

Kayseri Yöresinden Toplanmış *Culex pipiens* Komplekse ait Sivrisinek (Diptera: Culicidae) Örneklerinin Kan Beslenme İdentifikasyonu

Blood Meal Identification of the Mosquito (Diptera: Culicidae) Specimens Belong to *Culex pipiens* Complex that were Collected from Kayseri Province

Seval Korkmaz, Alparslan Yıldırım, Önder Düzlü, Arif Çiloğlu, Zuhâl Önder, Abdullah İnci

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

ÖZ

Amaç: Bu çalışma, Kayseri yöresinden toplanmış *Culex pipiens* tür kompleksine ait örneklerin kan beslenmesinde konak tercihlerinin belirlenmesi amacıyla planlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmada toplam 1284 dişi sivrisinek morfolojik olarak incelenmiş ve 376'sı (%28,4) *Cx. pipiens* komplekste belirlenerek bireysel genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. Genomik DNA izolatlarının kanatlı ve memeli mitochondrial cytochrome b (mt-cytb) gen bölgesini spesifik olarak amplifiye eden primerler ile Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) analizleri gerçekleştirilmiştir. Konak kanı yönünden pozitif belirlenen örnekler için izolatların mt-cytb gen bölgesi ampikonları konak türü tayini için klonlanmış ve elde edilen plazmidler sekans analizine tabii tutulmuştur.

Bulgular: Toplam 376 örneğin 148'i (%39,4) kanatlı ve/veya memeli kanı yönünden pozitif bulunmuştur. Pozitif belirlenen örneklerin toplam 43'ü yalnızca memeli, 98'i yalnızca kanatlı, 7'si ise hem kanatlı hem de memeli kanı yönünden pozitif belirlenmiştir. *Cx. pipiens* komplekse ait örneklerin kan beslenmesinde kanatlı konak tercihi önemli bulunmuştur. Kanatlı kanı pozitif 15 örnekte 9'unun *Passeriformes*, 3'ünün *Accipitriformes*, 2'sinin *Columbiformes* ve birinin de *Strigiformes* takımlarında yer alan kanatlı türlerinden kan emdiği belirlenmiştir. Memeli kanı pozitif 15 örneğin ise 6'sı insan, 4'ü sığır, 3'ü koyun, 2'si de köpek kanı yönünden pozitif olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Bu çalışma ile Türkiye'de ilk kez *Cx. pipiens* tür kompleksine ait sivrisinek örneklerinin kan beslenmesinde konak tercihleri üzerine moleküler düzeyde veriler elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Culex pipiens* kompleksi, kan beslenmesi, kanatlı, memeli, Kayseri

Geliş Tarihi: 23.05.2016

Kabul Tarihi: 11.09.2016

ABSTRACT

Objective: This study aimed to determine the host preferences in blood meal of specimens belonging to *Culex pipiens* complex.

Methods: A total of 1284 female mosquitos were morphologically examined, and genomic DNA isolations were individually performed on 376 (28.4%) specimens that were determined to be *Cx. pipiens* complex. PCR was performed with primers to specifically amplify the avian and mammalian mitochondrial cytochrome b (mt-cytb) gene region. Amplicons were cloned, and the obtained plasmids were sequenced to determine host species.

Results: Of 376 specimens, 148 (39.4%) were positive for the avian and/or mammalian blood meal. Among the positive specimens, 43, 98, and seven were determined to be positive for only mammalian, avian, and both avian and mammalian blood, respectively. Avian host preference in blood meal of the specimens belonging to *Cx. pipiens* was found to be significant. Of 15 avian blood positive isolates, nine, three, two, and one were designated as blood meal from avian species in *Passeriformes*, *Accipitriformes*, *Columbiformes*, and *Strigiformes* orders, respectively. While six, four, three, and two out of 15 mammalian blood-positive specimens were found to be positive for human, cattle, sheep, and dog blood, respectively.

Conclusion: Molecular data regarding the host preferences of the *Cx. pipiens* species complex in blood meal were revealed for the first time in Turkey with this study.

