

Batı Nil Virüsü (BNV) ve Türkiye’de Batı Nil Virüsü’nün güncel durumu

West Nile Virus (WNV) and current status of West Nile Virus in Turkey

Yavuz UYAR, Esra BAKIR

ÖZET

Batı Nil virüsü (BNV) ilk kez 1937 yılında Uganda’da tanımlanmıştır. O günden bu yana dünyada yayılmaktadır. BNV, sivrisinek-kaynaklı (çoğunlukla *Culex*) bir insan patojeni olup Flaviviridae ailesinden Flavivirus cinsine aittir. BNV virüsü, tek zincirli bir RNA virüsüdür. BNV, doğal konakları olan vahşi kuşlardan sivrisinekler yoluyla bulaşmaktadır. Göçmen kuşlar BNV’nin coğrafik olarak yayılmasında rol oynamaktadır. Enzootik bulaşta, BNV birincil olarak sivrisinekler ve kuşlar arasında sirküle olmaktadır. BNV ile enfekte bir sivrisinek tarafından ısırılan insanlar, atlar ve diğer hayvanlar kör konaktır. İnsanlarda, 2-14 gün süren bir kuluçka dönemini klinik belirtiler izlemektedir. Hastalığın %80’i asemptomatik olarak seyretmektedir. %1’den daha az vakada, BNV ensefaliti ve ya menenjitisi görülebilir. BNV 2 genetik soya ayrılabilir. Genetik soy 1- BNV (lineage WNV 1), Afrika, Avustralya, Asya ve Akdeniz havzasında endemik olarak bulunmaktadır. Genetik soy 2- BNV (lineage WNV 2), Sahra altı Afrika’da endemiktir. Avrupa’da BNV enfeksiyonları 1950’den beri tanımlanmaktadır. Dünyada son 20 yıldır, artmış oranda salgınlar gözlenmektedir. Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı tarafından, Türkiye’de 2011 Ağustos ayının ikinci ve üçüncü haftalarında konfirme edilen üç vaka bildirilmiştir. Türkiye’den ilk kez 2010 yılında, 47 BNV olgusu bildirilmiştir. Ne yazık ki, BNV enfeksiyonunun özgül bir tedavisi bulunmamaktadır. Günümüzde, insanlara yönelik aşısı

ABSTRACT

West Nile virus (WNV) was first identified in Uganda in 1937. Since then, it has spread around the world. WNV is mosquito-borne (mainly of the genus *Culex*) human pathogen and belonging to family Flaviviridae, genus Flavivirus. The WNV is a single-stranded RNA virus. WNV is transmitted by mosquitoes with wild birds as its natural hosts. Migratory birds play a role in the geographic dispersion of WNV. During enzootic transmission, WNV circulates primarily between mosquitoes and birds. Mosquitoes with WNV bite and infect people, horses, and other animals, all of whom are “dead end” host. In humans, an incubation period of 2- 14 days precedes symptoms. Eighty percent of diseases are asymptomatic. In clinical cases, WNV is associated with febrile illness. In less than 1% of cases, WNV causes encephalitis or meningitis. The WNV can be classified into two lineages. Lineage 1 WNV strains have long been endemic in Africa, Australia, Asia and Mediterranean Basin. Lineage 2 WNV strains have been endemic in sub-Saharan Africa. Human WNV infection has been described in Europe since 1950. An increased number of outbreaks have been observed over the last twenty years on the world. Three cases were confirmed by Refik Saydam National Public Health Agency, all of them were identified during the 2nd and 3rd week of August 2011 in Turkey. In 2010, 47 West Nile fever cases were reported for the first time in Turkey. Unfortunately, there is no specific treatment for WNV infection. Currently, there is no human vaccine against

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD ve Tıbbi Viroloji Bilim Dalı, İstanbul



İletişim / Corresponding Author : Yavuz UYAR

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD ve Tıbbi Viroloji BD, İstanbul

Tel : +90 532 556 54 00

E-posta / E-mail : yavuz_uyar@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 27.05.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 31.05.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.32757

Uyar Y, Bakır E. Batı Nil Virüsü (BNV) ve Türkiye’de Batı Nil Virüsü’nün Güncel Durumu. Türk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(3): 279-292

da mevcut değildir ve hastalıktan korunma sivrisinek ile mücadeleye bağlıdır. Bu derlemede, Türkiye'den BNV ile ilgili bildirimlerin ve çalışmaların bir araya getirilmesi ve BNV literatürünün güncel durumunun gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: batı nil virüsü, sivrisinek, culex, batı nil ateşi, Türkiye, epidemiyoloji

WNV and prevention of the diseases in humans is based on mosquito control. In this study, it was aimed to collect about WNV reports and studies from Turkey and reviewed to current status of WNV in the literature.

Key Words: west nile virus, mosquito, culex, west nile fever, Turkey, epidemiology

GİRİŞ

Günümüzde hastalıkların önlenmesinde en son yıllarda Avrupa ve Amerika'da salgınlarla ortaya çıkan ve dünyanın tropikal bölgeleri dışında da yaygınlığı artmakta olan Batı Nil virüsü (West nile virus: WNV, BNV), halk sağlığı otoriteleri açısından önemi günden güne artmakta olan bir virüstür. Dünyamızdaki ekolojik ve demografik dengelerin insan kaynaklı nedenlerden dolayı değişmesiyle birlikte, bazı vektör ve rezervuar türlerinin yaşam alanlarında da farklılaşmalar meydana gelmektedir. Virüsü bulaştıran sivrisinek türlerinin yaşam alanlarının genişlemesiyle birlikte, virüs hızlı bir coğrafi yayılımı sahip olmuştur. (1). Batı Nil virüsü, çoğunlukla birçok kuş türü ile ornitofilik sivrisinek türleri arasında döngüsü olan Afrika kökenli Flavivirus ailesinden bir virüstür (2).

BNV, ilk kez 1937 yılında Uganda'nın Batı Nil bölgesinde ateşli bir enfeksiyon hastalığı geçiren bir kadının kanından izole edilmiştir (3). 1950'lerden buyana, virüsün varlığını sürdürdüğü ekolojik niş dışında dolaştığı kanıtlanmıştır. Virüsün insanlarda ve/veya atlarda sebep olduğu BNV'ye bağlı nöroinvaziv rahatsızlıkların sayısı her geçen gün artmakta ve birçok farklı bölgeden, büyük salgınlar bildirilmektedir (1).

1. BNV Epidemiyolojisi

Virüs, ilk olarak 1937 yılında Afrika kıtasında Uganda'da tanımlanmıştır. Daha sonraki yıllarda Avrupa, Asya ve Avustralya kıtalarında da birçok bölgede varlığı gösterilmiştir (4). BNV enfeksiyonları, Avrupa'da (Fransa, Romanya, Rusya, Yunanistan, vb) ve Akdeniz havzasında yer alan birçok ülkede (Cezayir, Fas, Tunus, İsrail, vb) ve 1999'dan itibaren de Amerika kıtasında tespit edilmektedir (5).

1999 yılından itibaren Kuzey Amerika'nın birçok eyaletinde görülmeye başlayan Batı Nil virüsü, yaşanan salgınlarla birlikte bu kıtadaki yayılımını sürdürmektedir. 2000'li yıllarda her yıl birçok vaka bildirimleri yapılmış olup vaka sayıları günden güne artış göstermektedir. Her yıl görülen salgınlarla birlikte, artık Amerika kıtası da BNV enfeksiyonları için endemik hale gelmiştir (6,7). 2011 yılında ABD'nin çeşitli eyaletlerinden vakalar bildirilmiştir Amerika'da bilinen en büyük BNV salgını 2012 yılında yaşanmıştır. (8). ABD'den 1999 yılı ile 2013 yılları arasında toplam 39.557 vaka, 17.381 nöroinvaziv rahatsızlık ve 1.667 ölüm bildirilmiştir (9).

