

## Doğu Anadolu Bölgesi'nde Bazı Memeli Türlerinde Batı Nil Virüs Enfeksiyonunun Seroepidemiolojik Olarak İncelenmesi

Turhan TURAN<sup>1\*</sup> Hakan İŞİDAN<sup>1</sup> Bünyamin İREHAN<sup>2</sup> Mustafa Ozan ATASOY<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji AD, Sivas, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü, Elazığ, TÜRKİYE

**Özet:** Batı Nil Virüsü (BNV); insanlar, atlar, kuşlar ve birçok evcil ve yabani hayvanlarda çeşitli sinirsel semptomlara neden olan, özellikle Culex cinsi sokucu sineklerle bulaşan *Flaviviridae* familyasının Flavivirus genusuna mensup bir RNA virusudur. Son yıllarda özellikle Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Asya, Afrika, Orta Doğu, Balkanlar ve Avrupa'da insanlar, atlar, köpekler ve kanatlı hayvanlarda hafif seyirli ateşli hastalıktan ölümlerle sonuçlanan menenjit ve ensefalite kadar varabilen BNV enfeksiyonlarına rastlanmaktadır. Bu çalışmada Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan 5 farklı ildeki 282 eşek ile 48 köpek ve 45 sığırdan toplanan 375 adet kan serumu örneği kullanıldı. Serum örneklerinde ticari bir competitive enzyme-linked immunosorbent assay (c-ELISA) testi kullanılarak BNV'na spesifik antikorların varlığı araştırıldı. BNV antikorları yönünden 375 örneğin 22'si (% 5.87) pozitif bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** Batı Nil Virüsü, c-ELISA, Doğu Anadolu Bölgesi, Eşek

### Seroepidemiological Study of West Nile Virus Infections in Some of Mammalian Species from the Eastern Turkey.

**Abstract:** West Nile Virus (WNV), causes neurological symptoms in human, horses, birds and a few domestic and wild animals, is an RNA virus and a member of the genus Flavivirus family *Flaviviridae* which transmits via biting midges belongs the genus culex. Recent years, in humans, horses, dogs and birds occurs WNV infections, which can be reaches from mild fever diseases to meningitis, encephalitis and consequently to death, particularly in the United States (USA), Asia, Africa and Europe. In this study, 375 samples were analyzed collected from 282 donkeys, 48 dogs and 45 cattle, from 5 different cities from Eastern Anatolian region of Turkey. WNV specific antibodies were detected in the serum samples by using a commercial competitive enzyme linked immunosorbent assay (c-ELISA) kit. As a result 22 of the 375 (5.87%) samples found to be positive for WNV antibodies.

**Keywords:** c-ELISA, Donkey, Eastern Turkey, West Nile Virus

---

\* Sorumlu Yazar: Turhan TURAN

Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Sivas, TÜRKİYE

E-mail: tturan@cumhuriyet.edu.tr

## GİRİŞ

BNV; *Flaviviridae* familyasının *Flavivirus* genusuna mensup, pozitif polariteli, tek iplikli bir RNA virusudur. BNV, Japon ensefalitis virus, St. Louis ensefalitis virus (SLEV), Murray Vadisi ensefalitis virus (MVEV), ve diğer virusları da içine alan Japon ensefalitis virus kompleksinin (veya serogrup) bir üyesidir. Bu virüsler, sivrisineklerle özellikle de *Culex* soyundan sivrisineklerle taşınan tüm dünyada geniş bir yayılım gösteren virüslerdir (5, 13, 24, 25). BNV'nun 2 ana genotip (tip 1 ve 2) vardır. Genotip 1 suşları Kuzey Amerika, Avrupa, Afrika, Asya ve Avustralya'da bulunurken tip 2 suşları sahra altı Afrika ve Madagaskar'da izole edilmiştir. Her iki genotip te virulent suşların yanı sıra asemptomatik veya hafif seyirli hastalığa sebep olan suşları da içerir (15, 23, 28).