Keywords: *Culex pipiens* complex, blood meal, avian, mammalian, Kayseri

Received: 23.05.2016

Accepted: 11.09.2016

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Alparslan Yıldırım E.posta: yildirima@erciyes.edu.tr

DOI: 10.5152/tpd.2016.4882

©Telif hakkı 2016 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

GİRİŞ

Diptera dizisi Nematocera dizi bölümüne bağlı *Culicidae* ailesi önemli bir yer tutmakta ve bu ailede 3500'ü aşkın sivrisinek türü bulunmaktadır. *Culicidae* ailesinde yer alan *Culex* soyu en geniş gruplardan birini oluşturmaktadır ve 26 soy altında 768 türü içermektedir (1). Bu soy içerisinde *Culex pipiens* komplekste yer alan sivrisinekler tüm dünyada yayılış göstermekte olup birçok önemli hastalığın naklinde potansiyel vektörlük yapmaktadırlar (2). Günümüzde bu kompleks içinde birçok tür, alt tür ve formların varlığı gösterilmiş olup bunların çoğunun West Nile virus ve Rift Valley Fever virus gibi arboviruslara, filarial nematodlara ve kanatlı *Plasmodium* türlerine vektörlük yaptıkları ortaya konmuştur (3). Bunun yanında *Culex* soyunun, tarif edilen 750'den fazla türüyle birlikte yüksek medikal ve veteriner öneme sahip olduğu bilinmektedir (4). *Culex* soyu içerisinde *Culex* alt soyuna bağlı Avrupa'da 7 türün varlığı bilinmekte olup, bunların arasında *Cx. pipiens* en yaygın holarktık tür olarak nitelenmektedir (4, 5). Palaearktik biyotipleri *Cx. pipiens pipiens* ve *Cx. pipiens molestus* ile birlikte *Cx. pipiens*'in yer aldığı *Cx. pipiens* kompleks ayrıca Avrupa'da görülmeyen *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. australicus* ve *Cx. globocoxitus* türlerini de kapsamaktadır (3).

Vektörlerin kan beslenmesinde konak tercihleri viral, bakteriyel ve paraziter birçok vektör kaynaklı hastalığın bulaşma dinamikleri açısından kritik öneme sahip olup kontrol stratejilerinin geliştirilmesi için oldukça önemli bilgiler sağlamaktadır. Bunun yanında vektörlerin konakçı tercihlerinin saptanması, hastalık etkenlerinin biyolojisi ve ekolojisini çözebilmek ve hastalık yayılışı hakkında yorum yapabilmek için de gereklidir (6, 7). Türkiye'de günümüze kadar sivrisineklerin konak tercihleri üzerine yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte *Cx. pipiens* kompleks üzerine yapılan çalışmaların genellikle ergin ve larva dönemleri bazında morfolojik identifikasyonlara dayalı prevalans çalışmaları tarzında olduğu görülmektedir. Bu çalışmaların çoğunda *Cx. pipiens* kompleks tek isimle *Cx. pipiens* türü olarak ele alınmış ve İstanbul, Adana, Ankara, Antalya, Muğla, Şanlıurfa, Kayseri, Iğdır ve Kars, Manisa, yörelerinde farklı oranlarda dağılım gösterdikleri kaydedilmiştir (8-21). Bunun yanında yine *Cx. pipiens* kompleks nesillerinin tularemi, kanatlı sıtması, *D. immitis*, ve Batı Nil Virüsü gibi patojenler için vektörlük potansiyelleri ve *Wolbachia* endosimbiontunun araştırılması üzerine moleküler düzeyde çeşitli araştırmalar yapılmıştır (16, 17 22-24).

Bu çalışmada, Kayseri yöresinde çeşitli odaklardan toplanmış *Cx. pipiens* komplekse ait dişi sivrisinek örneklerinin kan beslenmesinde konak tercihleri kanatlı ve memeli kanı bazında moleküler olarak araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar ile araştırma yöresinde *Cx. pipiens* kompleks üyelerinin kanatlı veya memeli konak açısından oluşturdukları risk potansiyeli hakkında veriler elde edilmiştir. Ayrıca konak kanı pozitif örneklerden seçilen bazı izolatlar klonlama ve plazmid pürifikasyonu sonrası sekans analizlerine tabii tutulmuş ve konak türü tayini yapılmıştır.

YÖNTEMLER

Araştırma Sahası ve *Cx. pipiens* Kompleks Örneklerinin İdentifikasyonu

Bu çalışmanın materyalini Kayseri yöresinden 2008 ve 2009 sezonlarında 46 farklı odaktan toplanmış ve -20°C'de muhafaza

edilmiş olan toplam 1284 dişi sivrisinek örneği oluşturmuştur. Çalışma materyalini insektler oluşturduğu için etik komite onayına ve hasta onamına gerek duyulmamıştır. Bilgisayar destekli stereo mikroskop altında, çeşitli tür ayırımına ilişkin kaynaklar ve elektronik ortamda yazılı Avrupa Sivrisinekleri Tür Ayırım Anahtarı kullanılarak dişi *Cx. pipiens* kompleks türlerine ait örnekler identifiye edilerek ayrılmıştır (25-28).