Avrupada bilinen ilk BNV salgını 1962-1963 yılları arasında Fransa'da görülmüştür. Sonrasında 1985

yılından itibaren virüsün varlığı Avrupa'nın birçok bölgesinde görülen salgınlarla bildirilmiştir. Güney Avrupa, Doğu Avrupa ve Akdeniz Havzası boyunca yayılımını sürdüren virüs kıtada ciddi halk sağlığı problemi haline gelmiştir. 2000'li yıllardan itibaren ortaya çıkan salgınların neticesinde birçok Avrupa ülkesinde süreyans programları kurulmuştur. Etkili süreyans programları ile salgınlar izlenebilmekte ve vakalar hızla kayıt altına alınabilmektedir (10).

2011 yılında İtalya'da görülen büyük salgında süreyans çalışmaları etkili olmuş, bu sayede genotip 1 ve genotip 2'nin Avrupa'daki sirkülasyonu gösterilmiştir (11). 2010-2013 yılları arasında Avusturya, Bosna Hersek, Hırvatistan, Yunanistan, Macaristan, İtalya, Kosova, Makedonya, Sırbistan, Rusya Federasyonu, Ukrayna ve İspanya'da BNV vakaları bildirilmiştir. Özellikle Yunanistan ve Rusya'da 2010 -2013 yılları arasında her yıl yüksek oranda BNV etkinliği görülmüştür (12).

Ülkemizde ise BNV enfeksiyonu, ilk olarak 2010 yılında bir salgın şeklinde görülmüş ve rapor edilmiştir. Kalaycıoğlu ve ark. tarafından bildirilen süreyans bulgularına göre, 2010 ve 2011 yıllarında 47 olguya BNV enfeksiyonu tanısı konularak uluslararası bildiri yapılmış ve ülkemizde ilk kez akut BNV enfeksiyonları bir salgın şeklinde saptanmıştır (13).

2. Vektör Özellikleri ve Bulaş Yolları

İnsan ve at popülasyonlarında görülme sıklığının artmasıyla birlikte bu bölgelerdeki BNV ekolojisi daha iyi anlaşılır olmuştur. BNV'nin doğadaki varlığı, primer vektör *Culex* cinsi sivrisinekler ile kuşlar arasındaki enzootik bulaş döngüsü ile korunur. Bu sebeple *Culex* türü sivrisinekler bulaş döngüsünde en önemli vektörlerdir (14). Kuşlar ise virüsün doğal olarak çoğaldığı birincil konak, yüksek düzeyde viremi oluşturdıklarından dolayı da en önemli rezervuardırlar. Memeli konakta yüksek viremi oluşturmadığından, özellikle enfeksiyonun çoğunlukla görüldüğü insanlar ve atlar, daha çok tesadüfi konak (dead-end host) olarak kabul edilirler ve virüsün bulaş

döngüsünde önem taşımazlar (Şekil 1) (4,15). Virüsün insandan insana doğrudan bulaşı bildirilmemiştir, fakat insandan insana bulaşın kan transfüzyonu, organ transplantasyonu ve anne sütü ile mümkün olabildiği yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (4,16).

Ciddi salgınlarla ortaya çıkan virüsün artarak yayılım göstermesi göçmen kuşların Afrika'dan Avrupa'ya gerçekleşen hareketi ile açıklanmaktadır (17). Göçmen kuşların Afrika'da kışı geçirdikleri yerlerde virüs ile enfekte olduktan sonra Avrupa'ya göçleri ile birlikte virüsün kuzeye doğru taşınmasını ve göç yolları üzerinde bulunan bölgelerde vektör-rezervuar gibi eş zamanlı bulunması gereken faktörleri barındıran alanlarda salgınlara yol açmaktadır. Yerli viremik kuşlar da virüs yayılımına katkıda bulunuyor olsa da etkileri viremik göçmen kuşlarla uzun mesafe yayılımındaki kadar değildir. Göçmen kuşların davranışları salgınların zamanlaması ve şiddeti yönünden de kritik bir belirleyicidir (Şekil 2) (4,18,19). Virüsün rezervuarı olan kuşlardan vektörlere kadar tesadüfi ve değişken birçok faktör aracılığıyla, vakaların başlangıcı ve yayılım safhası izlenebilmektedir. Virüsün yayılımını ve yayılım hızını belirleyen faktörler arasında göz önünde tutulması gerekenler; vektör ile rezervuar popülasyonunun varlığı, yoğunluğu ve topluluğun virüs yönünden yeterli doyumluğa ulaşmasıyla birlikte iklim ve arazi özelliklerini içine alan yerel çevre şartlarıdır. BNV'nin yayılımını ve bunu takiben insanlara bulaşını belirleyen önemli bir risk faktörü de, sivrisineklerin beslenme davranışları ve konak seçimleridir. İtalya ve İspanya'da yapılan çalışmalarda özellikle birkaç kuş türünün sivrisinekler için major besin kaynağı olduğu bildirilmiştir (20-22).

BNV bulaş döngüsünde bir sivrisinek türünün, vektör olarak göz önüne alınabilmesi için sahip olması gereken bazı kriterler bulunmaktadır. Bunlar:

1. *In vitro* koşullarda sivrisinek tarafından beslenmek için alınan enfekte kanın, sivrisinek tarafından bulaştırılması ve BNV'nin etkili bir şekilde enfekte etmesi,

2. Sahadaki sivrisinek türlerinin yoğunluğunun yeterli düzeyde olması,

3. Sahadaki sivrisinek türlerinden BNV'nin izolasyon sıklığı (1,23).

Culex türü sivrisinekler, BNV'nin yayılımındaki majör vektör olarak kabul görmektedir. Ancak virüs farklı en az 11 cinse ait sivrisinek türünden de izole edilmiştir. Bunlar: *Aedes*, *Aedemomyia*, *Anopheles*, *Coquilletidia*, *Culiseta*, *Deinocerites*, *Mansonia*, *Mimomyia*, *Orthopodomyia*, *Psorophora* ve *Uranotania*'dir. Virüsün Avrupa ve Afrika'daki yaygın vektörleri; *Culex pipiens sensu stricto*, *Culex theileri*, *Ochlerotatus caspius*, *Culex univittatus* ve *Culex antennatus*'dur. Asya'daki majör vektörler; *Culex tritaeniorhynchus*, *Culex vishnui* ve *Culex pseudovishnui*'dir. Avustralya'da başlıca vektör *Culex annulirostris*; Kuzey Amerika'da *Culex pipiens* ve *Culex restuans*, Batı Amerika'da *Culex tarsalis*, Güney Amerika'da ise *Culex quinquefasciatus*'dur (24,27).

