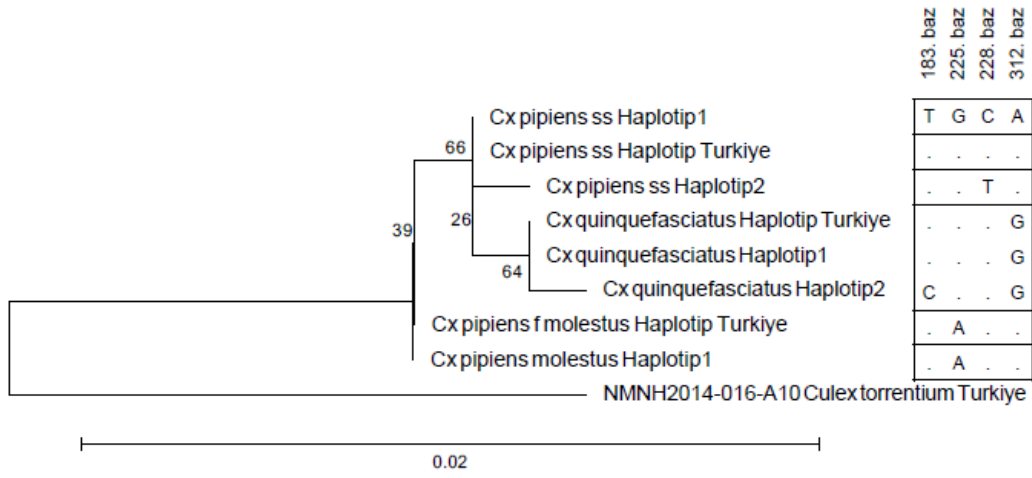
Morfolojik teşhisler sırasında kullanılan anahtarlara göre teşhis edildiğinde *Cx. territans* olduğu sonucuna varılan örneklerin, DNA barkodları yapıldıktan sonra çizilen NJ ağacında *Cx. impudicus* türüne ait referans sekansla gruplandığı görülmüştür. Bu iki türün genetik mesafeleri %4 olarak bulunmuştur. Bu durum morfolojik anahtarlarda barkod sonuçlarına göre güncellemeler yapılması gerektiğinin bir göstergesidir.

Vektöriyel riskli bir tür olması ve dünya çapında geniş bir yayılım göstermesi sebebiyle *Cx. pipiens* tür kompleksi üyeleri büyük önem taşımaktadır. Günümüze kadar *Cx. pipiens* türünün iki formu bulunduğu tespit edilmiştir. Bu formlardan ilki kırsal alanlarda yayılış gösteren ve ornitofilik davranış gösteren *Cx. pipiens f. pipiens*, diğeri ise kentsel bölgelerde yoğun olarak bulunan, antropofilik davranış gösteren ve ontojen (kan emmeden en az bir grup yumurta verebilen) olmasıyla bilinen *Cx. pipiens f. molestus* türüdür [88].

Culex pipiens f. molestus türünün, Ankara Hatay ve Şanlıurfa illerinden toplanmış örnekleriyle EBAL'de oluşturulmuş kolonilerden alınan ve ontojenik özelliklerinden ötürü tür teşhislerinden emin olunan bireylerin DNA örnekleri daha önce barkodlanmıştır [1]. Tez çalışması için Kırklareli ve Muğla'dan toplanmış olan bireylerin dizileri koloni örneklerinin dizileriyle karşılaştırılmış ve birbirleriyle çok büyük oranda örtüştüğü görülmüştür.

Daha önceki çalışmalarda, ülkemizde varlığı gösterilmiş olan *Cx. pipiens* tür kompleksi üyelerinden *Cx. quinquefasciatus* türünün daha önce barkodlandığı illerden biri olan Çanakkale'ye ek olarak Balıkesir, Edirne, Hatay, İzmir, Kahramanmaraş, Osmaniye ve Muğla illerinden toplanan örneklerin mitokondriyal COI gen bölgelerinin barkodlanması, türün yayılımının daha geniş olduğunu göstermiştir [1]. Bunların yanı sıra, referans sekanslar (Haplotip Türkiye) ve onlarla örtüşen tez çalışmasının diğeri örneklerinin (Haplotip 1) dışında 1 baz varyasyonla tez çalışmasındaki diğeri türdeşlerinden ayrılan 1 adet *Cx. pipiens* s.s. ve 1 adet *Cx. quinquefasciatus* örneği teşhis edilmiştir.. Birbirlerinden, 658 baz çiftlik COI dizisi içinde, sadece 229. ve 316. bazlardaki değişikliklerle ayrılan tür kompleksi üyeleri arasındaki genetik mesafenin oldukça kısa olduğu tespit edilmiştir [60]. Bu

nedenle, bulunan haplotipler için daha detaylı moleküler analizlerin yapılması hibritleşme olasılığı açısından aydınlatıcı olacaktır. Daha önce yapılan çalışmalarda tür kompleksinin üyelerini birbirinden ayırmak ve olası hibritleri tespit etmek için için mikrosatelit CQ11 bölgesindeki TG di-nükleotid tekrarlarının boylarının karşılaştırılması ve COI gen bölgesi için RFLP yöntemleri uygulanmıştır [89]. İleriki dönemlerde ülkemizde de benzer çalışmaların yapılması, *Cx. pipiens* s.l. grubu sivrisineklerin vektöriyel potansiyelinin anlaşılmasında yardımcı olacaktır.



