

ANKARA BÖLGESİNDE NEDENİ BİLİNMEYEN MERKEZİ SİNİR SİSTEMİ ENFEKSİYONLARINDA BATI NİL VİRUSUNUN ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF WEST NILE VIRUS IN CENTRAL NERVOUS SYSTEM INFECTIONS OF UNKNOWN ETIOLOGY IN ANKARA, TURKEY

Koray ERGÜNAY¹, Sibel AYDOĞAN¹, Dilek MENEMENLİOĞLU², Burçin ŞENER¹,
Sabine LEDERER³, Katja STEINHAGEN³, Gülşen HASÇELİK¹, Ahmet PINAR¹,
Aykut ÖZKUL², Dürdal US¹

¹ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara. (ekoray@hacettepe.edu.tr)

² Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Ankara.

³ Euroimmun AG, Lübeck, Almanya.

ÖZET

Son yıllarda, tüm dünyada artropodlarla bulaşan virusların neden olduğu enfeksiyonlar yeniden önem kazanan hastalıklar olarak karşımıza çıkmaktadır. *Flaviviridae* ailesinde sınıflandırılan ve zarflı, pozitif iplikli bir RNA virusu olan Batı Nil virusu (BNV), insana sıklıkla *Culex* cinsi sivrisineklerin ısırmasıyla bulaşır. BNV enfeksiyonlarının çoğu asemptomatik olarak geçirilebileceği gibi, ateşli hastalık ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonları da ortaya çıkabilir. Ülkemiz kaynaklı seroprevalans verileri, İç Anadolu bölgesinde sporadik virus aktivitesine işaret etmektedir. Bu çalışmada, Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesinde aseptik/viral menenjit/enfalelit ön tanısıyla incelenmiş ve etyolojisi açıklanamamış (fungal, bakteriyel ve mikobakteriyel kültürler negatif; *Mycobacterium tuberculosis* ve Herpes simpleks virus nükleik asit testleri negatif) olgulardan eş zamanlı olarak alınan 87 beyin omurilik sıvısı (BOS) ve serum örneği çifti, BNV enfeksiyonu açısından retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Örneklerde BNV IgM ve IgG antikorları ticari enzim (ELISA) ve immünofloresans (IFA) temelli indirekt katı faz yöntemleriyle (Anti-WNV Virus IgG/IgM ELISA, Anti-WNV Virus IgG/IgM IIFT; Euroimmun, Almanya) araştırılmıştır. Antikor pozitifliği saptanan örneklerde, gerçek zamanlı ters transkripsiyonlu polimeraz zincir reaksiyonu (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction; RT-PCR) ve diğer patojenik Flavivirus ve Flebovirus enfeksiyonları ve/veya çapraz reaksiyonları ortaya çıkarmaya yönelik ELISA/IIFT testleri uygulanmıştır. Çalışmamızda, incelenen 87 serum örneğinin 8 (%9.2)'inde BNV IgM antikorları ve 3 (%3.4)'ünde BNV IgG antikorları pozitif olarak bulunmuştur. IgG pozitif örneklerin tamamı IgM açısından negatiftir. Seksen yedi BOS örneğinin ise hiçbirisinde BNV IgM ve/veya IgG pozitifliği saptanmamıştır. Antikor pozitifliği belirlenen serum örnekleri (n= 11) ile bu örneklerin ait olduğu hastalara ait BOS örneklerinin hiçbirisinde RT-PCR ile viral RNA varlığı izlenmemiştir. BNV IgM pozitif bulunan 8 olgunun beşinde tatarcık humması viruslarına karşı da IgM pozitifliği saptanmış, bunlardan birisinde ek olarak Dengue virusu IgM'si de pozitif bulunmuştur. Bir ol-

guda ise, kızamık IgG BOS/serum antikor indeksi sonucuna göre kızamık virusuna karşı intratekal antikor sentezi olduğu belirlenmiştir. Geri kalan 2 (2/87; %2.3) olguda saptanan BNV IgM pozitifliği, tek serolojik belirteç olarak tespit edilmiş ve bu olgular muhtemel BNV enfeksiyonu olarak tanımlanarak tartışılmıştır. Sonuç olarak, ülkemizde BNV ve diğer flaviviruslara bağlı hastalıkların yaygınlık ve öneminin ortaya konulması için, bu etkenlerin ekolojik ve epidemiyolojik özelliklerinin daha ayrıntılı olarak açıklanması gerekmektedir.