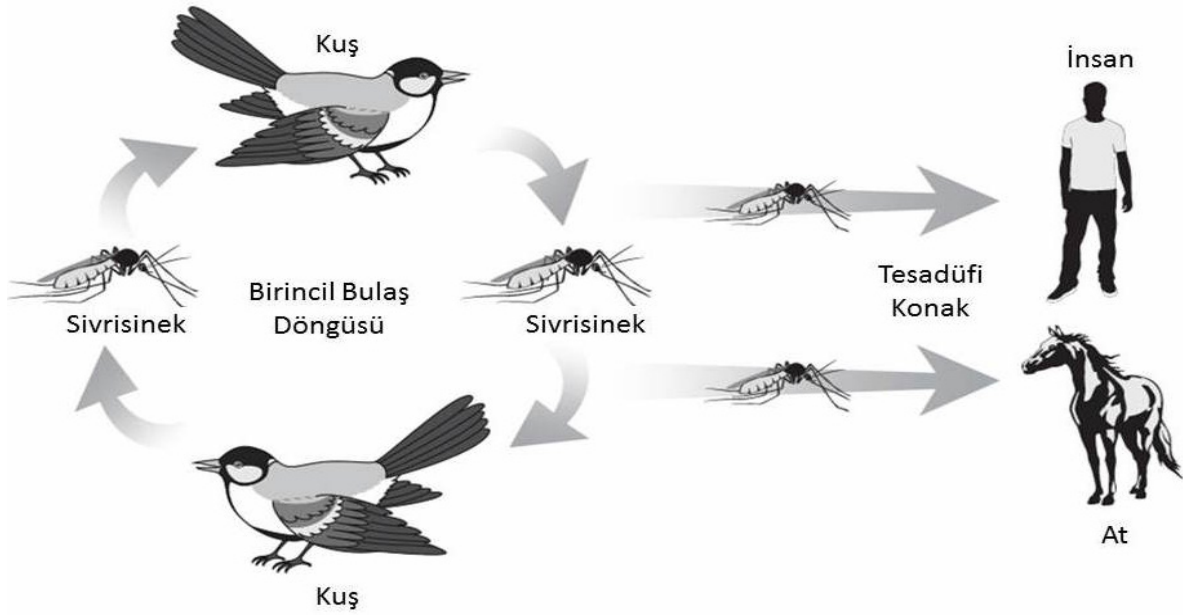
Virüs bulaşında ülkemizdeki yaygın vektör olarak *C. pipiens* gösterilmesine rağmen birçok sivrisinek türüne ait vektör kapasitesinin mevcudiyeti bilinmektedir. Ergunay ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Batı ve Güney bölgelerimizden toplanan *Ochlerotatus caspius* ve *C. pipiens* sivrisinek türlerinde BNV yönünden pozitiflik bulunmuştur. Aynı zamanda BNV pozitif havuzlara yapılan DNA barkodlama çalışmalarında pozitif olarak bulunan yedi örnekten altısının *C. quinquefasciatus* türü olduğu bildirilmiştir (28). 2005-2011 yılları arasında ülkemizde 11 farklı ilde sivrisineklerin toplanması ile yürütülen çalışmada, moleküler yöntemler ile *C. pipiens* grubunun detaylı incelenmesi sonucunda *C. pipiens*, *C. pipiens F. molestus* ve bulaşta etkinliği yüksek ve yaygın olarak görülen *C. quinquefasciatus* ilk kez saptanmıştır (29). Böylece *C. pipiens* dışında *C. quinquefasciatus* türünün yaygın vektör kapasitesinin, ülkemizdeki

BNV bulaş döngüsünde rol alacak kadar etkin olduğu belirlenmiştir. *C. quinquefasciatus*'un ülkemizde yaygın tür olmasının yanı sıra hem kuşlardan hem de memelilerden beslenmesiyle sebebiyle de BNV açısından etkili vektör olduğu düşünülmektedir (29,30).

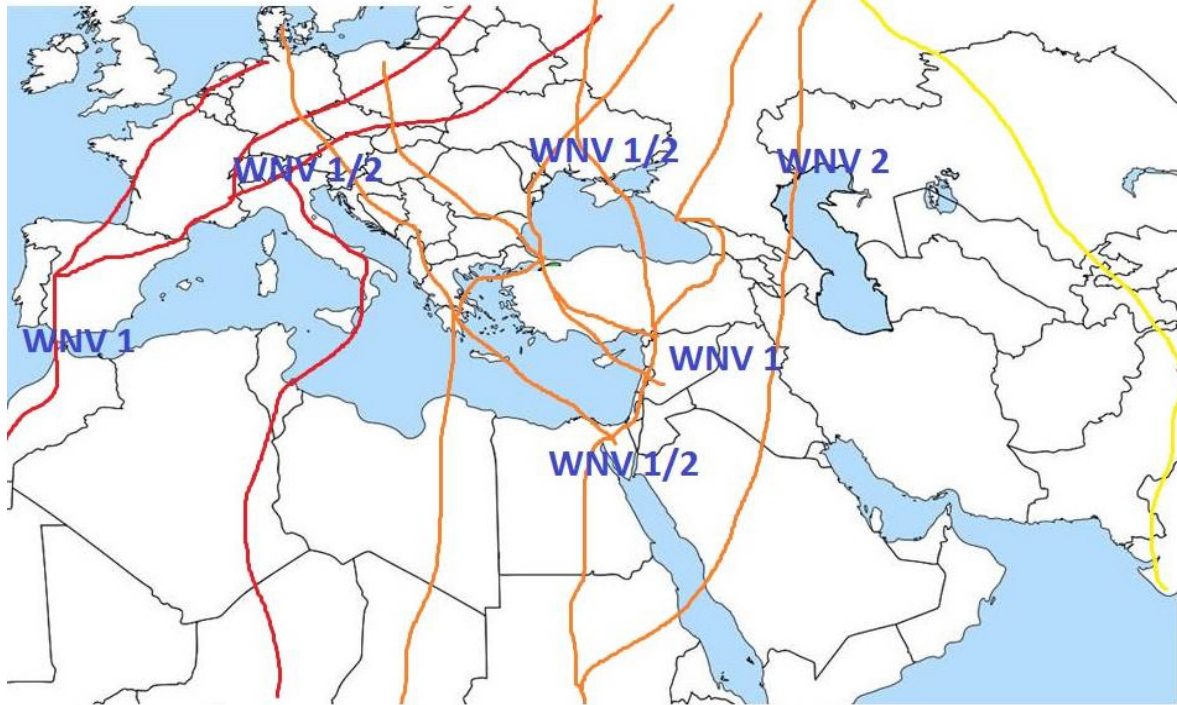
3. BNV'nin Morfolojik ve Genetik Yapısı

BNV'nin taksonomik özelliklerine göre, Flaviviridae ailesinin Flavivirus cinsinde yer alan pozitif polariteli bir RNA virüsüdür. Virüsün yapısı şematik olarak Şekil 3'de verilmiştir (31). Flavivirus cinsi içinde yer alan virüsler klasik serolojik kriterlere dayanılarak antijenik özelliklerine göre alt gruplara ayrılmıştır. BNV, Flaviviridae ailesinde yer alan Japanese Encephalitis virüsü (JEV) serokompleksi içinde yer almakta olup bu kompleks ile yakın antijenik ilişkilidir (2).

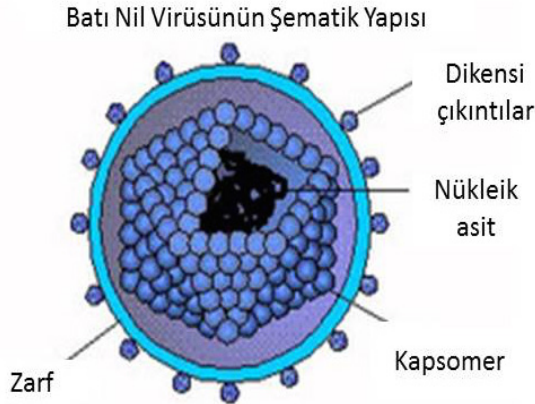
Yapılan filogenetik çalışmalar sonucu BNV izolatlarının zarf (envelop, E) proteinlerindeki aminoasit değişiklikleri ve delesyonlarına göre genetik ve coğrafik olarak çeşitlilik gösteren bir virüs oluşu belirlenmiştir (32). Genotip 1, 2 ve 5 insanlarda görülen önemli salgınlarla ilişkilendirilmektedir (33,34). Genotip 1 BNV izolatları tüm dünyada yaygın olarak görülmekte olup hem virülan hem de atenüe suşları içermektedir ve dağılımlarına göre üç alt dalda (clade) gruplandırılmıştır. Genotip 1-1a dağılımı Afrika, Avrupa, Orta Doğu, Asya ve Amerika suşlarını içerirken, Genotip 1-1b Avustralya'da saptanan Kunjin virus suşlarını ve Genotip 1-1c ise Hindistan suşlarını içermektedir. Genotip 2 ise özellikle Sahra Altı Afrika ve Madagaskar'da bulunan suşları içermektedir. Genotip 2'ye ait suşların, Genotip 1'e ait suşlara göre daha az virülan özellikte olduğu kabul edilmektedir. Fakat yakın dönemde Avrupa'da Genotip 2' ye ait birkaç virülan suş saptanmıştır (32,35).