Genomik DNA İzolasyonu

Cx. pipiens komplekse ait dişi sivrisinek örneklerinden, ön homojenizasyon sonrası genomik DNA (gDNA) izolasyonu, bireysel olarak gDNA ekstraksiyon kitleri (AxyPrep™ Multisource Genomic Miniprep DNA; Corning, Tewksbury, USA; GeneJET Genomic DNA Purification Kit; Thermo Fisher Scientific, California, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Final elüsyon 50µl olarak ayarlanmıştır. Elde edilen gDNA konsantrasyonları moleküler analizlerde optimum DNA konsantrasyonunun ayarlanabilmesi için nanodrop spektrofotometre (ASP-3700; ACT Gene, New Jersey, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak ölçülmüştür. gDNA ekstraktları kullanılabilecek şekilde -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Cx. pipiens Kompleks Mitochondrial Cytochrome Oxidase I (mt-COI) ile Kanatlı ve Memeli Mitochondrial Cytochrome b (mt-cytb) Genlerinin Amplifikasyonu

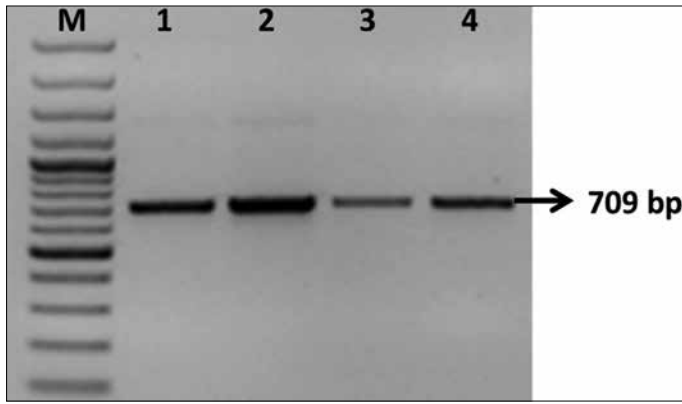
Tür teşhislerinin sekans analizleriyle moleküler konfirmasyonu için bireysel örnekler için gDNA izolatları mt-COI gen bölgesinin 709 bp gen fragmentini amplifiye eden LCO1490 ve HCO2198 (29) primerleriyle PCR analizine tabii tutulmuştur.

Ergin dişi *Cx. pipiens* örneklerinin kan beslenme identifikasyonları için elde edilen gDNA izolatları kanatlı ve memeli mt-cytb gen bölgesini parsiyel olarak amplifiye eden sırasıyla Avian-3 ve Avian-8 ile Mammalian-1 ve Mammalian-2 primerleriyle PCR'da analiz edilmiştir (30).

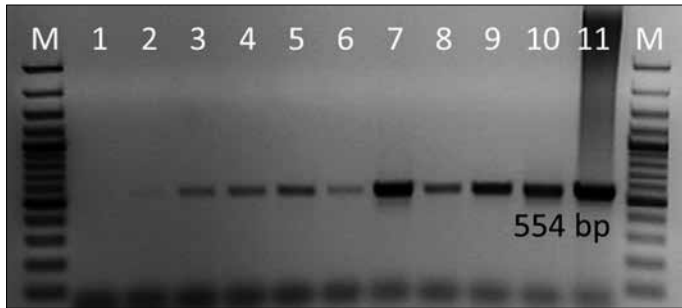
Polimeraz Zincir Reaksiyonu analizlerinin geçerliliğinin ve herhangi bir kontaminasyonun olup olmadığının test edilmesi amacıyla her analizde pozitif kontrol olarak referans gDNA, kanatlı (şahin, tavuk) ve memeli (sığır, koyun, at, köpek) kanlarından izole edilmiş gDNA'lar, negatif kontrol olarak ise sterilize edilmiş deiyonize su kullanılmıştır. Amplifikasyonlar sonunda elde edilen PCR ürünleri (10 µL) %1,5'lük agaroz jelde elektroforeze tabii tutularak, CLP Jel Dökümantasyon Sistemi ve Gene Snap from Syngene analiz programı (UVP INC, Upland, California, Amerika Birleşik Devletleri) ile görüntülenip analiz edilmiştir.

Mt-COI ve Mt-cytb Gen Bölgelerinin Sekans Analizleri

Tür identifikasyonlarının moleküler konfirmasyonu için iki izolata ait mt-COI gen bölgesi ampikonları ile kanatlı ve/veya memeli kanı yönünden pozitif belirlenen ve uygun konsantrasyonda olan izolatlardan seçilen mt-cytb gen bölgesi ampikonları jel pürifiye (High Pure PCR Product Purification Kit; Roche, Mannheim, Almanya) edilmiştir. Konak kanı pozitif izolatlar için jel pürifiye ampikonları, pJET1.2/blunt Cloning Vector'e (Thermo Scientific, California, Amerika Birleşik Devletleri) ligasyonları sonrası CloneJET PCR Cloning Kit (Thermo Scientific, California, Amerika Birleşik Devletleri) ile One Shot® TOP10 Chemically Competent *E. coli* (Invitrogen, California, Amerika Birleşik Devletleri) hücrelerine