Anahtar sözcükler: Batı Nil virusu, menenjit, ensefalit, ELISA, IIFT, RT-PCR, Türkiye.

ABSTRACT

Arthropod-borne viral infections have recently gained considerable attention and importance as re-emerging infections in a global scale. West Nile Virus (WNV), a member of *Flaviviridae*, is an enveloped positive strand RNA virus that is usually transmitted to humans by the bite of *Culicine* mosquitoes. Although the majority of the human infections are asymptomatic, WNV may also cause febrile and neuroinvasive diseases. Seroprevalence data from Turkey indicate that WNV activity is present in Central Anatolia. In this study performed at Hacettepe University Hospital, paired serum and cerebrospinal fluid (CSF) samples from 87 adult patients with the preliminary diagnosis of aseptic meningitis/encephalitis of unknown etiology were evaluated retrospectively to identify WNV-related syndromes. Bacterial, fungal and mycobacterial cultures yielded negative results and *Mycobacterium tuberculosis* and Herpes simplex virus nucleic acid tests were also negative for the selected patients. Commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)s and indirect immunofluorescence test (IIFT)s were employed for WNV IgM and IgG antibody detection (Anti-WNV Virus IgG/IgM ELISA, Anti-WNV Virus IgG/IgM IIFT; Euroimmun, Germany). Additional ELISA/IIFT assays were further performed for WNV antibody reactive samples to identify cross-reactions and/or infections with other flaviviruses and phleboviruses. All WNV antibody positive samples were also evaluated by a WNV real-time reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) assay. WNV IgM and IgG antibodies were detected in %9.2 (8/87) and 3.4% (3/87) of the serum samples, respectively. All IgG reactive samples were negative for IgM. All sera with WNV antibody reactivity (n= 11) and the corresponding CSF samples were negative for viral RNA via RT-PCR. In 5 of the 8 WNV IgM positive subjects, sandfly fever virus IgM antibodies were detected, which was also accompanied by Dengue virus IgM positivity in one sample. In another case, intrathecal antibody synthesis against measles virus was demonstrated. Two cases (2/87; 2.3%) with WNV IgM positivity as the only serologic marker were identified as probable WNV infections and clinical features were discussed. In conclusion, in order to fully understand the impact of WNV and/or other flavivirus infections in Turkey, epidemiology and ecological features of these agents need to be established.

Key words: West Nile Virus, meningitis, encephalitis, ELISA, IIFT, RT-PCR, Turkey.

GİRİŞ

Günümüzde artropod vektörlerle bulaşan hastalıklar, yeniden ortaya çıkan enfeksiyonlar şeklinde önemli halk sağlığı sorunları olarak karşımıza çıkmaktadır. Sıklıkla sivrisinek sokması sonucu insana bulaşan Batı Nil virusu (BNV), *Flaviviridae* ailesi *Flavivirus* cinsinde Japon ensefaliti serokompleksinde sınıflandırılan bir virustur. BNV virionları, diğer flaviviruslar gibi yaklaşık 11 kb'lik pozitif polariteli RNA genomu taşıyan 40-60 nm büyüklüğünde, zarflı, sferik partiküllerdir¹. Virusun doğal enfeksiyon döngüsünde *Culex* cinsi sivrisinekler ve rezervuar olarak çeşitli kuş türleri yer alır. İnsanlar ve diğer memeliler, virusun yaşam döngüsünde son konak olarak bulunur; bu türlerde semptomatik enfek-

siyonlar ortaya çıkmasına karşın viremi genellikle düşük düzeyli ve geçicidir². İnsanlarda görülen BNV enfeksiyonlarının önemli bir bölümü asemptomatik serokonversiyonla sonlanmasına karşın; virüsle karşılaşan kişilerin yaklaşık %20'sinde "Batı Nil Ateşi" adı verilen ateş, baş ağrısı ve miyalji ile karakterize klinik tablo ortaya çıkar. Enfeksiyonların yaklaşık 1/150'sinde ise meningoensefalit ve ciddi nöroinvazif hastalık gelişmektedir¹.