Sivrisinekler BNV'nun ana biyolojik vektörleridir; ilaveten virus kenelerde de tespit edilmiştir ve laboratuvar şartlarında farklı sokucu sinek türleriyle yapılan denemelerde mekanik bulaşma gerçekleştirilmiştir, fakat bu türlerin vektör rolü belirsizliğini korumaktadır. Virus için birincil konak genellikle klinik belirti görülmeyen kuşlardır. Fakat İsrail ve Kuzey Amerika'da önemli kuş ölümleri gözlenmiştir. Çok sayıda omurgalı BNV ile enfekte olabilir, klinik hastalık öncelikle insanlar ve atları etkiler (12).

Bu çalışma Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesindeki 5 ilde yetiştirilen eşekler ile köpek ve sığırlardaki BNV antikorlarını serolojik olarak ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

## MATERYAL VE METOD:

Çalışma, Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi'ndeki 5 ilde 282 adet sağlıklı eşek ile Elazığ'daki 48 adet sağlıklı köpek ve 45 adet sağlıklı sığır üzerinde yapıldı. Hayvanlar rastgele seçildi ve hiçbiri aşılmış değildi. Kan numuneleri, V. jugularise girilmek suretiyle antikoagülansız tüplere alındı. Kan örnekleri 3000 rpm.'de 10 dakika santrifüj edilmek suretiyle serumları ayrıldı ve steril tüplere transfer edilerek analizler için kullanılmaya kadar -20 °C'de depolandı. Ticari bir competitive ELISA (c-ELISA) Kiti (ID Screen® West Nile Competition Multi-species ID.VET, Montpellier, France) kullanıldı ve test üretici firmanın direktifleri doğrultusunda gerçekleştirildi. Pleytler bir ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda okundu ve sonuçlar hesaplandı. Şüpheli örnekler c-ELISA ile tekrar test edildi.

## BULGULAR

Bu çalışmada toplam 375 serum örneği BNV'na spesifik antikorlar yönünden test edildi. Test sonuçlarına göre eşeklerin % 6,74'ü (n=19) BNV spesifik antikorlar yönünden pozitif, % 93,26'sı (n=263) ise negatifti. Eşeklerde BNV'na karşı en yüksek antikor yanıt Şırnak ilinde ölçülürken (% 17,24) en düşük antikor yanıt ise sırasıyla Elazığ (% 3,33) ve Siirt (% 1,75) illerinde ölçüldü. Aynı şekilde Elazığ'daki sığırların % 4.44'ü (n=2) pozitif, % 95.56'sı (n=43) negatif; köpeklerin % 2.08'i pozitif % 97.92'si negatifti. (Tablo 1).

**Tablo 1.** BNV'na spesifik antikorların illere göre dağılımı

Şehir	Hayvan Türü	Test edilen serum sayısı	BNV Antikor Pozitif (%)	BNV Antikor Negatif (%)
<b>Elazığ</b>	Eşek	60	2 (3.33)	58 (96.67)
	Köpek	48	1 (2.08)	47 (97.92)
	Siğir	45	2 (4.44)	43 (95.56)
<b>Hakkâri</b>	Eşek	49	3 (6.12)	46 (93.88)
<b>Siirt</b>	Eşek	57	1 (1.75)	56 (98.25)
<b>Şırnak</b>	Eşek	58	10 (17.24)	48 (82.76)
<b>Van</b>	Eşek	58	3 (5.17)	55 (94.83)
<b>Total</b>		<b>375</b>	<b>22 (5.87)</b>	<b>353 (94.13)</b>

**Şekil 1.** Örnek Toplanan Alanlar

### TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada halk elinde yük hayvanı olarak kullanılan ve sağlıklı görünümlü eşeklerde BNV'na karşı ortalama seropozitiflik % 6,74 (282/19) olarak tespit edilmiştir. İllere göre en düşük seropozitiflik % 1,75 oran ile Siirt'de, en yüksek % 17,24 oran ile de Şırnak'da tespit edilmiştir. Çalışmamızda eşek kan serumlarında elde edilen bu oranlarla uyumlu olarak İspanya'da Jiménez-Clavero ve ark. (19) atlarda % 9,02 (144/13), Bocanegra ve ark. (8) % 13,33 (165/22); Hırvatistan'da Barbić ve ark. (7) % 3,43; Ziegler ve ark. (33), Ukrayna'da 14 farklı şehirden 301 adet sağlıklı atlardan toplanan kan serumlarında ortalama seropozitifliğin % 13,5 olduğunu bildirmişlerdir. Nijerya'da ise Baba ve ark. (6), bu oranları atlarda % 11,5, eşeklerde % 8,6 olarak bildirmişlerdir.