Şekil 1. Sekans analizine tabii tutulan *Cx. pipiens* izolatlarının parsiyel mt-COI gen bölgesine göre jel pürifikasyonu sonrası agaroz jel üzerinde görünüşleri M: Marker (100bp); 1,2: I. izolat; 3, 4: II. izolat



Şekil 2. Ergin dişi *Cx. pipiens* örneklerinde kanatlı mt-cyt b gen bölgesini amplifiye eden spesifik primerler ile amplifikasyon sonucu elde edilen bazı ampliconların jel elektroforezde görünümü. M: Marker; 1-10: Pozitif örnekler, 11: Pozitif kontrol (Kanatlı DNA'sı)



Şekil 3. Ergin dişi *Cx. pipiens* örneklerinde memeli mt-cyt b gen bölgesini amplifiye eden spesifik primerler ile amplifikasyon sonucunun jel elektroforezde görünümü. M: Marker; 1, 3-11, 14, 15: Pozitif örnekler, 16: Pozitif kontrol (sığırcı DNA'sı)

Tablo 1. Bireysel olarak incelenen ergin dişi *Cx. pipiens* örneklerinin memeli ve kanatlı kanı yönünden pozitiflikleri

İncelenen örnek sayısı	Konak kanı yönünden pozitiflik							
	Kanatlı		Memeli		Kanatlı+ Memeli		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
376	98	26,1	43	11,4	7	1,9	148	39,4

transforme edilerek klonlanmıştır. Transforme hücrelerden plazmid pürifikasyonu GeneJET Plazmid Miniprep Kit (Thermo Fisher Scientific, California, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Mt-COI gen bölgesi ampliconları PCR primerleri ile hedef mt-cytb gen bölgesini ihtiva eden plazmid DNA'lar pJET1.2 forward ve reverse primerleri (Thermo Scientific, California, Amerika Birleşik Devletleri) ile çift yönlü olarak sekanslanmıştır. Çift yönlü DNA dizisi belirlenen plazmidlere ait kromotogramlar dikkatlice analiz edildikten sonra Geneious 8.1.4 (31) yazılımı ile forward ve reverse dizilimlerin ikili hizalamaları yapılarak, vektör DNA'sı ile kıyaslanmış, insert olmuş hedef gen bölgesi belirlenmiş (klonlanan izolatlar için) ve izolatlar için final dizilimler elde edilmiştir. Elde edilen sekansların blastn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) veri tabanı üzerinde analizleri yapıldıktan sonra GenBank'ta mevcut homolog izolatlar için ilgili gen bölgesi sekanslarıyla Geneious 8.1.4 (31) yazılımı üzerinden hizalamaları yapılarak karakterizasyonları sağlanmıştır.

İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS 15,0 (SPSS Inc.; Chicago, IL, ABD) paket programı ile gerçekleştirilmiştir. Ergin dişi *Cx. pipiens* kompleks örneklerinin kan beslenmesinde konak tercihlerinin istatistiksel analizinde Pearson's Chi Square testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmada identifikasyona tabii tutulan toplam 1284 ergin dişi sivrisinekten 376'sının (%29,3) *Cx. pipiens* komplekse ait oldukları teşhis edilmiştir. Mt-COI genini parsiyel olarak amplifiye eden primerler ile PCR sonucu pozitif belirlenen ve uygun konsantrasyonda olan iki izolatın jel pürifikasyonu sonrası sekanslanması sonucu elde edilen nükleotid dizilerinin blastn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) analizleriyle *Cx. pipiens* komplekse ait oldukları konfirme edilmiş ve ilgili izolatlar (TrERUCxpip01 ve TrERUCxpip02) KJ188203 ve KJ188204 aksesyon numaralarıyla GenBank veri tabanına kaydedilmiştir (Şekil 1).

Ergin dişi *Cx. pipiens* örneklerinden bireysel olarak elde edilen gDNA izolatlarının mt-cytb gen bölgesinden dizayn edilen kanatlı ve memeli spesifik primerler ile moleküler analiz sonuçları Tablo 1'de, kanatlı ve memeli kanı pozitif belirlenen bazı örnekler için izolatların agaroz jel üzerinde görünüşleri de sırasıyla Şekil 2 ve Şekil 3'de verilmiştir. Beslenme eğilimlerinin istatistiksel analizinde *Cx. pipiens* kompleks için kanatlı tercihi önemli bulunmuştur ($\chi^2=40,970$, $p<0,05$).

