

Sinop Yöresinde Kırsal Kesimde Yaşayan İnsanlarda *Babesia microti* Seroprevalansı

Ömer POYRAZ¹, Turabi GÜNEŞ²

¹Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye;

²Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu., Sivas, Türkiye

ÖZET: *Babesia* türleri keneler tarafından bulaştırılan ve eritrosit içi yerleşim gösteren kan parazitleridir. İnsan babesiosis vakalarında Avrupa'da en sık *Babesia divergens*, Amerika'da ise *Babesia microti* görülür. Bu çalışmada *Ixodes ricinus* türü kenelerin yaygın olarak görüldüğü Sinop'ta insanların *B. microti* ile karşılaşmış olup karşılaşmadığının serolojik olarak ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu amaçla 2006-2007 yıllarının Mayıs-Haziran aylarında Sinop'un merkez ilçesine bağlı köylerinde yaşayan 273 kişiden kan örnekleri alındı. Kan örneklerinden elde edilen serumlarda İndirekt Floresan Antikor Testiyle *B. microti* IgG antikorları araştırıldı. Bu serumların %6,23'ünde *B. microti* antikor seropozitifliği saptandı. Seropozitiflik oranları yönünden cinsiyete, yaş gruplarına, meslek gruplarına ve kene tutma öykülerine göre istatistiksel yönden anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Bu çalışma Türkiye'de insanlarda *B. microti* antikor pozitifliğini ortaya koyan ilk çalışmadır.

Anahtar Sözcükler: *Babesia microti*, Babesiosis, *Ixodes ricinus*, Kene kaynaklı enfeksiyonlar, Keneler

Seroprevalance of *Babesia microti* in Humans Living in Rural Areas of the Sinop Region

SUMMARY: *Babesia* species are blood parasites which transmitted by ticks and located in erythrocytes. *Babesia divergens* in Europe and *Babesia microti* in America are the most significant etiologic agents of human babesiosis cases. The aim of this study was to determine serologically whether people living in Sinop where *Ixodes ricinus* ticks are commonly seen have been exposed to *B. microti* or not. For this purpose, during May and June of 2006-2007, blood specimens were obtained from 273 individuals who lived in villages of the Sinop region. *B. microti* IgG antibodies were investigated by the indirect fluorescent antibody test in sera obtained from blood specimens. *B. microti* seropositivity was found in 6.23% of these sera. There was no statistical difference in antibody seropositivity rates according to sex groups, age groups, occupational groups and recall of tick bites ($p>0.05$). This study is the first seroepidemiologic report of *B. microti* antibodies in people living in Turkey.

Key Words: *Babesia microti*, Babesiosis, *Ixodes ricinus*, tick borne diseases, Ticks,

GİRİŞ

Protozoonların *Apicomplexa* grubunda bulunan *Babesia* (=Piroplasma) türlerinin özellikle sığırlarda oluşturduğu babesiosisin, Firavun Ramses zamanında bile bilindiği iddia edilmektedir. Bu parazitlerin keneler aracılığı ile bulaştığı 1893 yılında anlaşılmış olup, Avrupa'da ilk insan olgusu 1957 yılında bildirilmiştir (22, 28).

Babesia türlerinin yaşam siklusu merogoni, gamegoni ve sporogoni olmak üzere üç evreden ibaret olup, gamegoni ve sporogoni evresi kenelerde, merogoni evresi ise omurgalı konakta tamamlanmaktadır (4, 27). Kenenin kan emmesi sırasında, keneden konağa sporozoit, konaktan

keneye ise merozoit (öncül gametosit) şekilleri aktarılmaktadır (4, 14, 27).

Babesia türlerinin vektör ve konak özgüllüğü bulunmakla birlikte bazı türlerinin biyolojik döngüsünde birden fazla omurgalı konak veya vektör işlev görebilmektedir (15). Amerika kıtasında sık görülen *Ixodes scapularis* türü keneler *Babesia microti*'nin temel vektörüdür. Bununla birlikte *B. microti*, birçok Avrupa ve Asya ülkesinde *Ixodes ricinus* ve *Ixodes persulcatus* türü kenelerden izole edilmiştir (1, 9, 21, 24). Ayrıca Avrupa'da yaşayan insanlarda da belirli düzeylerde *B. microti* antikor pozitifliği saptanmış olup (9, 10, 16, 28), deneysel inokülasyon çalışmalarında da *I. ricinus* türü kenelerin *B. microti* için önemli oranda vektör olabileceği kanıtlanmıştır (11). Ülkemizin özellikle sahil bölgeleri başta olmak üzere birçok bölgesinde *I. ricinus* türü kenelere rastlanmıştır (12, 18), bu nedenle ülkemizde de *B. microti* varlığını araştıran epidemiyolojik çalışmalar yapılmasının önemi bulunmaktadır.