Ancak, Polonya’da Hubálek ve ark. (16), 2008 yılında yayınladıkları çalışmalarında Plak Redüksiyon Nötralizasyon Mikrotest ile 78 adet at kan serumunun; 2013 yılında yayınladıkları çalışmalarında (17) ise Çek Cumhuriyeti’nde yine Plak Redüksiyon Nötralizasyon Mikrotest ile 163 adet at kan serumunun hiçbirinde BNV varlığını gösteren seropozitifliğe rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Yine aynı şekilde çalışmamızda eşeklerden elde etmiş olduğumuz değerlerin oldukça aşağısında seropozitifliğin tespit edildiği çalışmalar da mevcuttur. Nitekim; Ziegler ve ark. (32), Almanya’nın farklı eyaletlerinden 2005-2011 yıllarını kapsayan izleme çalışmasında topladıkları kan serumlarında yabancı kanatlılarda seropozitifliği % 4,67 olarak tespit etmişken 1282 adet at kan serumunun sadece 4’ünde BNV’na spesifik antikora rastladıklarını (% 0,31), bunlardan da 3’ünün BNV’na karşı aşılı olduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Kuwahara ve ark. (22), 2012 yılında yayınladıkları makalede 2006-2010 yılları arasında Japonya’nın doğu ve batısında bulundan 2 bölgeden 2-5 yaş arasında değişen toplam 4000 at serumu topladıklarını ve seropozitifliği % 0,43 olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Özellikle ülkemizden daha güneyde yer alan İsrail, Ürdün, Birleşik Arap Emirlikleri ve Tunus gibi ülkelerde at, eşek ve katır gibi tek tırnaklılarda oranların çalışmamızda elde edilen oranlardan oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir. Aharonson-Raz ve ark. (2), İsrail’in çeşitli bölgelerinden topladıkları 1997 yılında 290, 2002 yılında 827 ve 2013 yılında 179 adet aşılammış at serum örneklerini c-ELISA ve serum nötralizasyon testleri ile tarayarak WNV’nin zamansal ve mekânsal dağılımı ortaya çıkarmışlardır. Çalışmada seroprevalansın %39’dan %85,5’e artış gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmada ülkenin göçmen kuşların geçtiği endemik bölgeler ve siklus gösteren epidemik bölgeler olarak ayrılabilceği kanısına varmışlardır. Abutarbush ve ark. (1), 2013 yılında yaptıkları çalışmada Ürdün’de c-ELISA testi ile sağlıklı 253 atın 63’ünde (% 24,9) pozitiflik tespit etmişlerdir. Wernery ve ark. (29), 2007 yılında Birleşik Arap Emirlikleri’nde toplam 6 bölgeden 750 at serumu IgG capture ELISA ve ve IgM ELISA ve serum nötralizasyon testleri ile taramış, 144 serum örneğinin (%19,2) BNV spesifik antikor bulundurduğunu bildirmişlerdir. Bargaoui ve ark. (9), 2015 yılında yayınladıkları çalışmada Tunus’da BNV’nun ülke çapındaki serolojik durumunun ortaya çıkarılması amacıyla, 2009 yılında toplanmış at, eşek ve katıra ait toplam 1189 serum örneğini ELISA ve mikronötralizasyon testleri ile test ettiklerini, sonuçta prevalansı %28 olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Orta ve Güney Amerika’da da benzer şekilde yüksek prevalans oranları (%26 – %48,2) bildirilmiştir (10, 18, 27).