Konak kanı yönünden pozitif belirlenen örneklerden kanatlı için 15, memeli için de 15 izolat klonlandıktan sonra konak türü tayini için elde edilen plazmidler sekans analizine tabii tutulmuştur. Plazmidlerden elde edilen mt-cytb sekanslarının GenBank'ta blastn analizleri sonucu konak türü identifikasyonları yapılmış ve konak türlerinin dağılımı Tablo 2'de verilmiştir.

TARTIŞMA

Sivrisinek türlerinin vektörlük potansiyellerinin belirlenmesine yönelik çalışmalarda vektör etkinliği üzerine coğrafik alan, ekolojik faktörler ve sivrisineklerin kan beslenmesinde konak tercihlerinin önemli olduğu bilinmektedir (32-34). Bir bölgede vektörlük potansiyeli belirlenen bir sivrisinek türünün diğer bazı bölgelerde vektör etkinliğinin düşük olduğu veya hiç olmadığı görülmektedir. Kan ile beslenen (haematophagous) arthropodların beslenme yapıları ve konak tercihleri, birçok patojenin çoğalması ve omurgalı konaklara bulaşması açısından oldukça önemlidir (6, 7). Vek-

Tablo 2. Memeli ve kanatlı kanı yönünden pozitif belirlenen ve klonlama sonrası sekans ve genetik analizlerle konak türü belirlenen örneklerin konak tür dağılımları

	Klonlanan İzolat Sayısı	Konak türü		İdentifiye edilen örnek sayısı
KANATLI	15	Takım	Tür	
		Passeriformes	Alakarga (<i>Garrulus glandarius</i>)	2
			Saksağan (<i>Pica pica</i>)	5
			Tepeli toygar (<i>Galerida cristata</i>)	2
		Accipitriformes	Baya şahin (<i>Buteo buteo</i>)	2
			Küçük kartal (<i>Hieraaetus pennatus</i>)	1
		Columbiformes	Kumru (<i>Streptopelia decaocto</i>)	2
Strigiformes	Kukumav (<i>Athene noctua</i>)	1		
MEMELİ	15	İnsan (<i>Homo sapiens</i>)		6
		Köpek (<i>Canis lupus familiaris</i>)		2
		Koyun (<i>Ovis aries</i>)		3
		Siğir (<i>Bos taurus</i>)		4

törlerde beslenme yapılarının ve konak tercihlerinin belirlenmesinin, vektör-kaynaklı hastalıklarla etkili mücadele stratejilerinin ve politikalarının oluşturulmasına, salgın risklerinin azalmasına ve hem insan hem de hayvanlarda bu hastalıkların ekoepidemiyolojilerinin daha iyi anlaşılmasına oldukça önemli katkısı vardır. Kozmopolit bir yayılışa sahip olan ve Kuzey Ev Sivrisineği olarak da bilinen *Cx. pipiens* insan ve hayvan sağlığını etkileyen çeşitli patojenlerin önemli bir vektörü olarak nitelenmektedir (6). *Cx. pipiens* kompleks türlerinin kan beslenmesinde konak tercihleri üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Munoz ve ark. (7), İspanya'nın çeşitli bölgelerinden topladıkları 65 adet *Cx. pipiens* örneğinden 43'ünü konak kanı yönünden pozitif belirlemişler, mt-COI sekans analizleriyle konak tür dağılımını memeli grubunda köpek %14,3, kedi 21,4 ve insan %35,7; kanatlı grubunda ise tahtalı güvercin (*Columba palumbus*) %4,8, tavuk (*Gallus gallus*) %2,4, yeşil parakeet (*Myiopsitta monachus*), bayağı serçe (*Passer domesticus*) %4,8, kumru (*Streptopelia decaocto*) %2,4 ve karataş (*Turdus merula*) %4,8 olarak belirlemişlerdir. Amerika ve Avrupa'da yapılan çeşitli araştırmalarda *Cx. pipiens*'in kan beslenmesinde kanatlı konak spektrumunu %64-97 oranında belirlenmiş ve memeli konaklara göre kan beslenmesinde kanatlı konak tercihleri önemli bulunmuştur (35-37). Garcia-Rejon ve ark. (38), Meksika'da *Cx. pipiens* tür kompleksi içerisinde yer alan *Cx. quinquefasciatus*'un kan beslenmesinde konak eğilimi ve spektrumunu üzerine yaptıkları moleküler tabanlı çalışmada toplam 658 doymuş dişi örneğin %82'sini kanatlı, %18'ini ise memeli kanı pozitif belirlemişler, en sık omurgalı konakları Galliformes (47,1%), Passeriformes (%23,8), Columbiformes (%11,2) takımlarındaki kuşlar ve köpek (%8,8) olarak belirlemişlerdir. Bruno Gomes ve ark. (39), Portekiz'de örnekledikleri *Cx. pipiens pipiens* ve *Cx. pipiens molestus* biyoformlarının kan beslenmesinde serolojik yöntemlerle kanatlı tercihini %90'ın üzerinde belirlemişler ve bu kanatlıların büyük çoğunluğunun Passeriformes takımında yer aldığını saptamışlardır. Çalışmamızda moleküler analiz sonucunda incelemesi yapılan *Cx. pipiens* komplekse ait toplam 376 örneğin 148'i (%39,4) kanatlı ve/veya memeli kanı yönünden pozitif bulunmuştur. Pozitif belirlenen örneklerin %29,1'i yalnızca memeli, %66,2'si yalnızca kanat-