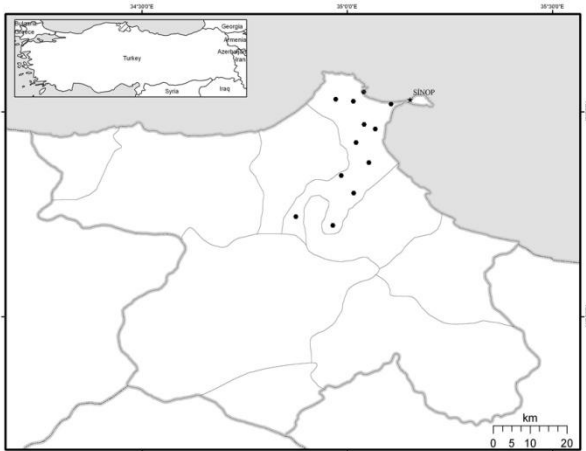
Makale türü/Article type: **Araştırma / Original Research**
Geliş tarihi/Submission date: 07 Aralık/07 December 2009
Düzeltilme tarihi/Revision date: 20 Ocak/20 January 2010
Kabul tarihi/Accepted date: 01 Mayıs/01 May 2010
Yazışma /Corresponding Author: Turabi Güneş
Tel: (+90) (346) 219 10 10 Fax: -
E-mail: turabigunes@hotmail.com

Babesiosis insanlarda belirtisiz, hafif ve şiddetli olmak üzere 3 farklı klinik formda seyrebilir. Kene tutmasından 1-6 hafta sonra klinik belirtiler görülmeye başlar. Hafif seyirli vakalarda titreme, terleme, baş ağrısı, artralji, kas ağrısı, iştahsızlık ve öksürük en sık görülen belirtilerdir. Şiddetli forma dönüştüğünde akut solunum yetmezliği, yaygın damar içi pıhtılaşma, konjestif kalp yetmezliği, koma, letarji ve böbrek yetmezliği gibi komplikasyonlar ortaya çıkmakta olup, bunların yaklaşık %5'i ölümlü sonuçlanır (28).

Babesiosis'in rutin laboratuvar tanısında genellikle şüpheli hastadan alınan kan örneğinden hazırlanan preparatın giemsa boyası ile boyanıp incelenmesi yöntemi kullanılır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) direk tanıda çok daha duyarlı bir yöntem olmakla birlikte rutinde sık kullanılmamaktadır. Serolojik tanıda ise İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT), *Enzimli İmmun Deney* (ELISA) ve Immunoblot (IB) testleri kullanılmaktadır. Babesiosis'in tanısında ELISA ve IB testlerinin tam bir standardizasyonu geliştirilmemiş olması nedeniyle, IFAT indirekt tanıda kullanılan en duyarlı yöntemdir. *B. microti* enfeksiyonlarında IFAT'ın %90 - %100 oranında özgüllüğe sahip olduğu belirtilmekte olup, bu parazitin kronik enfeksiyonlarının tanısında olduğu gibi seroepidemiolojik çalışmaları için de güvenilir bir yöntemdir (2, 14, 15, 28).

GEREÇ VE YÖNTEM

Sinop, Orta Karadeniz bölgesinde 41° - 42° kuzey enlemleri ile 34°-35° doğu boylamları arasında yer alır (Şekil 1). Sahil şeridinde ortalama yağış miktarı 679- 1077 mm., yağışlı gün sayısı 97-128 gün arasındadır. En yüksek sıcaklık 35°C, en düşük sıcaklık -8,4°C'dir. İç kesimlerde ise ortalama yağış 388-473 mm, yağışlı gün sayısı 66-87 gün arasındadır. En yüksek sıcaklık 41°C, en düşük sıcaklık -10,5°C'dir (26). Nemli ve yağışlı iklimi nedeniyle Sinop'un büyük bir kesimi ormanlarla ve zengin bitki örtüsüyle kaplı olup, köyleri ise bu ormanlar arasında serpilmiş durumdadır.