Ülkemizin kuzey bölgelerinde yapılan çalışmalar özellikle Orta Karadeniz Bölgesi’nde yoğunlaşmış, Yazıcı ve ark. (30), Orta Karadeniz Bölgesi’nde 120 adet at kan serumu örneğinde RT-PCR testi ile herhangi bir pozitif bulguya rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Albayrak ve Özan (4), 2010 yılında Kızılırmak Deltası’nı kapsayan alanda 27 farklı kuş türüne ait toplam 233 adet swap ve organ örneğinde RT-PCR testi ile BNV’a ait nükleik asit tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Yine Albayrak ve Özan (5), 2013 yılında Samsun ilinde 5 farklı herbivor türünü (at, sığır, manda, koyun ve keçi) kapsayan toplam 350 adet kan serumu üzerinde c-ELISA testiyle gerçekleştirdikleri çalışmada sadece 2 adet keçide seropozitifliğe rastladıklarını bildirmişlerdir. Ancak ülkemizin Orta ve Batı bölgelerinde yapılan çalışmalarda farklı hayvan türlerinde oldukça yüksek seropozitiflikler bildirilmiştir. Özkul ve ark. (26), Orta Anadolu’da (Ankara ve Eskişehir) rastgele örnekleme yöntemiyle 180 adet at serumu örneğinin 57’sinde (% 31,6) Plaque Reduction Neutralisation Test (PRNT) ile BNV’na spesifik antikor tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Erol ve ark. (14), Batı Anadolu’da Aydın, Denizli, İzmir ve Manisa illerini kapsayan çalışmalarında Deve, İnsan, At ve Sığırlarda sırasıyla % 44, % 41,1, % 32 ve % 20 pozitiflik tespit etmişlerdir.

Ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesi’nden elde edilen sonuçlar bizim elde etmiş olduğumuz sonuçlarla uyumlu bulunmuştur. Şöyle ki; Ergünay ve ark. (13), Kars, Van ve Şanlıurfa ve Mersin

illerini kapsayan ve Plaque Reduction Neutralisation Test (PRNT) ile yaptıkları çalışmada sırasıyla 423 ördek kan serumunun 42'sinde (% 9,9), 389 at kan serumunun 48'inde (%12,3) ve 102 koyun kan serumunun 2'sinde (% 1,9) seropozitiflik tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Özellikle Van ilinde atlardaki seropozitiflik oranını % 10,5 olarak bildirmişlerdir. Kale ve ark. (20), Elazığ ve Tunceli illerinden topladıkları eşek kan serumlarında c-ELISA testiyle yapmış oldukları çalışmada 234 eşek kan serumunun 3'ünde (% 1,28) pozitif sonuç bulduklarını bildirmişlerdir. Bizim Elazığ ilinde eşeklerde elde etmiş olduğumuz sonuç % 3,33'tür.

Bu sonuçlar ülkemizde bölgeler arasında seropozitiflik oranlarında oldukça büyük farklılıklar olduğunu göstermektedir. Bazı ülkelerde de benzer sonuçlar alınmıştır. Padilla ve ark. (27), Meksika'nın Chiapas ve Puebla eyaletlerinde daha önce semptom göstermemiş ve aşılammış 272 tek tırnaklıdan alınan serum örneklerini IgG ELISA kiti ile BNV yönünden taramışlar, daha sonra PRNT ile spesifite tayini yapmışlardır. Çalışmada güneydeki yükseltinin daha az olduğu ve daha sıcak olan Chiapas eyaletinde % 53.3, daha kuzeyde, yükseltinin fazla olduğu ve karasal iklimin hüküm sürdüğü Puebla eyaletinde %8.0 oranında BNV spesifik antikor tespit edilmiştir. Ahmadnejad ve ark. (3), 2011 yılında yayınladıkları çalışmada 2008-2009 yılları arasında İran'da 27 ile bağlı 260 bölgeden toplanan 1054 tek tırnaklı serumunu c-ELISA ile taramışlar, daha sonra IgM capture ELISA ve PRNT metotları ile tekrar test etmişlerdir. Sonuçta ortalama prevalans değerini %24 olarak ifade etmişler, prevalansın %1-88 arasında değiştiğini ve kuru olan güney ikliminde prevalansın yükseldiğini ortaya koymuşlardır.