Şekil 1. Batı Nil virüsünün bulaş döngüsü



Şekil 2. Ülkemizin de yer aldığı coğrafyada ana kuş göç yolları ve sıklıkla saptanan Batı Nil Virüsü (WNV) genotipleri



Şekil 3. Batı Nil Virüsü'nün şematik yapısı

Son çalışmalarda ise her iki suşun da yüksek ve düşük nöroinvazivite ile ilişkili fenotiplerinin olduğu gösterilmiştir. Her iki suşun da virülan ve attenüe türleri içermekte olduğu ve patojenitelerindeki bu farklılığın ise virüsün prM, E veya yapısal olmayan proteinlerindeki özgül bölgeleri kodlayan nükleotidler ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir (36). Son zamanlarda yapılan filogenetik analizler sonucu başka genetik kökenlerin varlığı da bildirilmiştir. Genotip 3'e ait suşların 1997 ve 1999 yıllarında Çek Cumhuriyeti'nde toplanan sivrisineklerde yapılan çalışmalarda yalnızca sivrisinek hücrelerini enfekte eden izolatları temsil ettiği deneysel olarak gösterilmiştir (37). Genotip 4, 1998'den beri Rusya'da sirkülasyonu olan ve Güney-Batı Kafkaslarda kenelerden elde edilen izolatlar ile Volga Nehri deltasında sürüngen ve sivrisinek izolatlarını içermektedir. Genotip 5 ise 1955'den beri varlığı bilinen Hindistan izolatları Genotip 1-1c ile ilişkilendirilmektedir (38,39).

4. BNV Enfeksiyonu Klinik Bulguları

BNV ile enfekte olan bireylerde enfeksiyon genellikle asemptomatik serokonversiyon yada subklinik enfeksiyonlar şeklindedir. BNV enfeksiyonu inkübasyon periyodu 2-15 gün arasındadır ve grip benzeri hastalık şeklinde ortaya çıkmaktadır (40). Enfekte bireylerin %20'sinde ateşli hastalık olarak bilinen "Batı Nil Ateşi" görülürken, %1'den az sayıda bireyde nöroinvaziv rahatsızlıklar şeklinde ortaya çıkmaktadır (41). Nöroinvaziv olguların %55-60'ının ensefalit ile sonuçlandığı, bunun da %20'sinin ölüm ile seyrettiği tahmin edilmektedir (42). Batı Nil virüsü enfeksiyonlarının semptomları baş ağrısı, ani ateş, sırt ağrısı, deride kızarıklıklar, lenfadenopati şeklinde görülmektedir. Daha şiddetli olgularda ise baş ağrısı ile birlikte görülen yüksek ateş, vücut kaslarında zayıflık, boyunu dik tutamama, uyuşukluk, zihinsel karışıklık, koma, kas titremeleri, konvülsiyonlar ve sonuçta paralizi şeklindedir. BNV benzeri klinik semptomlar gösteren, ensefalit, aseptik menenjit ve ateşli hastalık etkeni birçok patojen bulunmaktadır (41,43).

Ülkemizde BNV enfeksiyonu, Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanan yönetmelik ile bildirim zorunlu bulaşıcı hastalıklar listesinde yer almıştır (44). Sağlık Bakanlığı Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Rehberi'ne göre tanı ve bildirim için gerekli olası ve kesin tanı kriterleri şunlardır (45):

- Serumda özgül anti-BNV IgM, yüksek titrede IgG antikor yanıtı ile birlikte pozitif bulunmuş ise "olası tanı" bulgusudur.
- IgM antikorları sağlam bir kan-beyin bariyerini geçemez. Bu nedenle, BOS örneğinde özgül anti-BNV IgM antikor titresi pozitifliği, akut santral sinir sistemi enfeksiyonunu gösterir; "kesin tanı" bulgusudur.
- Kanda IgM antikorları 2-3 ay kadar devam edebilir. IgM antikorları için diğer filavirüslerle çapraz reaksiyon olasılığı akıldan tutulmalıdır.

ç. Serumda saptanan anti-BNV IgM ve IgG titreleri nötralizasyon testi ile doğrulanıyorsa “kesin tanı” bulgusudur.

d. Çok kısa süren viremi nedeniyle virüsün serum ve BOS’tan izolasyonu hayli güçtür. Daha çok beyin biyopsilerinden izole etmek mümkündür. Virüsün izolasyonu yapılabildiye “kesin tanı” bulgusudur.

e. Kan veya BOS’tan BNV nükleik asidinin tespiti “kesin tanı” bulgusudur.

5. Laboratuvar Tanısı

BNV tanısında hastanın klinik özelliklerine ve hikayesine dayanılarak enfeksiyonun varlığından şüphelenilebilir. Fakat tanı konulabilmesi için spesifik laboratuvar testlerinin sonuçları gereklidir. BNV enfeksiyonlarının tanısında virüsün hücre kültüründe izolasyonu, viral antijen tayini ya da moleküler yöntemler ile nükleik asidin saptanması ve virüse karşı oluşan özgül IgM ve IgG gibi antikörlerin gösterilmesi gibi yöntemler kullanılmaktadır (46-48).

Tanıda, virüs izolasyonu altın standart olmasına rağmen yüksek viremi izlenen vektörler ve kuşlar haricinde, insanlarda ortaya çıkan viremi düşük düzeyde olduğundan genellikle virüs izolasyon çalışmalarında istenilen başarı elde edilememektedir. Bu sebeple tanı için serolojik yöntemler en uygun yaklaşım olarak görülmektedir. Hastalık şüphesi olan kişilerde ve klinik belirtilerin görüldüğü dönemde, serum, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve diğer vücut sıvılarında virüs teşhis edilebilmektedir (41,49). ELISA ile serolojik tanıda flaviviruslar (Sarı humma, hepatit C, TBE, Zika ...) arasında görülen çapraz reaksiyonlar göz önünde tutulmalı ve yalnızca tarama testi olarak kullanılmalıdır. Pozitif bulunan örneklerde Plak redüksiyon ve nötralizasyon testleri (PRNT) gibi virüs spesifitesini belirleyen yöntemler ile gerekli doğrulamanın yapılması gerekmektedir (48,42).

T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu tarafından yayımlanan Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Rehberi’ne göre klinik veya epidemiyolojik duruma

göre kullanılacak testler için tercih sıralaması şu şekilde verilmiştir (45):

A. BNV enfeksiyonu şüphesi (nöroinvaziv hastalık ve/veya BNV ateşi)

1. MAC EIA (antibody Capture IgM ELISA)

2. İndirekt IgG ELISA

3. IFA (İmmünfloresan Antikor)

4. Hücre Kültüründe virüs izolasyonu

5. RT-PCR (Reverz Transkriptaz Polimeraz Zincir Tepkimesi)

6. rRT-PCR (Real-time -gerçek zamanlı- Reverz Transkriptaz Polimeraz Zincir Tepkimesi)

7. PRNT90 (Plak redüksiyon nötralizasyon testi 90)

B. Seroprevalans çalışmaları

1. PRNT90 (Plak redüksiyon nötralizasyon testi 90)

2. İndirekt IgG EIA

3. IFA

4. Epitop blocking EIA

C. Kan ve organ bağışlarının taranması tercih sırasına göre testler

1. Nükleik asit tabanlı testler

6. Tedavi ve Korunma Yöntemleri

Dünyanın çeşitli bölgelerinde ve son yıllarda da ülkemizde kamu sağlığı açısından endişe yaratan BNV’ye karşı geliştirilmiş spesifik bir tedavi ve aşı bulunmamaktadır. Fakat enfeksiyona karşı kullanılmak üzere, tedavi edici çeşitli ajanlar geliştirmesine yönelik çalışmalar sürdürülmektedir (50). Yılda yılda salgınları tahmin zorluğu ve hastaların gecikmiş tanısı, spesifik tedavi geliştirilmesi için yapılan klinik denemelerde problemlere neden olmaktadır (43).