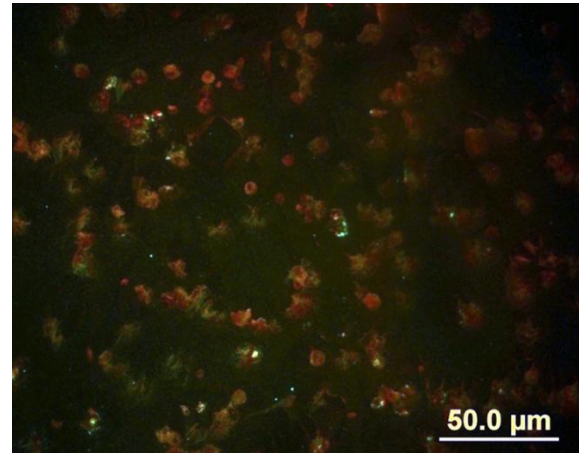


Şekil 1. Sinop'un coğrafik konumu ve çalışmanın yapıldığı merkez köyler.

Kan örneği toplama: Araştırmada Sinop merkez ilçeye bağlı kırsal kesimde yaşayan 20000 kişilik nüfusta, % 95 güvenle beklenen *B. microti* seroprevalansının % 50 olaca-

ğı varsayımıyla, \pm % 5 hata ile alınması gerekli en küçük örneklem büyüklüğü 267 olarak saptanmıştır (25). Sinop merkez ilçeye bağlı 42 köyden küme örnekleme yöntemiyle 12 köy belirlenmiş (Şekil 1), 2006-2007 yıllarının Mayıs-Haziran aylarında bu köylere uğranarak yaklaşık 900 kişiyle iletişim kurulmuş ve bu kişilerin 273'ünden kan örneği alınmıştır. Kan örnekleri özellikle köyde yaşayan ve son 5 yıl içinde kene tutma öyküsü olanlar, çobanlar, hayvan bakıcıları ve süt sağımı yapan kişilerden alınmıştır. Kan örneklerinin steril şartlarda serumları ayrıştırılarak deney gününe kadar -20°C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

İndirekt floresan antikor testi (IFAT): İnsanlardan elde edilen test serumlarında *B. microti* IgG antikor araştırılmasında "Fuller Laboratories, USA" firmasına ait ticari *B. microti* "indirect fluorescent antibody test (IFAT)" kiti kullanılmıştır. Deneylerde test serumları ile birlikte pozitif ve negatif kontrol serumları da birlikte çalışılmıştır. Test serumlarının PBS ile 1/64 titreye kadar, pozitif kontrol serumunun ise 1/1024 titreye kadar sulandırılması yapılmıştır. Kit kullanım kılavuzuna göre IFAT yöntemi ile boyanan preparatlar floresan mikroskobunda (400 büyütmede) incelenmiştir. Pozitif kontrol serumlarının 1/512 sulandırımındaki immünofloresan görünümü cut-off görüntüsü olarak kabul edilmiş, test serumları bu cut off görüntüsü ile kıyaslanarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrole benzer immünofloresan veren 1/64 sulandırımındaki test serumları pozitif olarak değerlendirilmiş ve bu serumlarının 1/1024'e kadar ileri sulandırılması yapılarak tekrar deneye alınmıştır (Şekil 2).



Şekil 2. *B. microti* IgG IFAT deneyinin floresan mikroskoptaki görünümü.

İstatistiksel analiz: Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS-16 programı kullanılmış (SPSS, Inc., Chicago, IL) ve parametreler arasında fark olup olmadığını ortaya koymak için Ki-kare (X^2) ve Fisher'in exact testi uygulanmıştır. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmada Sinop'ta kırsal kesimde yaşayan kişilere ait 132'si (%48,35) kadın, 141'i (%51,65) erkek olmak üzere toplam 273 serum örneğinde IFAT yöntemi ile *B. microti* IgG antikorları araştırılmıştır. 1/64 sulandırımında floresan görüntü saptanan test serumları pozitif olarak değerlendirilmiş olup, 273 kişinin 17'sinde (%6,23) *B. microti* antikor pozitifliği saptanmıştır (Tablo 1). Antikor pozitifliği saptanan test serumlarının daha ileri sulandırımalarında ise, 15'inde (%5,50) 1/128 sulandırımında, 11'inde (%4,03) 1/256 sulandırımında ve 5'inde (%1,83) 1/512 sulandırımında *B. microti* antikorları tesbit edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 1. Sinop yöresinde kırsal kesimde yaşayan insanlarda görülen *B. microti* antikor pozitifliğinin demografik ve serolojik özellikleri