lı, %4,7'si ise hem kanatlı hem de memeli kanı yönünden pozitif belirlenmiş olup beslenme eğilimlerinin istatistiksel analizinde *Cx. pipiens* için kanatlı tercihi önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Elde edilen bu sonuç çeşitli araştırmacıların bulguları (36-39) ile paralellik göstermiştir. Kanatlı konak kanı pozitif 15 dişi *Cx. pipiens* izolatından 9'unun Passeriformes takımında, 3'ünün Accipitriformes, 2'sinin Columbiformes ve 1'inin de Strigiformes takımında yer alan kanatlı türlerinden kan emdiği belirlenmiştir. Passeriformes takımında belirlenen izolatların 2'sinin Alakarga (*Garrulus glandarius*), 5'inin Saksağan (*Pica pica*), 2'sinin de Tepeli toygar (*Galerida cristata*) türlerine ait olduğu, Accipitriformes takımında belirlenen izolatların 2'sinin Baya şahin (*Buteo buteo*), 1'inin de Küçük kartal (*Hieraaetus pennatus*), Columbiformes takımındakilerin 2'sinin de Kumru (*Streptopelia decaocto*), Strigiformes takımında belirlenen tek izolatın da Kukumav (*Athene noctua*) türlerine ait olduğu moleküler olarak ortaya konmuştur. Elde edilen sonuçlar *Cx. pipiens*'in kan beslenmesinde Passeriformes kuşların önemli olduğunu göstermiş olup ayrıca Bruno Gomes ve ark. (39) bulgularıyla da benzerlik göstermiştir. Sekans analizi yapılan memeli konak kanı pozitif 15 dişi *Cx. pipiens* izolatından ise 6'sı insan (*Homo sapiens*), 4'ü siğir (*Bos taurus*), 3'ü koyun (*Ovis aries*), 2'si de köpek (*Canis lupus familiaris*) kanı pozitif belirlenmiştir. Çalışmada insan kanı pozitifliği diğer memelilere oranla yüksek bulunmuş olup bu sonuç da Munoz ve ark. (7) bulgularıyla paralellik göstermiştir.

SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışma ile Türkiye'de ilk kez *Cx. pipiens* tür kompleksine ait sivrisinek örneklerinin kan beslenmesinde konak tercihi üzerine moleküler düzeyde bilimsel veriler elde edilmiştir. Çalışma ile araştırma yöresinde bu tür kompleksine ait üyelerin hem kanatlı hem de memeli türlerinden beslenebilmesinin yanında kanatlı tercihinin daha önemli olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar da araştırma bölgesinde özellikle Rift Valley fever, Sindbis virüs, St. Louis encephalitis ve West Nile Fever gibi viral enfeksiyonların yanında filariosis, dirofilariosis ve avian malaria gibi birçok paraziter enfeksiyonun nakli açısından söz konusu tür kompleksinin yüksek risk oluşturduğunu göstermiştir.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayına gerek yoktur.

Hasta Onamı: Bu çalışma için hasta onamına gerek yoktur.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - A.Y., S.K.; Tasarım - A.Y., S.K.; Denetleme - A.Y., Ö.D., A.İ.; Kaynaklar - A.Y., Ö.D., A.İ.; Malzemeler - A.Y., Ö.D., A.İ., A.Ç., Z.Ö.; Veri Toplanması ve/veya İşlenmesi - A.Y., S.K.; Analiz ve/veya Yorum - A.Y., Ö.D., A.İ., A.Ç., Z.Ö.; Literatür Taraması - A.Y., S.K.; Yazıyı Yazan - A.Y., S.K.; Eleştirel İnceleme - A.Y., S.K., Ö.D., A.İ.; Diğer - A.Y., S.K., Ö.D., A.İ.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2013-4296 nolu proje ile desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: Not required in this study.