Enfeksiyonun semptomatik olarak görüldüğü hastalarda öncelikle destek tedavisi uygulanmaktadır. Bu amaçla, baş ağrısı/kas ağrısı, ateş ve bulantı/kusma gibi enfeksiyon varlığına ait belirtileri gösteren hastalar için öncelikli olarak analjezik, antipiretik ve

antiemetik ilaçlar kullanılabilir (51).

Toplumda BNV risklerini azaltmada sivrisinek kontrolü, insan ve çevre faktörlerinin modifikasyonu ile aktif süveyans programlarını içeren entegre bir yaklaşım gerekmektedir. Kişisel koruyucu önlemler BNV'ye karşı ilk savunma hattını oluşturmaktadır. Alınabilecek birçok kişisel önlem ile enfeksiyon riski azaltılabilir. Riskli bölgelerde sivrisinek maruziyetine karşı, cibinlik, sinek kovucu, sivrisinek tuzakları ve diğer cihazların kullanılması sivrisinek sokma riskini azaltmada etkili yöntemlerdir (52).

Toplum düzeyinde önlem alınabilmesi için hastalığın kontrolü amacıyla öncelikle bölgedeki ve çevredeki olguların izlenmesi, sivrisinek larva haritasının bilinmesi ve güncellenmesi, yetişkin sivrisinek kontrolü, atlardaki enfeksiyonun ve kuşlardaki ölümlerin izlenmesi gerekmektedir. Alınacak önlemlerin uygulaması BNV aktivitesinin mevcut olduğu bölgelerin yerel yönetimleri tarafından uygulanmalıdır. Bunlar arasında da; vektörlerin larva ve erişkin formlarının kitlesel olarak yok edilmesini kapsayan ilaçlama çalışmaları, bulaş ve korunma konusunda halkın eğitimi, kuşlar, diğer hayvanlar, sivrisinekler ve insanlarda süveyans çalışmalarının programlanması yer almaktadır. Bireysel ve toplum bazında alınacak önlemlerin yanı sıra bir bölgede kuş ve at ölümlerinin sık gözlemlendiği durumlarda vakit kaybedilmeden ilgili sağlık kuruluşlarına haber verilmelidir (4,53)

Dış ortamlara dayanıklı olmayan BNV ısı, lipid çözücüler veya deterjan içeren dezenfektanlar içinde hızlı bir şekilde inaktive olur. Maruz kalacak deriye uygulanan DEET (N,N-dietil-m-toluamid) ya da permetrin içeren kremler nispeten toksik olmayan ve etkili sinek kovuculardır. Kullanılacak bu tür önlemlerle birlikte sivrisinek sokma riskini azaltmada yardımcı kişisel koruyucu önlemler teşvik edilmelidir (43).

7. BNV'nin Türkiye'deki Güncel Durumu

BNV varlığının ülkemizde çeşitli çalışmalarla gösterilmesine karşın tüm bölgelerimizdeki seroprevalansının dağılımına ilişkin veriler henüz sınırlıdır (Tablo 1). Fakat BNV'ye dair artan insan ve hayvan vaka olguları ile sivrisinek süveyans çalışmalarında elde edilen veriler virüsün ülkemizde halk sağlığı açısından önem arz eden bir problem haline dönüştüğüne işaret etmektedir (29).

Virüsün ülkemizdeki varlığına ilişkin ilk veriler 1970'li yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarla elde edilmiştir. Radda ve ark. Ankara ve Hatay'da yaptığı çalışmada, hemaglütinasyon inhibisyon (HI) ve nötralizasyon testi (NT) ile %0.9-%20 arasında değişen pozitiflik saptanmıştır (53). Ari ve ark. 1970'li yıllarda yaptığı çalışmada da İstanbul, Ankara, İzmir ve Konya illerinde seropozitiflikler saptanmıştır (55). Meço tarafından Güneydoğu Anadolu bölgesinde 937 kişinin serum örneğiyle yapılan çalışmada %42,8 oranında yüksek bir seropozitiflik saptanmıştır (56). Ancak bu ve benzeri çalışmalarda elde edilen seropozitiflik oranlarının yüksek olması, hemaglütinasyon inhibisyon yönteminde Flavivirüsler arasında antijenik çapraz reaksiyonlara bağlı olarak ortaya çıkan bir sonuca işaret etmektedir (56). Yine Serter tarafından 1980 yılında Ege bölgesi kaynaklı bir başka çalışmada ise hemaglütinasyon inhibisyon yöntemiyle %29,1 oranında seropozitiflik saptanmıştır (57).

2006 yılında Özkul ve ark tarafından yürütülen çalışmada 10 farklı ilden toplanan çeşitli hayvan ve insan serum örneklerinin incelenmesi sonucunda BNV seropozitiflikleri hayvanlarda %1-37,7, insanlarda ise %20,4 olarak bildirilmiştir (58).

Güneydoğu Anadolu bölgesinde Şanlıurfa ve Siverek'de 2007 yılında yapılan bir başka çalışmada, 181 sağlıklı kişiden alınan serum örneklerinin indirekt immüno Floresan yöntemiyle incelenmesi sonucunda seropozitiflik oranı %16 olarak bulunmuş ve bu

Tablo 1. Türkiye’de Batı Nil Virüsü (BNV) ile ilgili yapılan bildirimler, çalışmalar ve sonuçları

Araştırmacılar	Yayın Yılı	Yöntem	Çalışılan Popülasyon	Bölge / İl	Çalışmanın Sonucu
Radda ve ark. (54)	1971	HI, NT	Evcil Hayvan (serum) (214 koyun)	Ankara ve Hatay	BNV aktif %20-%0,9
Ari ve ark. (55)	1972	HI	İnsan (serum)	İzmir, İstanbul, Ankara, Konya	Seropozitiflik saptandı
Meço O. (56)	1977	HI	İnsan (serum)	Şanlıurfa, Mardin, Diyarbakır, Elazığ, Siirt	%38 - 42,8
Serter D. (57)	1980	HI, NT	İnsan (serum)	Ege Bölgesi	%29,1(HI) %21,5(NT)
Özkul A. (58)	2006	HI, NT	Katır (40), sığır (100), köpek (114), at (259), koyun (100) ve insan (88) (764 serum)	Hatay, Adana, Antalya, Muğla, İzmir, Urfa, Bursa, Ankara	Katır (%2,5), sığır (%4), köpek (%37,7), at(%13,5), koyun(%1) ve insan(%20,4)
Ergunay K. (59)	2007	IIFT, NT	İnsan (181sağlıklı kan donörü)	Şanlıurfa/Siverek	%16 (IIFT) %9,5(NT)
Ergunay K. (63)	2010	ELISA, IIFT, PRNT	Donör (2516 sağlıklı kan donörü)	Ankara, Konya, Yozgat, Sivas	%0,99 (ELISA, IIFT), %0,56(PRNT)
Hızel K. (64)	2010	ELISA, PCR	İnsan (2821 sağlıklı kan donörü)	Ankara	%2,4 (ELISA), BNV RNA(-)
Kalaycıoğlu H. (13)	2012	ELISA, IFA, PRNT	Rutin sürveyans (Klinik olgular)	Manisa, Sakarya, Muğla, Balıkesir, İzmir (15 il)	37 olası, 12 doğrulanmış vaka
Özkul A. (63)	2011	Real-time PCR, PRNT	İnsan (klinik vaka) ve at(180)	Ankara ve Eskişehir	İnsan/BNV RNA (+), at %31,6 (PRNT)
Ayturan Ş. (61)	2011	ELISA, PRNT	İnsan (1200 sağlıklı kan donörü)	Ankara	%1,6 (ELISA), %0,8 (PRNT)
Şahiner F. (60)	2012	Real time RT-PCR	İnsan (729 sağlıklı kan donörü)	Ankara	BNV RNA (-)
Yazıcı Z. (67)	2012	Real time RT-PCR	At(120)	Samsun, Sinop, Amasya, Tokat	BNV RNA (-)
Karakoç ZÇ. (62)	2013	ELISA, IFA, MNTA	İnsan (307 şüpheli vaka)	Mardin/Zergan nehri civarı	MNTA (%17)
Erdem H. (66)	2013	ELISA, IFA, NT, IgG Avidite	İnsan (18 klinik bulgulu vakalar, 296 sağlıklı kan donörü)	Edirne, Tekirdağ, Kırklareli, Çanakkale, İstanbul, Çorlu, Çerkezköy	Klinik vakalar;1 BNV RNA (+), 4 BNV RNA ve NT(+), 2 NT ve IgG avidite (+), Kan donörleri; %7,4 (ELISA) ve %1,7 (NT)
Albayrak H. (68)	2013	C- ELISA	Sığır (70), at(70), koyun (70), keçi (70), buffalo(70),	Karadeniz Bölgesi	%2,85 (keçi)
Ergunay K. (69)	2014	PRNT	At (389), ördek (423), koyun (102),insan (266)	Şanlıurfa, Kars, Van, Adana, Muğla, Mersin	PRNT ; At (Ş.Urfa- Van /%13,8 -%10,5), ördek (Kars/%9,9), İnsan (Mersin/%12,1) PCR; at (Adana, Mersin, Muğla/ %4,9-%8,2-%19), insan (Mersin/ BNV RNA (-))
Toplu N. (71)	2015	IHC, ISH, ELISA	At (5 /nörolojik semptomlu)	Ege Bölgesi	ELISA, ISH, IHC (pozitif)
Biçerlioğlu SU. (70)	2015	ELISA, real time PCR	İnsan (438 sağlıklı donör)	İzmir	%2,51 (ELISA)
Bakır E. (72)	2015	ELISA, IFA, PCR	İnsan (226 sağlıklı kan donörü)	Edirne, İstanbul, Kocaeli, Sakarya	%0,9 (ELISA), BNV RNA (-)