Gruplar	n	Seropozitif	(%)	p değeri
Genel Seroprevalans	273	17	6.23	
Cinsiyet				
Kadın	132	10	7.57	0,372
Erkek	141	7	4.97	
Yaş grupları				
11-20	39	2	5.13	0,626
21-30	41	0	0,00	
31-40	46	4	8,70	
41-50	55	4	7,27	
51-60	32	3	9,38	
61-70	36	3	8,33	
71-83	24	1	4,17	
Meslek grupları				
Çoban	57	5	8,88	0,365
Hayvancılık	199	10	5,03	
Orman işçisi	17	2	11,76	
Kene tutması öyküsü				
Yok	104	4	3,85	0,302
Var	169	13	7,69	

Tablo 2. *B. microti* antikor pozitifliğinin sulandırım oranlarına göre dağılımı (n: 273)

Serum sulandırımları	Pozitif	(%)
1/64	17	6,23
1/128	15	5,50
1/256	11	4,03
1/512	5	1,83
1/1024	0	0,00

Yapılan çalışmalarda *B. microti* antikor seropozitifliğinin cinsiyete, yaş gruplarına, meslek gruplarına, kene tutma öykülerine göre dağılımları incelendiğinde istatistiksel yönden anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$).

TARTIŞMA

I. ricinus türü keneler geniş bir coğrafyada dağılım göstermekte olup, Avrupa ve bir kısım Asya ülkelerinde *Babesia divergens*, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* gibi bir çok enfeksiyon etkeninin vektörü olarak işlev görmektedir (15, 28). *I. ricinus* türü kenelere Türkiye'nin özellikle sahil kesimleri olmak üzere bütün bölgelerinde rastlanmakta olup, bu tür keneler Sinop yöresinde de yaygınlık göstermektedirler (12, 18).

Özellikle kemiriciler başta olmak üzere *Ixodes* türlerinin kan emdiği küçük memeliler *B. microti*'nin rezervuarları olup irili ufaklı birçok hayvan konak olarak işlev görmektedir (11, 14, 20, 23). Türkiye'de koyun, keçi, sığır ve at gibi evcil hayvanlarda *Babesia* türleri konusunda serolojik ve moleküler düzeyde araştırmalar yapılmış olup bu çalışmaların bazılarında *B. microti* ile antijenik yönden benzerliği bulunan *B. divergens* saptanmıştır (3, 7, 17, 19). Yaptığımız literatür taramalarında bu hayvanlarda *B. microti* konusunda bilimsel bir çalışmaya ve veriye rastlanmamıştır. Çiçek ve ark.'larının Anadolu tarla sincaplarında (*Spermophilus xanthophrymnus*) *B. microti* saptamaları önemli bir bulgu olup, Türkiye'deki diğer kemirici türlerinde, memelilerde ve insanlarda *B. microti*'nin araştırılması gerekliliğine dair öncü bir çalışma niteliğindedir (6).

Avrupa'da insanlardaki *B. microti* ve *B. divergens*'in seroprevalansı yaklaşık %1,5 ile %11,5 arasında değişmektedir. Bu konuda yapılan serolojik çalışmalar, birçok Avrupa ülkesinde *B. microti* seroprevalansının *B. divergens* ile benzer düzeylerde olduğunu göstermiştir (9, 10, 16). Gün ve ark.'ları Ankara'da Kızılcahamam yöresinde yaşayan insanların %8'inde *B. divergens* antikor pozitifliği saptamışlardır (13). Türkiye'de insanlarda *B. microti* konusunda olgu sunumu veya bu çalışma öncesine ait serolojik bir veriye rastlanmamıştır. Bu nedenle yaptığımız bu çalışma Türkiye'de insanlarda *B. microti* antikor pozitifliğini ortaya koyan ilk araştırmadır. Bu çalışmada, Sinop'ta kene kaynaklı enfeksiyonlar yönüyle risk grubundan olan 273 kişinin %6,23'ünde *B. microti* antikor pozitifliği saptanmış olup, Avrupa'da yapılmış seroepidemiolojik araştırmalarda saptanan bulgularla benzerlik göstermektedir.