1999 yılına kadar BNV'nin coğrafi dağılımı Afrika ülkeleri, Ortadoğu, Hindistan, batı ve orta Avrupa ile sınırlı olmasına karşın; virüs bu yılda Amerika Birleşik Devletleri'nde ilk kez saptanmış ve geçen zaman içinde tüm kıtaya hızla yayılarak önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir¹. BNV için endemik kabul edilebilecek bir coğrafyada bulunan ülkemizde ise konuyla ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır³⁻⁸. Virusun Türkiye'deki aktivitesine ilişkin ilk veriler Ari ve Meço tarafından yapılan hemaglutinasyon inhibisyon (HI) çalışmalarında, gruba özgül antikor varlığı şeklinde rapor edilmiştir^{3,4}. Buna göre antikor prevalansı Batı Anadolu'da insanlarda %6, koyunlarda %1.5 olarak tespit edilmiş; randomize olarak seçilen 937 kişide ise bölgelere göre Diyarbakır'da %40.5, Mardin'de %47.8, Siirt'te %44.8, Şanlıurfa'da %38 ve Elazığ'da %41.2 olarak bildirilmiştir^{3,4}. Bu oldukça yüksek oranların, flaviviruslar arasına izlenen ve gruba özgül testlerde ortaya çıkan antijenik çapraz reaksiyonlara bağlı olması kuvvetle muhtemeldir⁹. Serter'in Ege bölgesi kaynaklı çalışmasında HI yöntemiyle incelenen 1074 kişinin %29.1'inde BNV antikorları saptanmış, bunun %74'lük bir bölümü de nötralizasyon testiyle doğrulanmıştır⁵. Özkul ve arkadaşları⁶ da ülkemizin çeşitli bölgelerinde memeli türlerinde virüs maruziyetini doğrulamış ve insanlarda seroprevalansı %20.4 olarak belirlemiştir. Güneydoğu Anadolu bölgesi Şanlıurfa ve Siverek'te grubumuzun yaptığı bir çalışmada ise BNV nötralizan antikorları %9.4 oranında saptanarak bu bölgedeki virüs aktivitesi doğrulanmıştır⁷. Diğer bir çalışmamızda ise Ankara bölgesinde virüs aktivitesi yeniden gösterilmiş, ayrıca Konya, Yozgat ve Sivas'ta yaşayan kişilerde de maruziyet tespit edilerek Orta Anadolu bölgesinde kan donörlerinde seroprevalans %0.56 olarak saptanmıştır⁸. Görüldüğü gibi, ülkemizin çeşitli bölgelerindeki çalışmalarda BNV aktivitesinin varlığı saptanmış olmasına karşın, enfeksiyonun klinik seyri ve oluşturduğu hastalıklar konusunda çok kısıtlı bilgi bulunmaktadır¹⁰. Bu çalışmada, hastanemizde nedeni bilinmeyen aseptik menenjit/ensefalit ön tanısı almış olgularda BNV'nin rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu retrospektif çalışmada, Nisan-Ekim 2009 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi Klinik Patoloji Laboratuvarlarına aseptik/viral menenjit/ensefalit ön tanısıyla incelenmek üzere gönderilen ve herhangi bir etyolojik ajan saptanamayan toplam 87 beyin omurilik sıvısı (BOS) ve serum ikilisi örnekleri değerlendirildi. Örneklerin hiçbirisinde fungal/bakteriyel etkenler ve *Mycobacterium tuberculosis* için yapılan kültürlerde üreme olmamış; *M.tuberculosis* ve Herpes simpleks virüsleri için uygulanan nükleik asit testleri negatif olarak saptanmıştı.

Örneklerin ait olduğu hastaların demografik verileri, laboratuvar test sonuçları ve klinik izlem durumları, gerektiğinde hastane kayıtları ve hasta dosyalarından elde edildi.