Çalışmamıza Elazığ ilinde 45 adet sığır kan serumunun 2'sinde (% 4,44) pozitiflik tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılmış olan 3 adet çalışmanın birinde pozitiflik tespit edilemezken (5) diğer 2 çalışmada % 20 gibi çalışmamızda elde etmiş olduğumuz sonuçtan oldukça yüksek bir sonuç (14) ve %4 gibi çalışmamızda elde etmiş olduğumuz sonuca yakın sonuçlar da bildirilmiştir (25). Diğer ülkelerde de sığırlarda BNV'nun varlığına ve/veya yokluğuna ilişkin bildirimler yapılmıştır (7, 19).

Ülkemizde köpeklerle ilgili sadece bir çalışmaya rastlanmıştır. Özkul ve ark (25), İzmir ve Muğla illerinde 114 köpek üzerinde PRNT ile % 37,71 oranında pozitiflik saptamışlar ve bunun sebebinin düşük hijyenik koşullar, yoğun sivrisinek aktivitesi ve barınaklardaki yüksek yoğunluktaki hayvan varlığına bağlı olabileceğini bildirmişlerdir. Dünyada da köpeklerde BNV'nun varlığına ilişkin yayınlar bulunmaktadır (11, 21, 31).

Sonuç olarak çalışmamızda Doğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan Elazığ, Hakkâri, Siirt, Şırnak ve Van illerini kapsayan bölgede 3 farklı hayvan türünde (Eşek, sığır ve köpek) BNV'na karşı seropozitifliğin mevcut olduğu, ülkemizde ve dünyada bu virusun prevalansının bölgelere göre büyük farklılıklar gösterdiği, bunun bölgesel/yerel iklimsel koşullar ve buna bağlı sivrisinek aktivitesi, hijyenik koşullar ve daha bir çok sebebe bağlı olabileceği söylenebilir. Ancak ülkemizde BNV'nun prevalansının tam olarak saptanabilmesi için daha geniş çaplı; sivrisinek türü ve yoğunluğu, bölgesel iklim koşulları, hijyenik koşullar, mevsimsel değişimler ve daha fazla hayvan türü gibi çok sayıda değişkenin sorgulandığı çalışmalara ihtiyaç bulunduğu söylenebilir.

## KAYNAKLAR

1. **Abutarbush, S. M. and Al-Majali A.M,** (2014). West Nile virus infection in horses in Jordan: clinical cases, seroprevalence and risk factors. *Transbound Emerg Dis* 61:1-6.
2. **Aharonson-Raz, K., Lichter-Peled, A., Tal, S., et al.** (2014). Spatial and temporal distribution of West Nile virüs in horses in Israel (1997-2013) from endemic to epidemics. *PLoS One* 2014 Nov 17;9(11):e113149.