Çalışmada, kırsal kesimde yaşayan kişilerde *B. microti* IgG seroprevalansının cinsiyete, yaş gruplarına, meslek gruplarına göre dağılımlarında (Tablo 1) istatistiksel açıdan bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Bunun nedeni olarak farklı parametredeki grupların benzer oranda kene tutmasına maruz kalması düşünülebilir. Kene tutması öyküsü olanlarda (%7,69), olmayanlara göre (%3,85) yaklaşık 2 kat daha yüksek *B. microti* seroprevalansı saptanmış, fakat

bu farklılık istatistiksel yönden önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). İnsanlara bulaş çoğunlukla kene ısırığı yoluyla olduğu için, her iki grup arasında istatistiksel yönden benzer seroprevalansın görülmesinin nedeni, *B. microti* seroprevalansının çok düşük düzeylerde olmasından kaynaklanabilir. *I. ricinus* türü kenelerin erişkinleri gibi aç nimf şekilleri de önemli düzeylerde *B. microti* taşıyıcısıdır (15, 24, 27). Kene tutması öyküsü olan ve olmayanlarda benzer seroprevalansın görülmesinin muhtemel diğer bir nedeni, kenelerin nimf formlarından kaynaklanan kene tutmalarının birçoğunun insanlar tarafından hissedilememiş olmasıdır.

Farklı *Babesia* türleri arasında ve *Babesia* ile *Plasmodium* türleri arasında immünolojik testlerde çapraz reaksiyon olasılığı bulunmaktadır (8, 15, 16). IFA testinde çapraz reaksiyon genellikle akut hastalık döneminde ve serumun düşük sulandırımalarında ortaya çıkmaktadır (5). Bu çalışmada, test serumlarının ileri sulandırımalarında da (1%128, 1/258 ve 1/512) *B. microti*'ye karşı antikor pozitifliği saptanmış olmakla birlikte, hem insanlarda hem de kenelerde *B. microti*'nin varlığı PCR testleriyle de doğrulanmalıdır.