Informed Consent: Not required in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - A.Y., S.K.; Design - A.Y., S.K.; Supervision - A.Y., Ö.D., A.İ.; Funding - A.Y., Ö.D., A.İ.; Materials - A.Y., S.K.; Data Collection and/or Processing - A.Y., S.K.; Analysis and/or Interpretation - A.Y., Ö.D., A.İ., A.Ç., Z.Ö.; Literature Review - A.Y., S.K.; Writing - A.Y., S.K.; Critical Review - A.Y., S.K., Ö.D., A.İ.; Other - A.Y., S.K., Ö.D., A.İ.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure: This study supported by Research Fund of Erciyes University with the project numbered as TYL-2013-4296.

KAYNAKLAR

1. Harbach RE. Classification within the cosmopolitan genus *Culex* (Diptera: Culicidae): the foundation for molecular systematics and phylogenetic research. *Acta Trop* 2011; 120: 1-14. [CrossRef]
2. Shaikevich EV, Vinogradova EB, Bouattour A, Gouveia de Almeida AP. Genetic diversity of *Culex pipiens* mosquitoes in distinct populations from Europe: contribution of *Cx. quinquefasciatus* in Mediterranean populations. *Parasit Vectors* 2016; 9: 47. [CrossRef]
3. Farajollahi A, Fonseca DM, Kramer LD, Marm Kilpatrick A. "Bird biting" mosquitoes and human disease: a review of the role of *Culex pipiens* complex mosquitoes in epidemiology. *Infect Genet Evol* 2011; 11: 1577-85. [CrossRef]
4. Werblow A, Klimpel S, Bolius S, Dorresteijn AW, Sauer J, Melaun C. Population structure and distribution patterns of the sibling mosquito species *Culex pipiens* and *Culex torrentium* (Diptera: Culicidae) reveal different evolutionary paths. *PLoS One* 2014; 9: e102158.
5. Hubalek Z. Mosquito-borne viruses in Europe. *Parasitol Res* 2008; 103: 29-43. [CrossRef]
6. Dye C, Hasibeder G. Population Dynamics of mosquito-borne disease: effects of flies which bite some people more frequently than others. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1986; 80: 69-77. [CrossRef]
7. Munoz AG, Baxter SW, Linares M, Jiggins CD. Deep mitochondrial divergence within a *Heliconius* butterfly species is not explained by cryptic speciation or endosymbiotic bacteria. *BMC Evolutionary* 2011; 11: 358. [CrossRef]
8. Öter K, Tüzer E. İstanbul'da Sivrisinek Türlerinin (Diptera: Culicidae) Kompozisyonu. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg* 2014; 40: 249-59.
9. Kasap H, Kasap M, Mimioğlu MM, Aktan F. Çukurova ve çevresinde sivrisinek ve malaria üzerine araştırmalar. *Doğa Bil Derg* 1981; 5: 141-50.
10. Aldemir A, Boşgelmez A. Population dynamics of adults and immature stages of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Gölbaşı District, Ankara. *Turk J Zool* 2006; 30: 9-17.
11. Eren H, Yağcı Ş, Tanyüksel M. Ankara yöresinde bulunan sivrisinek (Diptera: Culicidae) türleri. *Türk Hij Den Biyol Derg* 1996; 53: 25-9.
12. Çağlar SS, Alten B, Bellini R, Simsek FM, Kaynas S. Comparison of nocturnal activities of mosquitoes (Diptera: Culicidae) sampled by New Jersey light traps and CO2 traps in Belek, Turkey. *J Vector Ecol* 2003; 28: 12-22.
13. Şahin İ. Antalya ve çevresindeki sivrisinekler (Diptera: Culicidae) ve filariose vektörü olarak önemleri üzerinde araştırmalar. II. Sivrisinek faunasını belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar. *Doğa Bil Derg* 1984; 8: 385-96.
14. Alten B, Boşgelmez A. Investigations on the bio-ecology of the *Culex* species (Diptera: Culicidae) in the Ortaca Dalaman regions of Mugla I. *Turk J Zool* 1996; 20: 27-51.
15. Şimşek FM. Şanlıurfa İli Sınırları İçerisinde Bulunan Sivrisinek Türleri (Diptera: Culicidae) ve Sıtma Vektörlerinin Biyo-Ekolojisi Üzerine Araştırmalar. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2004.
16. İnci A, Yıldırım A, Njabo KY, Duzlu O, Biskin Z, Ciloglu A. Detection and molecular characterization of avian Plasmodium from mosquitoes in central Turkey. *Vet Parasitol* 2012; 188: 179-84. [CrossRef]
17. Yıldırım A, İnci A, Duzlu O, Duzlu O, Biskin Z, Ciloglu A. *Aedes vexans* and *Culex pipiens* as the potential vectors of *Dirofilaria immitis* in Central Turkey. *Vet Parasitol* 2011; 178: 143-7. [CrossRef]
18. Biskin Z, Duzlu O, Yıldırım A, İnci A. The molecular diagnosis of *Dirofilaria immitis* in vector mosquitoes in Felahiye district of Kayseri. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2010; 34: 200-5.
19. Aldemir A, Demirci B, Kırpık MA, Alten B, Baysal A. Species composition and seasonal dynamics of mosquito larvae (Diptera: Culicidae) in Iğdır plain, Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2009; 15: 103-10.
20. Taşçı GT, Kılıç Y. The prevalence of *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) in dogs and investigations on potential vector mosquito species in Kars and Iğdır. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012; 18: A29-A34.
21. Muslu H, Kurt Ö, Özbilgin A. Evaluation of mosquito species (Diptera: Culicidae) identified in Manisa province according to their breeding sites and seasonal differences. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2011; 35: 100-4. [CrossRef]
22. Duzlu O, Yıldırım A, İnci A, Gumussoy KS, Ciloglu A, Onder Z. Molecular investigation of Francisella-like endosymbiont in ticks and Francisella tularensis in ixodid ticks and mosquitoes in Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2016; 16: 26-32. [CrossRef]
23. Ergunay K, Gunay F, Erisoz Kasap O, Oter K, Gargari S, Karaoglu T, et al. Serological, molecular and entomological surveillance demonstrates widespread circulation of West Nile virus in Turkey. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8: e3028.
24. Yıldırım A, İnci A, Duzlu O, Onder Z, Ciloglu A. Detection and molecular characterization of the Wolbachia endobacteria in the *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) specimens collected from Kayseri province of Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2013; 60: 189-94. [CrossRef]
25. Glick J. Illustrated key to the female Anopheles of southwestern Asia and Egypt (Diptera: Culicidae). *Mosq Syst* 1992; 24: 125-53.
26. Darsie RE, Samanidou-Voyadjoglou A. Keys for the mosquitoes of Greece. *J Am Mosq Control Assoc* 1997; 13: 247-54.
27. Samanidou-Voyadjoglou A, Harbach RE. Keys to the adult female mosquitoes (Culicidae) of Greece. *Eur Mosq Bull* 2001; 10: 13-20.
28. Schaffner F, Angel G, Geoffroy B, Hervy JP, Rhaïem AJB. The mosquitoes of Europe (CDRom). Montpellier, France: IRD Edition and EID Méditerranée; 2001.
29. Hebert PDN, Ratnasingham S, deWaard JR. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biol Sci* 2003; 270: 96-9.
30. Kim KS, Tsuda Y, Yamada A. Blood meal identification and detection of avian malaria parasite from mosquitoes (Diptera: Culicidae) inhabiting coastal areas of Tokyo Bay, Japan. *J Med Entomol* 2009; 46: 1230-4.

31. Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, et al. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 2012; 28: 1647-9. [\[CrossRef\]](#)
32. Loftin KM, Byford MJ, Loftin MJ, Craig ME. Potential mosquito vectors of *Dirofilaria immitis* in Bernalillo County, New Mexico. *J Am Mosq Control Assoc* 1995; 11: 90-3.
33. Rossi L, Pollono F, Meneguez PG, Cancrini G. Four species of mosquito as possible vectors for *Dirofilaria immitis* piedmont rice-fields. *Parassitologia* 1999; 41: 537-42.
34. Petruschke G, Rossi L, Genchi C, Pollono F. Canine dirofilariasis in the canton of Ticino and in the neighboring areas of northern Italy. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2001; 143: 141-7.
35. Gomez Diaz E, Fiquerola J. New perspectives in tracing vector-borne interaction networks. *Trends Parasitol* 2010; 26: 470-6. [\[CrossRef\]](#)
36. Fiquerola J, Soriguer R, Rojo G, Gómez-Tejedor C, Jiménez-Clavero MA. Seroconversion in wild birds and local circulation of West Nile virus, Spain. *Emerg Infect Dis* 2007; 13: 1915-7. [\[CrossRef\]](#)
37. Vázquez A, Sánchez-Seco M P, Ruiz S, Molero F, Hernández L, Moreno J, et al. Putative new lineage of West Nile virus, Spain. *Emerg Infect Dis* 2010; 16: 549-52. [\[CrossRef\]](#)
38. Garcia-Rejon JE, Blitvich BJ, Farfan-Ale JA, Loroño-Pino MA, Chi Chim WA, Flores-Flores LF, et al. Host-feeding preference of the mosquito, *Culex quinquefasciatus*, in Yucatan State, Mexico. *J Insect Sci* 2010; 32: 1-12. [\[CrossRef\]](#)
39. Gomes B, Sousa CA, Vicente JL, Pinho L, Calderón I, Arez E, et al. Feeding patterns of *molestus* and *pipiens* forms of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in a region of high hybridization. *Parasit Vectors* 2013; 6: 93. [\[CrossRef\]](#)