Küçük hacimlere bölünerek -80°C 'de saklanan örneklerde BNV IgM ve IgG antikorlarının araştırılması için enzim (ELISA) ve immüno Floresans (IFA) temelli indirekt katı faz yöntemleri, üretici firmanın önerileri doğrultusunda (Anti-WNV Virus IgG/IgM ELISA, Anti-WNV Virus IgG/IgM IIFT; Euroimmun, Almanya) kullanıldı. IgG ELISA sonuçları kantitatif olarak (Relative Units/ml; ≥ 22 olduğunda pozitif), IgM ELISA sonuçları ise semikantitatif (Sample/Cutoff; ≥ 1.1 olduğunda pozitif) olarak elde edildi. IFA testleri için 1/10 serum sulandırımı kullanıldı ve sonuçlar floresans mikroskopunda pozitif ve negatif kontrol serumları ile birlikte değerlendirildi.

BNV antikorları pozitif bulunan örneklerde diğer patojenik flavivirus ve flebovirus enfeksiyonları ve/veya çapraz reaksiyonları ortaya çıkarmaya yönelik olarak diğer ELISA/IFA testleri (Anti-TBE Virus IgM/IgG ELISA; Anti-Dengue Virus IgM/IgG ELISA; Anti-Yellow Fever Virus IgG/IgM IIFT, Anti-Sandfly Fever Virus IgG/IgM IIFT, Anti-Measles Virus IgG Serum/CSF; Euroimmun, Almanya) yine üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulandı.

BNV IgM pozitif serum ve BOS örnekleri ek olarak viral RNA varlığı açısından gerçek zamanlı ters transkripsiyonlu polimeraz zincir reaksiyonu (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction; RT-PCR) ile incelendi. Bu amaçla BNV 15803 izolatına ait diziler (GeneBank ulaşım kodu: FJ483549) kullanılarak geliştirilmiş "forward" primer, WNV/F/9514 (5'-CTAAACACTTTCACCAACC-3'); "reverse" primer, WNV/R/9640 (5'-TCTCTCTTCCCCATTCTC-3') ve "TaqMan" probu WNV/Pr/9549 (FAM-5'-CCTTCCCCTTCATCATCCTC-3'-BHQ1) kullanıldı⁷. Klinik örneklerden nükleik asit izolasyonu standart fenol-kloroform yöntemiyle yapıldı. PCR karışımı; saflaştırılan nükleik asitlerden 5 μl , her primerden 0.6 μM ve probdan 0.2 μM içerecek şekilde; ticari bir RT-PCR sistemi (QuantiTect Probe RT-PCR kit, Qiagen, Almanya) kullanılarak hazırlandı. Amplifikasyon ve saptama Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Avustralya) cihazında; ters transkripsiyon için 42°C 'de 30 dakika; 95°C 'de 8 dakikalık denatürasyon, ardından 95°C 'de 15 saniye ve 60°C 'de 60 saniyeden oluşan 45 döngüden oluşan programla gerçekleştirildi⁷. Vero hücrelerinde üretilen BNV'den izole edilen sulandırılmış RNA örnekleri ise pozitif kontrol olarak kullanıldı.

BULGULAR

İncelenen 87 serum örneğinin 8 (%9.2)'inde BNV IgM antikorları ELISA ve/veya IFA yöntemiyle pozitif olarak izlenmiş; 3 (%3.4) örnekte ise IgG antikorları her iki yöntemle de pozitif saptanmıştır. IgG pozitif örneklerin tamamı IgM açısından negatif olarak değerlendirilmiştir. BOS örneklerinin hiçbirisinde ELISA ve IFA testleri ile BNV IgM ve/veya IgG pozitifliği saptanmamıştır. Serum miktarının yetersiz olması nedeniyle antikor pozitifliği saptanan serum örneklerine viral nötralizasyon testi uygulanamamıştır.

IgM ve IgG pozitifliği saptanan tüm serumlar (n= 11) ile bunların ait olduğu hastalara ait BOS örnekleri (n= 11), BNV için gerçek zamanlı RT-PCR testine alınmış ve tümü negatif olarak bulunmuştur.