3. **Ahmednejad, F., Otarod, V., Fallah, M.H., Lowenski, S., Sedighi-Oghaddam, R., Zavareh, A., Durand, B., Lecollined S. and Sabatier P.** (2011) Spread of West Nile virus in Iran: a cross-sectional serosurvey in equines, 2008–2009. *Epidemiol. Infect.* (2011), 139, 1587–1593.
4. **Albayrak, H. Özán, E.** (2010). Molecular Detection of Avian Influenza Virus but not West Nile Virus in Wild Birds in Northern Turkey. *Zoonoses Public Health.* 57 (2010) e71–e75.
5. **Albayrak, H. Özán, E.** (2013). Seroepidemiological Study of West Nile Virus and Rift Valley Fever Virus in Some of Mammalian Species (Herbivores) in Northern Turkey. *J Arthropod-Borne Dis,* June 2013, 7(1): 90–93.
6. **Baba, S. S., NNadi, O.D., Hamman, K.D., Saidu, A., El Yuguda, A., Oderinde B. S.** (2014). Preliminary study on the prevalence of West Nile virus antibody among horses, donkeys and camels in Borno State, Nigeria. *J. Appl. Virol* 3:39-45.
7. **Barbić, L., Listeš, E., Katić, S., Stevanović, V., Madić, J., Starešina, V., Labrović, A., Di Gennaro, A., Savini G.** (2012). Spreading of West Nile virus infection in Croatia. *Vet Microbiol* 159:504-508.
8. **Bocanegra I. G., Arenas-Montes A, Jaén-Téllez J. A., Napp, S., Fernández-Morente, M., Arenas, A.** (2012). Use of sentinel serosurveillance of mules and donkeys in the monitoring of West Nile virus infection. *Vet J* 194:262-264.
9. **Bargaoui, R., Lecollinet, S., Lancelot, R.** (2015). Mapping the prevalence rate of West Nile fever in equids, Tunisia. *Transbound. Emerg. Dis.* 2015 Feb;62(1):55-66.
10. **Burgueño, A., Spinsanti, L. Díaz, L. A., Rivarola, M. E., Arbiza, J., Contigiani, M. and Delfraro A.** (2013). Seroprevalence of St. Louis Encephalitis Virus and West Nile Virus (Flavivirus, Flaviviridae) in horses, Uruguay. *BioMed Research International* Volume 2013 (2013), Article ID 582957, 5 pages.
11. **Blackburn, N. K., Reyerst, F., Berry W. L. and Shepherd A. J.** (1989) Susceptibility of Dogs to West Nile Virus: A Survey and Pathogenicity Trial *J. Comp. Path.* 1989 Vol. 100, 59-66.
12. **Engler, O., Savini, G., Papa, A., Figuerola, J. et al.** (2013). European Surveillance for West Nile Virus in Mosquito Populations. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2013, 10, 4869-4895.
13. **Ergünay, K., Günay, F., Erisoz Kasap, Ö., Öter, K., Gargari, S., Karaoğlu, T., Tezcan, S., Çabalar, M., Yıldırım, Y., Emekdaş, G., Alten, B., Özkul A.** (2014). Serological, Molecular and Entomological Surveillance Demonstrates Widespread Circulation of West Nile Virus in Turkey. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, July 2014, Volume 8, Issue 7, e3028.
14. **Erol, N., Gürçay, M., Kırdar, S., Ertuğrul, B., Gür, S., Koç, B.T. and Tan, M.T.** (2016). A Serological Investigation of West Nile Virus Infections in Various Animal Species and Humans in Western Turkey. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, Vol. 71 (2), June 2016, 42-46.
15. **MacLachlan, N. J., Dubovi, E. J., et. Al.** (2017). *Fenner's Veterinary Virology Fifth Ed.*, Chapter 29, Flaviviridae, West Nile Virus. Academic Press is an imprint of Elsevier 125 London Wall, London EC2Y 5AS, United Kingdom, p533-535.
16. **Hubálek, Z., Wegner, E., Halouzka, J., et al.** (2008). Serologic Survey of Potential Vertebrate Hosts for West Nile Virus in Poland. *Viral Immunology*, Volume 21, Number 2, 2008, 247-253.
17. **Hubalek Z, Ludvikova E, Jahn P, Tremel, F., Rudolf, I., Svobodová, P., Šikutová, S., Betášová, L., Bíreš, J., Mojžíš, M., Tinák, M., Boldižár, M., Citsoňová, G. and Staššíková, Z.** (2013). West Nile Virus equine serosurvey in the Czech and Slovak Republics. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2013, 13:733-7388.
18. **Ibarra-Juarez, L., Eisen, L., Bolling, B. G., et al.,** (2012). Detection of West Nile virus-specific antibodies and nucleic acid in horses and mosquitoes, respectively, in Nuevo Leon State, northern Mexico, 2006-2007. *Med Vet Entomol* 26:351-354.