Şekil 10. *Culex pipiens* s.l haplotipleri için oluşturulmuş Neighbor Joining ağacı ve baz değişiklikleri

Türkiye’de önceki yıllarda yapılan çalışmalarda, 2011-2013 yıllarında Mersin’den *Cx. quinquefasciatus* ve *Cx. perexiguus*; 2012 yılında Edirne’den *Ae. caspius* ve *Cx. pipiens* s.s. türlerinden WNV izole edilmiştir [23], [90]. Buna ek olarak, 2015 yılında tez çalışması için Kırklareli ilinden toplanan bir grup *Cx. pipiens* s.s. örneğinden oluşan havuzda da WNV ile karşılaşılmıştır (EK 2, TK199-23-46) [78]. WNV’nün Edirne’den izole edilmesinden 3 yıl sonra yakın bir il olan Kırklareli’de virüsle karşılaşılmış olması, virüsün bölgede sirküle olduğunu göstermektedir. Bir diğer flavivirüs olan ve hakkında çok az şey bilinen *Cx. theileri* flavivirüsünün, 2014 yılında Kırklareli Karahamza’dan ve ondan 1 yıl sonra hem Kırklareli Bostanlı hem de Çanakkale Ayvacık’tan toplanan örneklerden izole edilmiş olması bu virüsün

sirkülasyonunun kanıtıdır [91]. Söz konusu iki virüsün de aynı aileden olması ve yakın bölgelerden izole edilmiş olmaları açısından dinamikleri daha detaylı araştırılmalıdır.

Moleküler yöntemlerle Türkiye'nin sivrisinek faunasının tamamının revize edilmesini içeren 2015 tarihli çalışmanın, *Cq. buxtoni*'nin ülkemizdeki varlığını ilk kez göstermesinin ardından, tez çalışması için aynı bölgeden alınmış örneklem içinde, bu türün barkodlanması, *Cq. buxtoni* popülasyonunun yerleşik olduğunu göstermektedir [1].

Çek Cumhuriyeti, Macaristan ve Avusturya'da yapılan çalışmalarda, *Ur. unguiculata* türünün WNV endemik alanlarda kışladığı gösterilmiştir. Bu sebeple bu türün kış boyunca korunarak yaz döneminde hastalık döngüsüne katıldığı düşünülmektedir [37]. Yapılan tez çalışmasında Edirne'den toplanıp barkodlanan *Ur. unguiculata* örneklerinde teşhisi tamamlanamamış (undetermined) flavivirüs tespit edilmiş olması bu türün hastalığın yayılmasına olan etkisinin araştırılmasının gerekliliğini ortaya koymuştur.

Yapılan çalışma ile birlikte Suriyeli göçmenlerin kalıcı veya geçici olarak kalabalıklar halinde yerleştikleri bölgelerden toplanan sivrisinek örnekleri analiz edilerek gerek güncel faunistik yapı ve gerekse olası risk durumu hakkında bilgiler edinilmiştir. Morfolojik karakterlerinden yola çıkılarak seçilen örneklerin DNA barkodlama çalışmaları için Türkiye için oluşturulmuş sivrisinek veri bankası [1] örnekleri referans alınmış, tür teşhislerinden emin olunmuş ve üretilen diziler BOLD Systems veri tabanına yüklenerek uluslararası kullanıma açık hale getirilmiştir.

Tür ayrımı gözetilmeksizin tüm bireylerde virüs analizi yapılacak olması ve pozitif sonuç veren havuzların DNA barkodlanması, çalışma bölgesinde hangi virüslerin, hangi türler aracılığıyla sirküle olduğunu ortaya koyarak mücadele ve sürveyans aktiviteleri için faydalı sonuçlar vermesi beklenmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Gunay, F., *Türkiye sivrisinek faunası üzerine DNA barkodlama yöntemiyle moleküler analizler*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2015**.
- [2] Akiner, M. M., Demirci, B., Babuadze, G., Robert, V., Schaffner, F., Spread of the invasive mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in the Black Sea Region increases risk of Chikungunya, Dengue, and Zika outbreaks in Europe, *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10, 1–5, **2016**.
- [3] Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Madon, M., Kaiser, A., *Mosquitoes and Their Control*, Second edition, Springer, **2010**.
- [4] Adams, B., Kapan, D. D., Man bites mosquito: Understanding the contribution of human movement to vector-borne disease dynamics, *PLoS One*, 4, 1-10 **2009**.
- [5] Yavcan, B., On governing the Syrian refugee crisis collectively: the view from Turkey, *Near Futures Online*, **2016**, <http://nearfuturesonline.org/on-governing-the-syrian-refugee-crisis-collectively-the-view-from-turkey/>, (Mayıs, **2017**)
- [6] Sharara, S. L., Kanj, S. S., War and infectious diseases: challenges of the Syrian civil war, *PLoS Pathogens*, 10, e1004438, **2014**.
- [7] Oter, K., Gunay, F., Tuzer, E., Linton, Y. M., Bellini, R., Alten, B., First record of *Stegomyia albopicta* in Turkey determined by active ovitrap surveillance and DNA barcoding, *Vector-Borne Zoonotic Diseases*, 13, 753–761, **2013**.
- [8] Valentini, A., Pompanon, F., Taberlet, P., DNA barcoding for ecologists, *Trends Ecological Evolutionary*, 24, 110–117, **2009**.
- [9] Hebert, P., Cywinska, A., Ball, S., deWaard, J., Biological identifications through DNA barcodes, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Science*, 270, 313–322, **2003**.
- [10] Frézal, L., Leblois, R., Four years of DNA barcoding: Current advances and