Bir bölgede yaşayan hayvanlarda ve insanlarda görülen kene kaynaklı enfeksiyonların prevalanslarını, yine aynı bölgede bulunan vektör kenelerin ve rezervuarların yaygınlığı önemli düzeyde etkilemektedir. *B. microti*'nin vektörleri ve rezervuarları yönünden Sinop uygun iklim ve bitki örtüsüne sahiptir. Bulgularımız doğrultusunda, Sinop ve benzer iklim kuşağında yaşayan insan ve hayvanlarda *B. microti* kaynaklı babesiosis olgularının görülmesi muhtemeldir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı (CUBAP) tarafından SHMYO-005 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Çalışma sırasında Sinop'ta kırsal kesimde yaşayan insanlardan kan almaya yardımcı olan Yük. Hemşire Zübeyde Güneş'e ve bu çalışmada teknik desteği olan Prof. Dr. Zati Vatanserver'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Alekseev AN, Semenov AV, Dubinina HV, 2003. Evidence of *Babesia microti* infection in multi-infected *Ixodes persulcatus* ticks in Russia. *Exp Appl Acarol*, 29(3-4): 345-53.
- Agüero-Rosenfeld ME, 2003. Laboratory aspects of tick-borne diseases: lyme, human granulocytic ehrlichiosis and babesiosis. *Mt Sinai J Med*, 70(3):197-206.
- Aktas M, Dumanlı N, Karaer Z, Çakmak A, Sevgili M, 2001. Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde sığırlarda *Babesia* türlerinin sero-prevalansı. *Turk J Vet Anim Sci*, 25: 447-451.
- Chauvin A, Moreau E, Bonnet S, Plantard O, Malandrin L, 2009. Babesia and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. *Vet Res*, 40(2): 37.
- Chisholm ES, Sulzer AJ, Ruebush TK 2nd, 1986. Indirect immunofluorescence test for human *Babesia microti* infection: antigenic specificity. *Am J Trop Med Hyg*, 35 (5): 921-925.
- Çiçek H, Karatepe M, Çakır M, Eser M, 2009. Niğde yöresinde Anadolu tarla sincabı, *Spermophilus xanthophrymnus* (Rodentia: Sciuridae)'da bulunan kan parazitleri, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 56:147-148.
- Diñcer Ş, Sayın F, Karaer Z, Çakmak A, Friedhoff KT, Müller İ, İnci A, Yukarı BA, Eren H, 1991. Karadeniz bölgesi sığırlarında bulunan kan parazitlerinin sero-insidensi üzerine araştırmalar. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg*, 38 (1-2): 206-226.
- Edelhofer R, Müller A, Schuh M, Obritzhauser W, Kanout A, 2004. Differentiation of *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens* and *B. major* by Western blotting--first report of *B. bovis* in Austrian cattle. *Parasitol Res*, 92(5):433-5.
- Foppa IM, Krause PJ, Spielman A, Goethert H, Gern L, Brand B, Telford SR 3rd, 2002. Entomologic and serologic evidence of zoonotic transmission of *Babesia microti*, eastern Switzerland. *Emerg Infect Dis*, 8(7): 722-6.
- Genchi C, 2007. Human babesiosis, an emerging zoonosis. *Parassitologia*, 49 (1): 29-31.
- Gray J, von Stedingk LV, Gürtelschmid M, Granström M, 2002. Transmission studies of *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* ticks and gerbils. *J Clin Microbiol*, 40 (4):1259-63.
- Günes T, Kaya S, Poyraz O, Engin A, 2007. The Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* Ticks in the Sinop Region of Turkey. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, 31: 153-158.
- Gün H, Tanyüksel M, Yukarı BA, Çakmak A, Karaer Z, 1996. Türkiye'de babesiosis'in ilk insan serodiagnozu. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 20 (1): 1-7.
- Homer MJ, Aguilar-Delfin I, Telford SR 3rd, Krause PJ, Persing DH, 2000. Babesiosis. *Clin Microbiol Rev*, 13 (3): 451-69.
- Hunfeld KP, Hildebrandt A, Gray JS, 2008. Babesiosis: recent insights into an ancient disease. *Int J Parasitol*, 38(11): 1219-37.
- Hunfeld KP, Lambert A, Kampen H, Albert S, Epe C, Brade V, Tenter AM, 2002. Seroprevalence of *Babesia* infections in humans exposed to ticks in midwestern Germany. *J Clin Microbiol*, 40(7): 2431-6.
- İnci A, Karaer Z, İça A, 2002. Kayseri yöresinde koyun ve keçilerde babesiosis. *Fırat Üniv Sağ Bil Derg*, 16 (1): 79-83.
- Karaer Z, Yukarı BA, Aydın L, 1997. Türkiye keneleri ve vektörleri. Özcel MA, Daldal N. (Eds). *Parazitoloji'de Arthropod Hastalıkları ve Vektörler*. Türkiye Parazitoloji Derneği yayını no:13, İzmir. s.363-434.
- Karatepe M, 2003. Niğde yöresinde *Babesia ovis*'in seroprevalansı üzerinde araştırmalar. *Türkiye Parazitol Derg*, 27(2): 89-96.
- Karbowiak G, 2004. Zoonotic reservoir of *Babesia microti* in Poland. *Pol J Microbiol*, 53: 61-65.

21. **Rudolf I, Golovchenko M, Sikutová S, Rudenko N, Grubhoffer L, Hubálek Z**, 2005. *Babesia microti* (Piroplasmida: Babesiidae) in nymphal *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in the Czech Republic. *Folia Parasitol (Praha)*, 52(3): 274-276.
22. **Saygi G**, 1998. *Temel Tibbi Parazitoloji*. Sivas: Esnaf Ofset Matbaacılık, s.70.
23. **Sinski E, Bajer A, Welc R, Pawelczyk A, Ogrzewalska M, Behnke JM**, 2006. *Babesia microti*: prevalence in wild rodents and *Ixodes ricinus* ticks from the Mazury Lakes District of North-Eastern Poland. *Int J Med Microbiol*, 40: 137-143.
24. **Skotarczak B, Rymaszewska A, Wodecka B, Sawczuk M**, 2003. Molecular evidence of coinfection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, human granulocytic ehrlichiosis agent, and *Babesia microti* in ticks from northwestern Poland. *J Parasitol*, 89 (1): 194-6.
25. **Sümbüllüoğlu K, Sümbüllüoğlu Y**, 2000. *Biyoistatistik*. 9. Baskı, Hatipoğlu Yayınları: 53, Şahin Matbaası, Ankara.
26. T.C Sinop Valiliği. (<http://www.sinop.gov.tr>)
27. **Uilenberg G**, 2007. *Babesia*-a historical overview. *Vet Parasitol*, 138 (1-2): 3-10.
28. **Vannier E, Gewurz BE, Krause PJ**, 2008. Human babesiosis. *Infect Dis Clin North Am*, 22 (3): 469-88.