seropozitifliklerin %9,5'i plak redüksiyon nötralizasyon testi ile doğrulanmıştır (59). 2009 yılında Ankara'da Ağustos ile Eylül ayları arasında toplanan 729 sağlıklı kan donörüne ait örneklerde real time-PCR ile yapılan çalışmalarda BNV RNA saptanamamıştır (60). 2009 yılında Ankara ilinde bulunan Hacettepe Üniversite'sine başvuran 1200 sağlıklı kan donörüne ait örneklerle yürütülen çalışmada ise ELISA ile %1.6 seropozitiflik saptanmıştır. Pozitif bulunan örneklerin %0.8'i ise PRNT ile doğrulanmıştır (61). 2009 yılında şüpheli vakaların varlığı üzerine yürütülen bir başka çalışma Türkiye'nin Suriye sınırına yakın bir bölgesi olan Zergan nehri civarındadır. 307 şüpheli vakaya ait örnekler arasında ELISA ile pozitif bulunan örnekler IFA ile değerlendirilmiştir. Pozitif bulunan örneklerin doğrulanması için mikronötralizasyon (MNTA) testi uygulanmış, %17 oranında pozitiflik saptanmıştır (62). Orta ve Kuzey Anadolu'da 2516 kan donörü ile yürütülen bir çalışmada ise ELISA tekniği ile %0,99 IgG sınıfı antikor pozitifliği saptanmıştır. Pozitif örneklerin PRNT yöntemi ile doğrulanması sonucunda %0,56'sının pozitif olduğu ve pozitif saptanan örnekler ile de virüsün Orta Anadolu'da varlığı gösterilmiştir (63). Hızal K ve ark. tarafından Ankara'da kan donörleriyle yürütülen çalışmada ELISA ile %2,4 seropozitiflik saptanırken, pozitif örneklerle yapılan PCR'da BNV RNA saptanamamıştır (64).

BNV'ye dair ülkemizdeki ilk resmi vakalar 2010-2011 yılları arasında Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi'ne 15 farklı ilimizden gelen BNV enfeksiyonu şüpheli hastaların örneklerinin incelenmesi sonucunda ortaya konmuştur. 47 olguya BNV enfeksiyonu tanısı konularak ülkemizde ilk kez akut BNV enfeksiyonları saptanmış ve uluslararası bildirim yapılmıştır. Vaka bildirimlerinin ağırlıklı olarak Batı illerimizden olması da virüsün Türkiye'nin batısında endemik hale geldiğine işaret etmektedir (13). Aynı yıllarda Ankara ve Eskişehir kaynaklı eş zamanlı olarak at ve insan BNV enfeksiyonu olguları saptanmış ve yapılan kısmi genom analizlerinde, ülkemizde dolaşımda bulunan virüsün "Lineage 1" izolatlarına benzerliği genetik analizler sonucunda ortaya konulmuştur. Aynı

çalışmada 180 at serumunda BNV spesifik antikorları %31,6 bulunmuştur (65).

2012 yılında Trakya bölgesinde akut klinik vakalar ile bölgesel rutin surveians çalışmaları için kan donörlerinden toplanan örneklerle yapılan laboratuvar çalışmalarında, klinik vakalara ait örneklerde BNV RNA pozitifliği saptanmıştır. Kan donörlerine ait örneklerde de ELISA ve NT ile %7,4 ve %1,7 oranlarında pozitiflik elde edilmiştir (66).

2012 yılında Samsun, Sinop, Amasya ve Tokat illerinde yürütülen bir çalışmada ise 120 at serumunda real time PCR ile BNV varlığı araştırılmış ancak viral RNA saptanmadığı bildirilmiştir (67). Albayrak ve ark.'nın yürüttüğü hayvan kaynaklı bir çalışmada ise yalnızca keçilere ait serum örneklerinde %2,85 oranında seropozitiflik saptanmıştır. Ülkemizin Batı, Orta ve Güney illerinin iklim şartlarının vektör aktivitesi yönünden Karadeniz Bölgesi'ne göre daha uygundur. Karadeniz Bölgesi'nde yapılan çalışmalarda elde edilen verilere bakıldığında vektör kapasitesinin sıcaklık, nem ve yağmur gibi iklim şartlarıyla olan anlamlı ilişkisi dikkat çekmektedir (68).

2011-2013 yılları arasında ülkemizde 15 farklı ilde, BNV dağılımını ve sıklığını göstermek amacıyla insan, at, koyun ve ördeklerden toplanan serum örnekleriyle yürütülen çalışmada PRNT ile BNV maruziyeti çeşitli oranlarda saptanan pozitiflikler ile gösterilmiştir. Elde edilen bu veriler ile ülkemizin birçok bölgesinde BNV'nin dağılımının yaygın olduğu görülmüştür (69).

İzmir'de 2010 yılında Ege Üniversitesi Kan Merkezi'ne başvuran sağlıklı 438 kan donöründe yapılan çalışmada tüm örneklerde BNV viral RNA'sı negatif olarak bulunmuştur. Fakat 11(%2,51) örnekte IgG antikor pozitifliği saptanmıştır (70). Ege Bölgesi'nde nörolojik semptomların görüldüğü at olgularında ise ELISA, immünohistokimyasal ve in situ hibridizasyon ile BNV yönünden pozitiflikleri gösterilmiştir (71).