- prospects, *Infection Genetics and Evolution*, 8, 727–736, **2008**.
- [11] Mosquito Barcoding Initiative - Connect.BarcodeofLife.net, <http://connect.barcodeoflife.net/group/mosquitobarcoding>, (Mayıs **2017**).
- [12] Tabbaa, D., Seimenis, A., Population displacements as a risk factor for the emergence of epidemics, *Veterinaria Italia*, 49, 19—23, **2013**.
- [13] Unlu, I., Farajollahi, Vectors without borders: imminent arrival, establishment, and public health implications of the Asian Bush (*Aedes japonicus*) and Asian Tiger (*Aedes albopictus*) Mosquitoes in Turkey, *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 40, 23–36, **2012**.
- [14] Anonim, The war on Syrian civilians, *Lancet*, [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(14\)60134-3/fulltext](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(14)60134-3/fulltext), (Mayıs **2017**)
- [15] WHO, WHO warns of increased risk of disease epidemics in Syria and in neighbouring countries as summer approaches, *WHO Press Releases*, **2013** <http://www.emro.who.int/press-releases/2013/disease-epidemics-syria.html>. (Mayıs **2017**)
- [16] Alawieh, A., Musharrafieh, U., Jaber, A., Berry, A., Ghosn, N., Bizri, A., Revisiting leishmaniasis in the time of war: the Syrian conflict and the Lebanese outbreak, *International Journal of Infectious Diseases*, 29, 115–119, **2014**.
- [17] Özkeklikçi, A. Karakuş, M., Özbel, Y., Töz, S., The new situation of cutaneous leishmaniasis after Syrian civil war in Gaziantep city, Southeastern region of Turkey, *Acta Tropica*, 166, 35–38, **2017**.
- [18] Ramsdale, C. D., Haas, E., Some aspects of epidemiology of resurgent malaria in Turkey, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 72, 6, 570–580, **1978**.
- [19] Vazeille, M., Moutailler, S., Coudrier, D., Rousseaux, C., Khun, H., Huerre, M., Thiria, J., Dehecq, J.-S., Fontenille, D., Schuffenecker, I., Despres, P., Failloux, A.-B., Two Chikungunya isolates from the outbreak of La Reunion (Indian Ocean) exhibit different patterns of infection in the mosquito, *Aedes albopictus*, *PLoS One*, 2, 11-15, **2007**.

- [20] Pachler, K., Lebl K., Berer D., Rudolf I., Hubalek, Z., Nowotny, N., Putative new west nile virus lineage in *Uranotaenia unguiculata* mosquitoes, Austria, 2013, *Emerging Infectious Diseases*, 20, 2119–2122, **2014**.
- [21] Kemenesi, G., Dallos, B., Oldal, M., Kutas, A., Foldes, F., Nemeth, V., Reiter, P., Bakonyi, T., Banyai, K., Jakab F., Putative novel lineage of West Nile virus in *Uranotaenia unguiculata* mosquito, Hungary, *Virus Disease*, 25, 500–503, **2014**.
- [22] Eastern equine encephalitis virus associated with *Aedes albopictus* - Florida, 1991., MMWR. Morbidity and Mortality. Weekly Report, 41, 115,121, **1992**.
- [23] Ergunay, K., Gunay, F., Oter, K., Erisoz Kasap, O.,Orsten, S., Akkutay, A. Z.,Erdem, H., Ozkul, A., Alten. B., Arboviral Surveillance of Field-Collected Mosquitoes Reveals Circulation of West Nile Virus Lineage 1 Strains in Eastern Thrace, Turkey, *Vector-Borne Zoonotic Diseases*, 13, 10, 744–752, **2013**.
- [24] Mcintosh, B.M., Mosquitoes as Vectors of Viruses in Southern Africa *South African Family Practice*, **1975**.
- [25] Rosen, L., Shroyer, D. A., Lien, J. C., Transovarial transmission of Japanese encephalitis virus by mosquitoes, *Science*, 199, 909–911, **1978**.
- [26] Mitchell, C. J., Haramis, L. D., Karabatsos, N., Smith, G. C., Starwalt, V. J., Isolation of La Crosse, Cache Valley, and Potosi viruses from *Aedes* mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected at used-tire sites in Illinois during 1994-1995, *Journal of Medical Entomology*, 35, 573–577, **1998**.
- [27] Goddard, L. B., Roth, A. E., Reisen, W. K., Scott, T. W., Vertical transmission of West Nile Virus by three California *Culex* (Diptera: Culicidae) species, *Journal of Medical Entomology*, 40, 743–746, **2003**.
- [28] Flores, F. S., Diaz, L. A., Batallan, G. P., Almiron, W. R., Contigiani, M. S., Vertical transmission of St. Louis encephalitis virus in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Córdoba, Argentina, *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 10, 999–1002, **2010**.
- [29] Balenghien, T., Vazeille, M., Reiter, P., Schaffner, F., Zeller, H., Bicout, D., Evidence of laboratory vector competence of *Culex modestus* for West Nile