BNV IgM pozitif 8 örneğin diğer test sonuçları incelendiğinde; 5 olguda tatarcık humması grubu virüslara karşı IgM pozitifliği saptanmış, bunlardan birisinde ek olarak Dengue virüsü IgM testi de pozitif sonuç vermiştir. Bir olguda ise, kızamık IgG BOS/serum antikor indeksi sonucuna göre kızamık virüsüne karşı intratekal antikor sentezi olduğu belirlenmiştir. Geri kalan 2 (2/87; %2.3) olguda saptanan BNV IgM pozitifliği, tek serolojik belirteç olarak değerlendirilmiştir. Bu olgulardan birisi Ankara'da yaşayan 59 yaşında erkek hasta olup, yüksek ateş, ellerde ve ayaklarda uyuşma/kuvvetsizlik şikayetiyle hastaneye yatırılmıştır. Nedeni bilinmeyen viral ensefalit ve/veya Guillain-Barre sendromu ön tanısıyla takip edilen hastanın semptomlarında 5 günlük intravenöz immünoglobulin tedavisi sonrası düzelme olmuştur. Olgunun öyküsünde, bulaşma yolu konusunda ipucu sağlayacak herhangi bir risk faktörü tanımlanamamıştır¹. Diğer olgu ise yine Ankara'da yaşayan 62 yaşında kadın hastadır ve yüksek ateş, baş ağrısı ve konfüzyon şikayetleriyle yatırılarak takip edilmiştir. Bu olgunun dosyasına ulaşılamadığından klinik seyir konusunda ayrıntılı bilgi elde edilememiştir. Her iki olguda da BOS'ta lenfosit hakimiyetinde pleositoz izlenmiş ve BNV BOS/serum antikor indeksi normal sınırlarda saptanmıştır.

TARTIŞMA

BNV enfeksiyonlarında nöroinvazif hastalık, semptomatik enfeksiyonlar içinde görece olarak daha az sıklıkta meydana gelmekte; genellikle menenjit, ensefalit veya poliomyelit benzeri paralizis şeklinde semptom vermektedir^{1,11}. Bunun dışında daha nadir olmakla birlikte duyu bozuklukları, tremor/Parkinsonizm, ataksi, kranial sinir bulguları, optik nörit ve poliradikülopati de tanımlanmıştır^{1,12,13}. Merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonu olarak rapor edilen olgu sayısı; bu enfeksiyonların kayıt altına alınması, semptomların daha belirgin olması ve sağlık kuruluşlarına başvurma durumunun daha sık olması nedeniyle daha fazla olabilmektedir¹⁴. İleri yaşta olan ve organ transplantasyonu yapılan olgularda MSS enfeksiyonu riski artmaktadır; ancak diğer nedenlere bağlı immün baskılanma durumlarının da BNV ile ilişkili nörolojik hastalık ve mortalite ile ilişkili olduğunu düşündüren çalışmalar bulunmaktadır^{1,15,16}. BNV enfeksiyonlarında gastrointestinal semptomlar, makülopapüler döküntü, hepatit, pankreatit, miyokardit, pnömoni, rabdomiyozis, orşit, koryoretinit gibi nörolojik olmayan bulgular da ortaya çıkabilmektedir¹⁷⁻²².

Ülkemizde tanımlanan tek BNV olgusu Arpacı ve arkadaşları¹⁰ tarafından rapor edilmiştir. Bu olgu, akut miyeloid lösemi nedeniyle kemik iliği transplantasyonu yapılan ve takibinde graft-versus-host hastalığı gelişen 40 yaşında bir erkek hastadır. Hastalığın düzelmesinin ardından yüksek ateş, baş ağrısı ve ekstremitelerde kuvvet kaybı ortaya çıkmış; çeşitli enfeksiyon etkenleri ve lösemi relapsı için yapılan testlerin negatif bulunmasını takiben kanda BNV RT-PCR testi pozitif sonuç vermiştir. Olgunun durumu semptomatik destekleyici tedaviyle düzelmiş ve komplikasyon izlenmemiştir¹⁰. Bizim çalışmamızda, hastaların sekizinin serum örneğinde BNV IgM pozitifliği saptanmış; bunlardan beşinde ek olarak tatarcık humması grubu virüslara (birinde ek olarak Dengue virüsüne) karşı da IgM antikor varlığı tespit edilmiştir. Bir hastamızda ise kızamık virüsüne karşı intratekal antikor sentezinin belirlenmesi, MSS bulgularının kronik veya persistan ki-