Bakır, tez çalışmasında, BNV'nin dolaşımda olduğu Nisan-Eylül 2014 döneminde Marmara Bölgesi

illerinde yer alan kan donörlerinde yaptığı serolojik ve moleküler araştırmasında BNV viral genomunu saptayamamıştır. Örneklerin 84'ü İstanbul, 60'ı Edirne, 58'i Kocaeli ve 24'ü Sakarya iline ait olup BNV IgG ve IgM antikor varlığı ELISA yöntemi ile araştırılmıştır. BNV IgG ve IgM antikor pozitifliğinin teyit edilmesi ise, indirekt immüno Floresan antikor (IFA) testi ile yapılmıştır. ELISA yöntemi ile BNV antikor (IgM ve IgG) varlığı aranan örneklerin iki (%0,9)'ünde özgül BNV IgM antikor pozitifliği ve iki (%0,9) örnekte BNV IgG antikor pozitifliği saptanmıştır. ELISA ile negatif

bulunan fakat anket verileri incelendiğinde arboviral enfeksiyonlar açısından yüksek risk faktörlerini bulundurduğu kabul edilen 42 donöre ait örneğe IFA testi uygulanmış ve 42 örneğin dört (%9,5)'ünde IgM antikor pozitifliği, dört (%9,5)'ünde ise IgG antikor pozitifliği saptanmıştır (72).

Sonuç olarak, bulaşta rol oynayan vektörlerin coğrafyamızda varlığıyla ve kuşların göç yollarının ülkemizden de geçmesiyle birlikte BNV dünyada olduğu gibi ülkemizde de sporadik ya da salgınlar şeklinde kendini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Rizzoli A, Jimenez-Clavero MA, Barzon L, Cordioli P, Figuerola J, Koraka P, et al. The challenge of West Nile virus in Europe: knowledge gaps and research priorities. *Euro Surveill*, 2015 (a) May 21;20(20).
- Murray KO, Walker C, Gould E. The virology, epidemiology, and clinical impact of West Nile virus: A decade of advancements in research since its introduction into Western Hemisphere. *Epidemiol. Infect*, 2011; 139: 807-17.
- Smithburn K, Hughes T, Burke A. A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am J Trop Med*, 1940; 20: 471-92
- Hayes EB, Komar N, Nasci RS, Montgomery SP, O'Leary DR, Campbell GL. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg Infect Dis*, 2005;11(8):1167-73.
- Paz S. Climate change impacts on West Nile virus transmission in a global context. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2015; 5:370 (1665).
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). West Nile virus and other arboviral diseases - United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2013; 62(25): 513-17.
- O'Leary DR, Marfin AA, Montgomery SP, Kipp AM, Lehman JA, Biggerstaff BJ, et al. The epidemic of West Nile virus in the United States. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2004; 4: 61-70.
- Johnson MG, Adams J, McDonald-Hamm C, Wendelboe A, Bradley KK. Seasonality and survival associated with three outbreak seasons of West Nile virus disease in Oklahoma-2003, 2007, and 2012. *J Med Virol*, 2015; 87 (10): 1633-40.
- Centers for Disease Control and Prevention, "West Nile virus statistics and maps," 2013, <http://www.cdc.gov/westnile/stats-Maps/>. (Erişim tarihi: 26.05.2016)
- Zeller HG, Schuffenecker I. West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2004; 23 (3): 147-56.
- Magurano F, Remoli ME, Baggieri M, Fortuna C, Marchi A, Fiorentini C, et al. Circulation of West Nile virus lineage 1 and 2 during an outbreak in Italy. *Clin Microbiol Infect*, 2012; 18 (12): E545-7.
- European Centre for Disease Prevention and Control, "Historical data," 2013, http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/westnilefever/West-Nile-fever_maps/Pages/historical-data.aspx. (Erişim tarihi: 26.05.2016)

13. Kalaycioglu H, Korukluoglu G, Ozkul A, Oncul O, Tosun S, Karabay O, et al. Emergence of West Nile virus infections in humans in Turkey, 2010 to 2011. *Euro Surveill*, 2012 May 24; 17 (21).
14. Colpitts TM, Conway MJ, Montgomery RR, Fikrig E. West Nile Virus: biology, transmission, and human infection. *Clin Microbiol Rev*, 2012; 25 (4): 635-48.
15. Hubálek Z, Halouzka J. West Nile fever--a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Infect Dis*, 1999; 5 (5): 643-50.
16. Hayes EB, O'Leary DR. West Nile virus infection: a pediatric perspective. *Pediatrics*, 2004; 113 (5): 1375-81.
17. Rappole JH, Hubálek Z. Migratory birds and West Nile virus. *J Appl Microbiol*, 2003; 94 Suppl: 475-585.
18. Blitvich BJ. Transmission dynamics and changing epidemiology of West Nile virus. *Anim Health Res Rev*, 2008; 1: 71-86.
19. Rappole JH, Derrickson SR, Hubálek Z. Migratory birds and spread of West Nile virus in the Western Hemisphere. *Emerg Infect Dis*, 2000; 6 (4): 319-28.
20. Muñoz J, Ruiz S, Soriguer R, Alcaide M, Viana DS, Roiz D, et al. Feeding patterns of potential West Nile virus vectors in south-west Spain. *PLoS One*, 2012; 7 (6): e39549.
21. Hamer GL, Kitron UD, Goldberg TL, Brawn JD, Loss SR, Ruiz MO, et al. Host selection by *Culex pipiens* mosquitoes and West Nile virus amplification. *Am J Trop Med Hyg*, 2009; 80 (2): 268-78.
22. Roiz D, Vazquez A, Rosà R, Muñoz J, Arnoldi D, Rosso F, et al. Blood meal analysis, flavivirus screening, and influence of meteorological variables on the dynamics of potential mosquito vectors of West Nile virus in northern Italy. *J Vector Ecol*, 2012; 37 (1): 20-8.
23. Turell MJ, O'Guinn M and Oliver J. Potential for New York mosquitoes to transmit West Nile virus. *Am J Trop Med Hyg*, 2000; 62: 413-414.
24. Turell MJ, Dohm DJ, Sardelis MR, Oguinn ML, Andreadis TG, Blow JA. An update on the potential of north American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile Virus. *J Med Entomol*, 2005; 42 (1): 57-62.
25. Balenghien T, Vazeille M, Grandadam M, Schaffner F, Zeller H, Reiter P, et al. Vector competence of some French *Culex* and *Aedes* mosquitoes for West Nile virus. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2008; 8(5):589-95.
26. Rizzoli A, Bolzoni L, Chadwick EA, Capelli G, Montarsi F, Grisenti M, et al. Understanding West Nile virus ecology in Europe: *Culex pipiens* host feeding preference in a hotspot of virus emergence. *Parasit Vectors*, 2015(b)Apr 9;8:213.
27. Andreadis TG. The contribution of *Culex pipiens* complex mosquitoes to transmission and persistence of West Nile virus in North America. *J Am Mosq Control Assoc*, 2012;28(4 Suppl):137-51.
28. 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; 24;8(7):e3028.
29. Gunay F, Alten B, Simsek F, Aldemir A, Linton YM. Barcoding Turkish *Culex* mosquitoes to facilitate arbovirus vector incrimination studies reveals hidden diversity and new potential vectors. *Acta Trop*, 2015;143:112-20.
30. Kumari R, Kumar K, Rawat A, Singh G, Yadav NK, Chauhan LS. First indigenous transmission of Japanese Encephalitis in urban areas of National Capital Territory of Delhi, India. *Trop Med Int Health*, 2013;18(6):743-9.
31. Monini M, Falcone E, Busani L, Romi R, Ruggeri FM. West Nile virus: characteristics of an African virus adapting to the third millennium world. *Open Virol J*, 2010; 22(4):42-51.
32. Lanciotti RS, Ebel GD, Deubel V, Kerst AJ, Murri S, Meyer R, et al. Complete genome sequences and phylogenetic analysis of West Nile virus strains isolated from the United States, Europe, and the Middle East. *Virology*, 2002; 298: 96-105.
33. Sejvar JJ. West Nile virus; an historical overview. *Ochsner J*, 2003; 5(3): 6-10.
34. Murgue B, Murri S, Triki H. West Nile in the Mediterranean basin: 1950-2000. *Ann NY Acad Sci*, 2001; 951: 117-126.
35. Ciccozzi M, Peletto S, Cella E, Giovanetti M, Lai A, Gabanelli E, et al. Epidemiological history and phylogeography of West Nile virus lineage 2. *Infect Genet Evol*, 2013; 17: 46-50.