- Virus, 23, 233–236, **2007**.
- [30] Orshan, L., Bin, H., Schnur, H., Kaufman, A., Valinsky, A., Shulman, L., Weiss, L., Mendelson, E., Pener, H., Mosquito vectors of West Nile Fever in Israel, *Vector-Borne Diseases, Surveillance, Prevention*, 45, 939–947, **2008**.
- [31] Hurlbut, H. S., West Nile Virus infection in arthropods, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 5, 76–85, **1956**.
- [32] Samina, I., Margalit, J., Peleg, J., Isolation of viruses from mosquitoes of the Negev, Israel, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 80, 471–472, **1986**.
- [33] Miller, B. R., Mitchell, C. J., Ballinger, M. E., Replication, tissue tropisms and transmission of yellow fever virus in *Aedes albopictus*, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 83, 252–255, **1989**.
- [34] Buchatsky, L. P., An iridovirus from larvae of *Culiseta annulata* and *Culex territans*, *Acta Virologica*, 21, 85-86, **1977**.
- [35] Takashima, I., Hashimoto, N., Matsumoto, K., Multiplication of several arboviruses isolated in Japan in *Culex tritaeniorhynchus*, *Microbiology and Immunology*, 27, 561–563, **1983**.
- [36] Rezza, G., Nicoletti, L., Angelini, R., Romi, R., Finarelli, A. C., Panning, M., Cordioli, P., Fortuna, C., Boros, S., Magurano, F., Silvi, G., Angelini, P., Dottori, M., Ciufolini, M. G., Majori, G. C., Cassone, A., Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region, *Lancet*, 370, 1840–1846, **2007**.
- [37] Rudolf, I., Sebesta, O., Strakova, P., Betasova, L., Blazejova, H., Venclikova, K., Seidel, B., Toth, S., Hubalek, Z., Schaffner, F., Overwintering of *Uranotaenia Unguiculata* Adult Females in Central Europe: A Possible Way of Persistence of the Putative New Lineage of West Nile Virus?, *Journal of the American Mosquito Control Association*, 31, 4, 364–365, **2015**.
- [38] Morchón, R., Carretón, E., González-Miguel, J., Mellado-Hernández, I., Heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) and their vectors in Europe - new distribution trends, *Frontiers in Physiology*, 3, 1–11, **2012**.

- [39] Chouin-Carneiro, T., Vega-Rua, A., Vazeille, M., Yebakima, A., Girod, R., Goindin, D., Dupont-Rouzeyrol, M., Lourenco-de-Oliveira, R., Failloux, A.-B., Differential susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika Virus, *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10,1-11, **2016**.
- [40] Azari-Hamidian, S., Yaghoobi-Ershadi, M. R., Javadian, E., Abai, M. R., Mobedi, I., Linton, Y.-M., Harbach, R. E., Distribution and ecology of mosquitoes in a focus of dirofilariasis in northwestern Iran, with the first finding of filarial larvae in naturally infected local mosquitoes, *Medical and Veterinary Entomology*, 23, 111–121, **2009**.
- [41] Fontenille, D., Traore-Lamizana, M., Diallo, M., Thonnon, J., Digoutte, P., Zeller, H. G., New vectors of Rift Valley fever in West Africa, *Emerging Infectious Diseases*, 4, 289–293, **1998**.
- [42] Juliano, S. A., Philip Lounibos, L., Ecology of invasive mosquitoes: Effects on resident species and on human health, *Ecology Letters*, 8, 558–574, **2005**.
- [43] Kuno, G., Chang, G. J., Tsuchiya, K. R., Karabatsos, N., Cropp, C. B., Phylogeny of the genus Flavivirus, *Journal of Virology*, 72, 73–83, **1998**.
- [44] Bugge, B., Hambach, U., Glaser, B., Gerasimenko, N., Markovic, S., Glaser, I., Zoller, L., Stratigraphy, and spatial and temporal paleoclimatic trends in Southeastern/Eastern European loess–paleosol sequences, *Quaternary International*, 196, 86–106, **2009**.
- [45] Ergunay, K., Whitehouse, C. A., Ozkul, A., Current status of human arboviral diseases in Turkey., *Vector Borne Zoonotic Diseases*, 11, **2011**.
- [46] Ergunay, K., Sayiner, A. A., Litzba, N., Lederer, S., C., Kreher, P., Us, D., Niedrig, M., Ozkul, A., Hascelik, G., Multicentre evaluation of central nervous system infections due to Flavi and Phleboviruses in Turkey, *Journal of Infection*, 65, 343–349, **2012**.
- [47] Kalaycioglu, H., Korukluoglu, G., Ozkul, A., Oncul, O., Tosun, S., Karabay, O., Gozalan, A., Uyar, Y., Caglayik, D. Y., Atasoylu, G., Altas, A. B., Yolbakan, S., Ozden, T. N., Bayrakdar, F., Sezak., N., Pelitli, T.S., Kurtcebe, Z. O., Aydin, E., Ertek, M., *Emergence of West Nile virus infections in*