19. **Jimenez-Clavero, M. A., Gomez-Tejedor, C., Rojo, G., et al.,** (2007). Serosurvey of West Nile virus in equids and bovids in Spain. *Vet Rec* 161:212.
20. **Kale M., Gür S., Yapıcı O., Mamak N., Yavru S., Hasircioğlu S., Bulut O. and Gürçay M.** (2017). Serological Investigation of West Nile Virus Infection in Domestic Horses and Donkeys in Turkey. *Pak Vet J*, 2017, 37(1): 51-54.
21. **Kutasi, O., Bakonyi, T., Lecollinet, S., Biksi, I., Ferenczi, E., Bahuon, C., Sardi, S., Zientara, S. and Szenci O.** (2011). Equine Encephalomyelitis Outbreak Caused by a Genetic Lineage 2 West Nile Virus in Hungary. *J Vet Intern Med* 2011;25:586–591.
22. **Kuwahara, M., Kitai, Y., Kondo, T. and Konishi, E.** (2012). Survey on antibodies specific for West Nile virus in horses from 2006 to 2010 in Japan. *Jpn J Infect Dis* 65:553-555.
23. **Lanciotti, R.S., Ebel, G. D., Deubel, V., Kerst, A. J., et al.** (2002). Complete Genome Sequences and Phylogenetic Analysis of West Nile Virus Strains Isolated from the United States, Europe and the Middle East. *Virology* 298, 96-105 (2002).
24. **Mackenzie, J. S., Barrett, A. D. T., Deubel, V.** (2002). The Japanese encephalitis serological group of flaviviruses: a brief introduction to the group. *Curr Top Microbiol.* 267: 1–10. 2002.
25. **Özkul, A., Yıldırım, Y., Pınar, D., Akçalı, A., Yılmaz V. and Çolak D.** (2006). Serological evidence of West Nile Virus (WNV) in mammalian species in Turkey. *Epidemiol. Infect.* (2006), 134, 826–829.
26. **Özkul, A., Ergünay, K., Köysüren, A., Alkan, F., Arsava, E. M., Tezcan, S., Emekdaş, G., Hacıoğlu, S., Turan, M., Us, D.** (2013). Concurrent occurrence of human and equine West Nile virus infections in Central Anatolia, Turkey: the first evidence for circulation of lineage 1 viruses. *International Journal of Infectious Diseases* 17 (2013) e546-e551.
27. **Padilla, J. A., Loza-Rubio, E., Escribano-Romero, E., Cordoba, L., Cuevas, S., Mejia, F., Calderon, R., Milian, F., Travassos da Rosa, A., Weaver, S. C., Estrada-Franco J. G. AND Saiz J. C.** (2009). The continuous spread of West Nile virus (WNV): seroprevalence in asymptomatic horses. *Epidemiol. Infect.* (2009), 137, 1163–1168.
28. **Tosun, S.** (2012). Batı Nil virüs enfeksiyonu (Review). *Deneyisel ve Klinik Tıp Dergisi - Journal of Experimental and Clinical Medicine* 29 (2012) S183-S192.
29. **Wernery, U., Kettle, T., Moussa, M., Babiker, H. And Whiting, J.** (2007). West Nile Fever in the United Arab Emirates. *Wildlife Middle East News*, Volume 2, Issue 3, December 2007.
30. **Yazıcı, Z., Albayrak, H., Özan, E., Gümüşova S.** (2012). 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): 151–155.
31. **Zeller, H. G., Schuffenecker, I.** (2004). 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) 23:147–156.
32. **Ziegler, U., Seidowski, D., Angenvoort, J., Eiden, M., Müller, K., Nowotny N. and Groschup M. H.** (2011). Monitoring of West Nile Virus Infections in Germany. *Zoonoses Public Health* 59 (Suppl. 2) (2012) 95–101.
33. **Ziegler, U., Skrypnik, A., Keller, M., Staubach, C., Bezymennyi, M., Damiani, A. M., Osterrieder N. and Groschup M. H.** (2013). West Nile Virus Antibody Prevalence in Horses of Ukraine. *Viruses* 2013, 5, 2469-2482.