zamık enfeksiyonuna bağlı olduğunu düşündürmüştür. Bahsedilen bu 6 olgudaki BNV IgM pozitifliğinin, diğer viruslarla enfeksiyona işaret eden bulgularla birlikte saptanmış olması nedeniyle, olgularda izlenen semptomların BNV ile direkt ilişkisinin zayıfladığı; muhtemel koenfeksiyonlar ya da persistan IgM varlığına da bağlı olabileceği düşünülmüştür. BNV IgM pozitifliğinin tek serolojik belirteç olarak saptandığı diğer 2 olgu ise, güncel tanı kriterleri²³⁻²⁵ uyarınca muhtemel BNV enfeksiyonu olarak değerlendirilmiştir. Bu olgularda yaş ve genel olarak nörolojik semptomlar, BNV için tanımlanan bulgularla uyumludur^{1,25,26}. Çalışmamızın en önemli sınırlaması, örneklerin retrospektif olarak değerlendirilmesi nedeniyle, hastalardan uygun miktarda örnek veya doğrulama testleri için konvalesan serumların alınmamış olmasıdır. İncelenen olgularda BNV tanısının kesinleştirilmesi için uygulanan gerçek zamanlı RT-PCR yöntemi ise incelenen serum ve BOS örneklerinde negatif sonuç vermiştir. Bu durumun muhtemel nedenleri arasında, örneklerin taşınma ve saklanma süreçlerinde viral RNA'nın parçalanmış olması ilk akla gelendir. Buna karşın, bu çalışmayla eş zamanlı olarak yürütülen ve diğer viral nükleik asitlerin araştırılmasına yönelik çalışmamızda, uygulanan RT-PCR testlerinin birçok örnekte pozitif sonuç vermiş olması (yayınlanmamış veri), bu olasılığın en azından örneklerin çoğu için geçerli olmadığını göstermektedir. İkinci bir olasılık da, kişilerde immün yanıt ortaya çıktıktan sonra serbest virionların antikorlarla bağlanarak uzaklaştırılması ve viral RNA'nın saptanma sınırlarının altına inmesidir. İmmün kompetan kişilerde MSS hastalığı gelişse bile, BNV viremisinin kısa sürdüğü bilinmektedir^{1,27,28}. Bizim serimizdeki olgularda immün sistemin normal olması ve örneklerin göreceli olarak hastalığın ileri döneminde alınmış olması gibi nedenler, negatif RT-PCR testi sonuçlarını açıklayabilmektedir. BNV'ye bağlı nöroinvazif hastalıkların tanısında nükleik asit testlerinin serolojik testlere göre duyarlılığı da bir çalışmada BOS için %57, serum için %14 olarak verilmiştir²⁸.

Çalışmamızda diğer flaviviruslarla muhtemel çapraz reaksiyonları ortaya çıkarmak amacıyla, ülkemizde aktivitesine ilişkin veri bulunan Dengue, kene ensefaliti gibi viruslara yönelik testler uygulanmış ve negatif sonuçlar elde edilmiştir. Yine de BNV ve benzeri viruslarla çapraz reaksiyonların, uygulanan bu gibi testlerle kesin olarak ekarte edilmesi mümkün olmamaktadır^{1,9}. Endemik bölgelerde mevsimsel, demografik ve klinik özellikleri uyumlu olgular, IgM pozitifliği saptandığında ek incelemeye gerek duyulmadan muhtemel BNV olgusu olarak tanımlanmaktadır^{1,22-25}. Ancak Türkiye gibi enfeksiyonun epidemiyolojik özelliklerinin henüz net olarak ortaya konulmadığı bölgelerde bizce geçerli yaklaşım, viral nötralizasyon gibi doğrulama testlerinin mutlaka uygulanması olmalıdır. BNV'ye bağlı nörolojik bulguların birçok hastalıkla benzerlik göstermesi de, klinikte tanıdan şüphelenerek uygun örnekleme ve testlerin yapılmasını güçleştiren bir faktördür.