humans in Turkey, 2010 to 2011, Surveillance and Outbreak Reports, Turkey, **2012**.

- [48] Hubalek, Z., Savage, H. M., Halouzka, J., Juricova, Z., Sanogo, Y. O., Lusk, S., West Nile Virus Investigations in South Moravia, Czechland, *Viral Immunology*, 13, 427–433, **2000**.
- [49] Hayes, C. G., Baker, R. H., Baqar, S., Ahmed, T., Genetic variation for West Nile virus susceptibility in *Culex tritaeniorhynchus*, *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 33, 715-724, **1984**.
- [50] Ozbilgin, A. S., Topluoglu, S., Es, S., Islek, E., Mollahaliloglu, S., Erkok, Y., Malaria in Turkey: Successful control and strategies for achieving elimination, *Acta Tropica*, 120, 15–23, **2011**.
- [51] Kasap, H., Kasap, M., Demirhan, O., Alptekin, D., Development of *Plasmodium vivax* in *Anopheles superpictus* under experimental conditions, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 37, 241–245, **1987**.
- [52] Jetten, T.H., Takken, W., Anophelism without malaria in Europe: a review of the ecology and distribution of the genus *Anopheles* in Europe, *Wageningen Agricultural University Press*, 5, 1-69, **1994**.
- [53] Zahar, A. R., Review of the ecology of malaria vectors in the WHO Eastern Mediterranean Region, *Bulletin of the World Health Organization*, 50, 427–440, **1974**.
- [54] Yurttas, H., Alten, B., Geographic differentiation of life table attributes among *Anopheles sacharovi* (Diptera: Culicidae) populations in Turkey, *Journal of vector ecology : journal of the Society for Vector Ecology*, 31, 275–284, **2006**.
- [55] Şimşek, F. M., Şanlıurfa (Siverek)'da sıtma vektörü *Anopheles (Anopheles) claviger* (Diptera: Culicidae)'in ekolojik özellikleri üzerine araştırmalar, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 30, 115–120, **2006**.
- [56] Schaffner, F., Thiery, I., Kaufmann, C., Zettor, A., Lengeler, C., Mathis, A., Bourgouin, C., *Anopheles plumbeus* (Diptera: Culicidae) in Europe: a mere nuisance mosquito or potential malaria vector?, *Malaria Journal*, 11, 393-400, **2012**.

- [57] Blashki, G., McMichael, T., Karoly, D. J., Climate change and primary health care intervention framework, *Australian family physician*, 15, 986-995, **2009**.
- [58] Knowlton, N., Sibling Species in the Sea, *Annual Review of Ecology Systematics*, 24, 189–216, **1993**.
- [59] Ahrens, D., Monaghan, M. T., Vogler, A. P., DNA-based taxonomy for associating adults and larvae in multi-species assemblages of chafers (Coleoptera: Scarabaeidae), *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44, 436–449, **2007**.
- [60] Gunay, F., Alten, B., Simsek, F. M., Aldemir, A., Linton, Y.-M., Barcoding Turkish *Culex* mosquitoes to facilitate arbovirus vector incrimination studies reveals hidden diversity and new potential vectors, *Acta Tropica*, 143, 112–120, **2015**.
- [61] Foley, D. H., Linton, Y.-M., Ruiz-Lopez, J., Conn, J. E., Sallum, M., Povoia, M. M., Bergo, E. S., Oliveira, T., Sucupira, I., Wilkerson, R. C., Geographic distribution, evolution, and disease importance of species within the Neotropical *Anopheles albitarsis* Group (Diptera, Culicidae), *Journal of Vector Ecology*, 39, 168–181, **2014**.
- [62] Bennett, K. L., Shija, F., Linton, Y.-M., Misinzo, G., Kaddumukasa, M., Djouaka, R., Anyaele, O., Harris, A., Irish, S., Hlaing, T., Prakash, A., Lutwama, J., Walton, C., Historical environmental change in Africa drives divergence and admixture of *Aedes aegypti* mosquitoes: a precursor to successful worldwide colonization?, *Molecular Ecology*, 25, 4337–4354, **2016**.
- [63] Kimura, M., A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences, *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111–120, **1980**.
- [64] Saitou, N., Nei, M., The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees, *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406–425, **1987**.
- [65] Mitchell, L., Alten, B., Ergunay, K., Hijjawi, N., Linton, Y.-M., Syria Project | Project poster, <http://www.syriaproject.info/project-poster> (Mayis **2017**).