36. Murray KO, Mertens E, Despres P. West Nile virus and its emergence in the United States of America. *Vet Res*, 2010; 41(6): 67.
37. Bakonyi T, Hubálek Z, Rudolf I, Nowotny N. Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, central Europe. *Emerg Infect Dis*, 2005;11(2):225-31.
38. Chancey C, Grinev A, Volkova E, Rios M. The global ecology and epidemiology of West Nile virus. *Biomed Res Int*, 2015:376230.
39. May FJ, Davis CT, Tesh RB, Barrett AD. Phylogeography of West Nile virus: from the cradle of evolution in Africa to Eurasia, Australia, and the Americas. *J Virol*, 2011;85(6):2964-74.
40. Hayes EB, Sejvar JJ, Zaki SR, Lanciotti RS, Bode AV, Campbell GL. Virology, pathology, and clinical manifestations of West Nile virus disease. *Emerg Infect Dis*, 2005; 11(8): 1174-9.
41. Sambri V, Capobianchi M, Charrel R, Fyodorova M, Gaibani P, Gould E, et al. West Nile virus in Europe: emergence, epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Infect*, 2013;19(8):699-704.
42. Sambri V, Capobianchi MR, Cavrini F, Charrel R, Donoso-Mantke O, Escadafal C, et al. Diagnosis of West Nile Virus Human Infections: Overview and Proposal of Diagnostic Protocols Considering the Results of External Quality Assessment Studies. *Viruses*, 2013; 5(10): 2329-48.
43. Gray TJ, Webb CE. A review of the epidemiological and clinical aspects of West Nile virus. *Int J Gen Med*, 2014; 11(7):193-203.
44. Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. *Resmi Gazete*; 02.04.2011 - 27893. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/04/20110402-3.htm> (Erişim tarihi: 26.05.2016).
45. T. C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Rehberi, 2015. <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/tani-rehberi/viroloji/UMS-V-MT-15-Bati-Nil-Virusu-enfeksiyonu.pdf> (Erişim tarihi: 26.05.2016).
46. Rossini G, Carletti F, Bordi L, Cavrini F, Gaibani P, Landini MP, et al. Phylogenetic analysis of West Nile virus isolates, Italy, 2008-2009. *Emerg Infect Dis*, 2011;17(5):903-6.
47. Busch MP, Kleinman SH, Tobler LH, Kamel HT, Norris PJ, Walsh I, et al. Virus and antibody dynamics in acute west nile virus infection. *J Infect Dis*, 2008;198(7):984-93.
48. Sánchez MD, Pierson TC, McAllister D, Hanna SL, Puffer BA, Valentine LE, et al. Characterization of neutralizing antibodies to West Nile virus. *Virology*, 2005;336(1):70-82.
49. Tilley PA, Fox JD, Jayaraman GC, Preiksaitis JK. Nucleic acid testing for west nile virus RNA in plasma enhances rapid diagnosis of acute infection in symptomatic patients. *J Infect Dis*, 2006;193(10):1361-4.
50. Pliego Zamora A, Edmonds JH, Reynolds MJ, Khromykh AA, Ralph SJ. The in vitro and in vivo antiviral properties of combined monoterpene alcohols against West Nile virus infection. *Virology*, 2016;495:18-3.
51. Petersen LR, Brault AC, Nasci RS. West Nile virus: review of the literature. *JAMA*, 2013;310(3):308-15.
52. Debboun M, Strickman D. Insect repellents and associated personal protection for a reduction in human disease. *Med Vet Entomol*, 2013;27(1):1-9.
53. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). West Nile virus and other arboviral diseases - United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2013;62(25):513-17.
54. Radda, A. Antibodies against group A and B Arboviruses in domestic animals from Turkey. *EU Tip Fak Mec*, 1971;10:227-30.
55. Ari, A. Studies on activity and ecology of arboviruses in Turkey. *Turk Hij Tecr Biyol Derg*, 1972; 32:134-43.
56. Meço O. West Nile arbovirus antibodies with hemagglutinationinhibition (HI) in residents of Southeast Anatolia. *Mikrobiyol Bul*, 1977;11:3-17.
57. Serter D. Present status of arbovirus sero-epidemiology in the Aegean region of Turkey. *Zbl Bakt S*, 1980; (9):155-61.
58. Ozkul A, Yildirim Y, Pinar D, Akcali A, Yılmaz V, Colak D. Serological evidence of West Nile Virus (WNV) in mammalian species in Turkey. *Epidemiol infect*, 2006; 134(4):826-9.

59. Ergunay K, Ozer N, Us D, Ozkul A, Simsek F, Kaynas S, Ustacelebi S. Seroprevalence of West Nile virus and tick-borne encephalitis virus in southeastern Turkey: first evidence for tick-borne encephalitis virus infections. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2007; 7: 157-61.
60. Sahiner F, Avcı İY, Bedir O, Koru O, Sener K, Yapar M, et al. Investigation of West Nile virus RNA in blood donors by real-time RT-PCR. *Mikrobiyol Bul*, 2012;46(3):464-9.
61. Ayturan S, Aydođan S, Ergünay K, Özcebe OI, Us D. Investigation of West Nile virus seroprevalence in Hacettepe University Hospital blood donors and confirmation of the positive results by plaque reduction neutralization test. *Mikrobiyol Bul*, 2011;45(1):113-24.
62. Karakoç ZÇ, Tüzüner BM, Ergonul O, Pierro A, Di Fonzo E, Koruk İ, et al. West Nile virus infection in the Mesopotamia region, Syria border of Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2013;13(10):739-43.
63. Ergünay K, Saygan MB, Aydođan S, Menemenliođlu D, Turan HM, Ozkul A, et al. West Nile virus seroprevalence in blood donors from Central Anatolia, Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2010;10(8):771-5.
64. Hızal K, Yenicesu İ, Erdal B, Yeşilyurt E, Fidan İ, Kalkancı A, et al. Investigation of West Nile virus seroprevalence in healthy blood donors. *Mikrobiyol Bul*, 2010;44(3):425-30.
65. Ozkul A, Ergunay K, Koysuren A, Alkan F, Arsava EM, Tezcan S, et al. Concurrent occurrence of human and equine West Nile virus infections in Central Anatolia, Turkey: the first evidence for circulation of lineage 1 viruses. *Int J Infect Dis*, 2013;17(7):546-51.
66. Erdem H, Ergunay K, Yılmaz A, Naz H, Akata F, Inan AS, et al. Emergence and co-infections of West Nile virus and Toscana virus in Eastern Thrace, Turkey. *Clin Microbiol Infect*, 2014;20(4):319-25.
67. Yazici Z, Albayrak H, Ozan E, Gumusova S. The first investigation of west Nile virus in horses using real time rt-PCR in middle black sea region in Turkey. *J Arthropod Borne Dis*, 2012;6(2):151-5.
68. Albayrak H, Ozan E. Seroepidemiological study of west Nile virus and rift valley Fever virus in some of Mammalian species (herbivores) in northern Turkey. *J Arthropod Borne Dis*, 2013;7(1):90-3.
69. 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(7):3028.
70. Biçerođlu SU, Karataylı E, Bayram A, Turhan A, Deđirmenci A, Aydınok Y, et al. Investigation of West Nile virus among healthy blood donors in the western part of Turkey. *Turk J Med Sci*, 2015;45(1):84-8.
71. Toplu N, Ođuzođlu TÇ, Ural K, Albayrak H, Ozan E, Ertürk A, Epikmen ET. West Nile Virus Infection in Horses: Detection by Immunohistochemistry, In Situ Hybridization, and ELISA. *Vet Pathol*, 2015;52(6):1073-6.
72. Bakır E. Batı Nil Virüsü Varlığının Marmara Bölgesi Kan Donörlerinde Serolojik ve Moleküler Yöntemler İle Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2015.