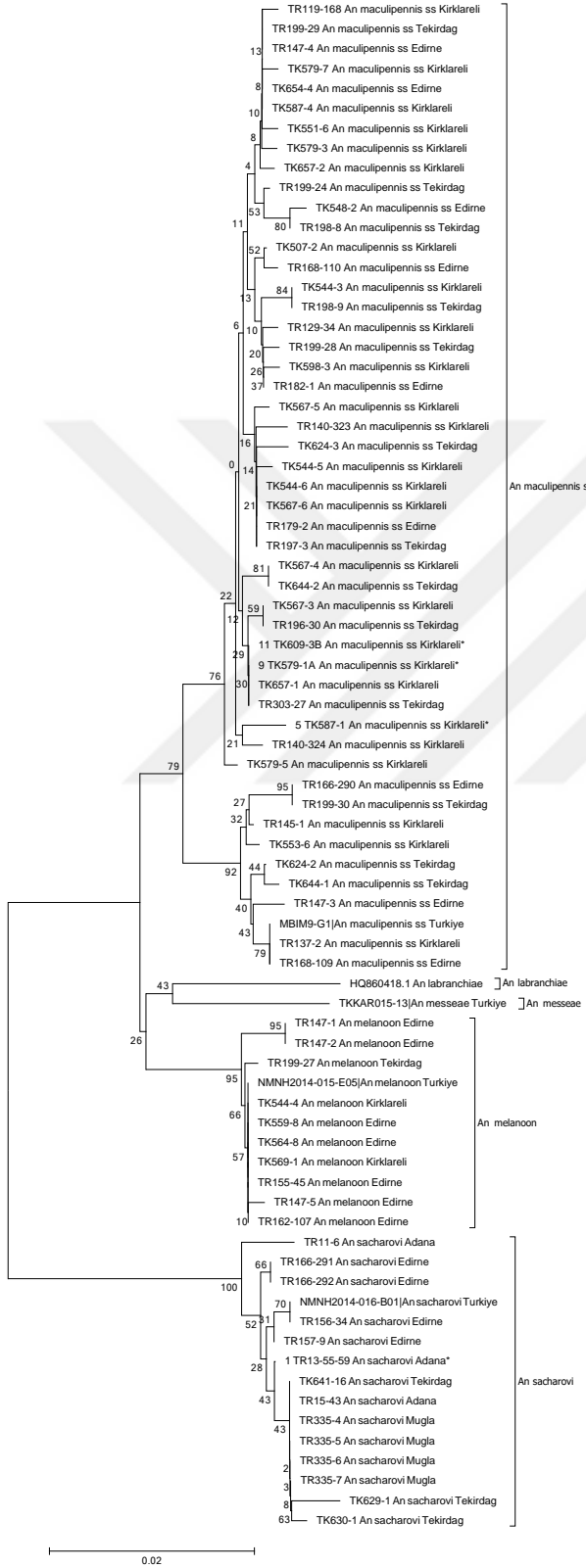
- [66] Darsie, R. F., Samanidou-Voyadjoglou, A., Keys for the identification of the mosquitoes of Greece, *Journal of the American Mosquito Control Association*, 13, 247–254, **1997**.
- [67] Samanidou, A., Harbach, R. E., *Culex (Culex) tritaniorhynchus* Giles, a newly discovered potential vector of arboviruses in Greece, *Journal of the European Mosquito Control Association*, 16, 15–17, **2003**.
- [68] Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., DNA primers for amplification of mitochondrial Cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates, *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294-299, **1994**.
- [69] Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., MEGA6 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0, *Molecular Biology and Evolution*, 30, 2725–2729, **2013**.
- [70] Clary, D. O., Wolstenholme, D. R., The mitochondrial DNA molecule of *Drosophila yakuba*: Nucleotide sequence, gene organization, and genetic code, *Journal of Molecular Evolution*, 22, 252–271, **1985**.
- [71] Felsenstein, J., Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap, *Evolution*, 39, 783–791, **2009**.
- [72] Alten, B., Speciation and dispersion hypotheses of Phlebotomine Sandflies of the subgenus *Paraphlebotomus* (Diptera:Psychodidae): the case in Turkey, *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 38, 229–246, **2010**.
- [73] Lounibos, L. P., Invasions by insect vectors of human disease, *Annual Review of Entomology*, 47, 233–266, **2002**.
- [74] Reiter, P., *Aedes albopictus* and the world trade in used tires, 1988-1995: the shape of things to come?, *Journal of the American Mosquito Control Association*, 14, 83–94, **1998**.
- [75] Alten, B., Kasap, O. E., Belen, A., Alkan, C., Gunay, F., Dvorak, V., Ergunay, K., Aydin, S., Votypka, J., Banuls, A. L., Charrel, R., Ozkul, A., Ozbel, Y., Volf, P., Phlebotomine sand flies on the crossroads of Anatolia: transmitted diseases and vectors, *6th International Congress SOVE, Amerika*, **2013**.

- [76] Giatropoulos, A. K., Michaelakis, A. N., Koliopoulos, G. T., Pontikakos, C. M., Records of *Aedes albopictus* and *Aedes cretinus* (Diptera : Culicidae) in Greece from 2009 to 2011, *Hellenic Plant Protection Journal*, 5, 49–56, **2012**.
- [77] Darsie, R. F., Description of the pupa of *Aedes cretinus edwards*, a key to the pupa of the albopictus subgroup, subgenus stegomyia theobald genus *Aedes meigen* and characters to separate the European stegomyia species (Diptera: Culicidae), *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 101, 614–618, **1999**.
- [78] Ergunay, K., Gunay, F., Sarikaya, Y., Kar, S., Orsten, S., Oter, K., Litzba, N., Domingo, C., Erisoz Kasap, O., Ozkul, A., Mitchell, L., Nitsche, A., Alten, B., Linton, Y.-M., Active biosurveillance reveals first records of Chikungunya virus from Turkey: implications for public health in Turkey and Eastern Europe, 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) O149, **2016**.
- [79] Gunay, F., Picard, M., Robert, V., MediLabSecure : MosKeyTool, <http://medilabsecure.com/moskeytool> (Mayıs **2017**).
- [80] Failloux, A.-B., Bouttaour, A., Faraj, C., Gunay, F., Haddad, N., Harrat, Z., Janecheska; E., Kanani, K., Kenawy, M., Kota, M., Pajovic, I., Paronyan, L., Petric, D., Sarih, M., Sawalha, S., Shaibi, T., Sherifi, K., Sulesco, T., Velo, E., Gaayeb, L., Victoir, K., Robert, V., Surveillance of Arthropod-Borne Viruses and Their Vectors in the Mediterranean and Black Sea Regions Within the MediLabSecure Network, *Current Tropical Medicine Reports*, 4, 27–39, **2017**.
- [81] Ergunay, K., Gunay, F., Kasap, O., Oter, K., Gargari, S., Karaoglu, T., Tezcan, S., Cabalar, M., Yildirim, Y., Emekdas, G., Alten, B., Ozkul, A., Serological, Molecular and Entomological Surveillance Demonstrates Widespread Circulation of West Nile Virus in Turkey, *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8, 1–10, **2014**.
- [82] Bagheri, M., Terenius, O., Oshaghi, M. A., Motazakker, M., Asgari, S., Dabiri, F., Vatandoost, H., Bavani, M. M., Chavshin, A. R., West Nile Virus in Mosquitoes of Iranian Wetlands, *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 15,

- 750–754, **2015**.
- [83] Muir, D. A., Keilay, M., Anopheles claviger as a Malaria Vector in Syria, *WHO Malaria*, 72–757, **1972**.
- [84] Postiglione, M., Tabanlı, S., Ramsdale, C. D., The Anopheles of Turkey,” *Rivista di Parassitologia*, 33, 219–231, **1972**.
- [85] Buxton, P., The British Mosquitoes, *Nature*, 142, 773–774, **1938**.
- [86] Ondrejicka, D. A., Locke, S. A., Morey, K., Borisenko, A. V., Hanner, R. H., Status and prospects of DNA barcoding in medically important parasites and vectors, *Trends in Parasitology*, 30, 582–591, **2014**.
- [87] Tugluoğlu, F., Türkiye’de sıtma mücadelesi (1924-1950), *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 32, 351–359, **2008**.
- [88] Vinogradova, Y., Blood-sucking mosquitoes of the *Culex pipiens* s.l. complex (Diptera: Culicidae) their practical importance, taxonomy and biology, *Zoological Institute, BSSR Academy of Sciences*, 362, 131-140, **1936**.
- [89] Shaikevich, E. V., PCR-RFLP of the COI gene reliably differentiates *Cx. pipiens*, *Cx. pipiens* f. *molestus* and *Cx. torrentium* of the Pipiens Complex, *Journal of the European Mosquito Control Association*, 23, 25–30, **2007**.
- [90] Ozer, N., Ergunay, K., Simsek, F. M., Kaynas, S., Alten, B., Caglar, S. S., Ustacelebi, S., West Nile Virus studies in the Sanliurfa Province of Turkey, *Journal of Vector Ecology*, 32, 202–206, **2007**.
- [91] Ergünay, K., Litzba, N., Brinkmann, A., Gunay, F., Kar, S., Oter, K., Orsten, S., Sarikaya, Y., Alten, B., Nitsche, A., Linton, Y.-M., Isolation and genomic characterization of *Culex theileri* flaviviruses in field-collected mosquitoes from Turkey, *Infection Genetics and Evolution*, 46, 138–147, **2016**.

EKLER

EK 1. *Anopheles maculipennis* tür kompleksi üyelerine ait Neighbor Joining ağacı



Ek 2. *Culex pipiens* tür kompleksi üyelerine ait Neighbor Joining ağacı



ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Yasemen Sarıkaya
Doğum Yeri : Yenimahalle - ANKARA
Medeni Hali : Bekar
E-posta : yasemensarikaya@gmail.com
Adresi : İlkyerleşim Mahallesi 1901. Cadde Elele Sitesi 1999. Sokak
No:12 Batıkent/ANKARA

Eğitim

Lisans : Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans :

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce, YökDil: 73,75

İş Deneyimi

Deneyim Alanları

Kum sineği ve sivrisinek laboratuvar kolonisi oluşturma ve yetiştirme çalışmaları,
Sivrisinek tür teşhisi,
Moleküler laboratuvar çalışmaları,
Kum sineği ve sivrisinek türlerinde insektisit dayanıklılık testleri.

Projeler ve Bütçesi

“Insect Disease Vector Surveillance and Arbovirus Testing along Syrian Refugee Routes in Turkey, Lebanon and Jordan”*

*Global Emerging Infection Surveillance (GEIS) tarafından desteklenmekte ve Smithsonian Institution ile ortak gerçekleştirilmektedir.

Yayımlar

- 1) Gunay, F., Karakus, M., Oguz, G., Dogan, M., Karakaya, Y., Ergan, G., Kaynas, S., Erisoz Kasap, O., Ozbel, Y., Alten, B., Evaluation of the efficacy

- of Olyset® Plus in a village-based cohort study in the Cukurova Plain, Turkey, in an area of hyperendemic Cutaneous Leishmaniasis, *Journal of Vector Ecology*, 39, 395-405, **2014**.
- 2) Ergunay, K., Litzba, N., Brinkmann, A., Gunay, F., Kar, S., Oter, K., Orsten, S., Sarikaya, Y., Alten, B., Nitsche, A., Linton, Y.-M., Isolation and genomic characterization of *Culex theileri* flaviviruses in field-collected mosquitoes from Turkey, *Infection Genetics and Evolution*, 46, 138–147, **2016**.
 - 3) Karakus, M., Sarikaya, Y., Oguz, G., Dogan, M., Ergunay, G., Gunay, F., Erisoz Kasap, O., Ozbel, Y., Alten, B., Assessment of diagnostic doses for widely used synthetic pyrethroids (Deltamethrin & Permethrin) in an endemic focus of leishmaniasis in Turkey, *Parasites & Vectors*, 9, 2, 256, **2016**.
 - 4) Ergunay, K., Brinkmann, A., Litzba, N., Gunay, F., Kar, S., Oter, K., Orsten, S., Sarikaya, Y., Alten, B., Nitsche, A., Linton, Y.-M., A novel rhabdovirus, related to Merida virus, in field-collected mosquitoes from Anatolia and Thrace, *Archives of Virology*, 1-9, **2017**.
 - 5) Ergunay, K., Litzba, N., Brinkmann, A., Gunay, F., Sarikaya, Y., Kar, S., Orsten, S., Oter, K., Domingo, C., Erisoz Kasap, O., Ozkul, A., Mitchell, L., Nitsche, A., Alten, B., Linton, Y.-M., Co-circulation of West Nile virus and distinct insect-specific flaviviruses in Turkey, *Parasites & Vectors*, 10, 149-163, **2017**.

Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

- 1) Sarikaya, Y., Ergunay, K., Gunay, F., Kar, S., Oter, K., Orsten, S., Erisöz Kasap, O., Mitchell, L., Linton, Y.-M., Alten, B., Mosquito surveillance around Syrian and European borders of Turkey; DNA barcoding and virus screening, *20th ESOVE Meeting, Lisbon*, **2016**.
- 2) Ergunay, K., Gunay, F., Sarikaya, Y., Kar, S., Orsten, S., Oter, K., Litzba, N., Domingo, C., Erisoz Kasap, O., Ozkul, A., Mitchell, L., Nitsche, A., Alten, B., Linton, Y.-M., Active biosurveillance reveals first records of Chikungunya virus from Turkey: implications for public health in Turkey and Eastern Europe, *26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) O149*, **2016**.



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 7/6/2017

Tez Başlığı / Konusu: TÜRKİYE-SURİYE SINIRINDA YER ALAN MÜLTECİ KAMPLARI ÇEVRESİNDE VE MÜLTECİ GÖÇ YOLLARI ÜZERİNDEKİ SİVRİSİNEK (DIPTERA: CULICIDAE) TÜRLERİNİN TESPİT EDİLMESİ

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 34 sayfalık kısmına ilişkin, 24/5/2017 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %4 'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar dâhil
- 3- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

16.6.2017

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Yasemen Sarıkaya
Öğrenci No: N13128782
Anabilim Dalı: Biyoloji
Programı: Ekoloji
Statüsü: Y.Lisans Doktora Bütünleşik Dr.

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

Prof. Dr. Salih Bülent ALTEN

(Unvan, Ad Soyad, İmza)