Sonuç olarak çalışmamızda nörolojik bulgular izlenen iki muhtemel BNV olgusu saptanmıştır. Ülkemizde BNV ve diğer flaviviruslara bağlı hastalıkların öneminin ortaya çıkarılması için, bu etkenlerin ekolojik ve epidemiyolojik özelliklerinin daha ayrıntılı olarak açıklanması gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Yazarlar, ELISA ve IIFT testlerinde teknik destek sağlayan Susanne Kass ve Anja Kietzmann'a teşekkür eder.

KAYNAKLAR

1. Hayes EB, Sejvar JJ, Zaki SR, et al. Virology, pathology and clinical manifestations of West Nile Virus disease. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1174-9.
2. Hayes EB, Komar N, Nasci RS, et al. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile Virus disease. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:1167-73.
3. Ari A. Studies on activity and ecology of arboviruses in Turkey. *Turk Hij Tecr Biyol Derg* 1972; 32: 134-43.
4. Meço O. West Nile arbovirus antibodies with hemagglutination inhibition (HI) in residents of Southeast Anatolia. *Mikrobiyol Bul* 1977; 11: 3-17.
5. Serter D. Present status of arbovirus sero-epidemiology in the Aegean region of Turkey. *Zbl Bakt* 1980; (Suppl 9): 155-61.
6. Özkul A, Yıldırım Y, Pınar D, et al. Serological evidence of West Nile Virus (WNV) in mammalian species in Turkey. *Epidemiol Infect* 2005; 29: 1-4.
7. Ergünay K, Özer N, Us D, et al. 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: 157-161.
8. Ergünay K, Saygan MB, Aydoğan S, et al. West Nile Virus seroprevalence in blood donors from Central Anatolia, Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2009;12:
9. Allwinn R, Doerr HW, Emmerich P, et al. Cross-reactivity in flavivirus serology: new implications of an old finding? *Med Microbiol Immunol* 2002; 190: 199-202.
10. Arpacı F, Çetin T, Kubar A, et al. West Nile virus infection in a patient with acute graft-versus-host disease. *Haematologica* 2009; 94(Suppl 2): 687
11. Watson JT, Pertel PE, Jones RC, et al. Clinical characteristics and functional outcomes of West Nile Fever. *Ann Intern Med* 2004; 141: 360-5.
12. Jeha LE, Sila CA, Lederman RJ, et al. West Nile virus infection: a new acute paralytic illness. *Neurology* 2003; 61: 55-9.
13. Sejvar JJ, Haddad MB, Tierney BC, et al. Neurologic manifestations and outcome of West Nile virus infection. *JAMA* 2003; 290: 511-5.
14. Mostashari F, Bunning ML, Kitsutani PT, et al. Epidemic West Nile encephalitis, New York, 1999: results of a household-based seroepidemiological survey. *Lancet* 2001; 358: 261-4.
15. Han LL, Popovici F, Alexander JP Jr, et al. Risk factors for West Nile virus infection and meningoencephalitis, Romania, 1996. *J Infect Dis* 1999; 179: 230-3.
16. Ravindra KV, Freifeld AG, Kalil AC, et al. West Nile virus associated encephalitis on recipients of renal and pancreas transplants: case series and literature review. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 1257-60.
17. Smith RD, Konoplev S, DeCourten-Myers G, Brown T. West Nile virus encephalitis with myositis and orchitis. *Hum Pathol* 2004; 35: 254-8.
18. Sampson BA, Armbrustmacher V. West Nile encephalitis: the neuropathology of four fatalities. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 951: 172-8.
19. Perelman A, Stern J. Acute pancreatitis in West Nile fever. *Am J Trop Med Hyg* 1974; 23: 1150-2.
20. Kulstad EB, Wichter MD. West Nile encephalitis presenting as a stroke. *Ann Emerg Med* 2003; 41: 283.
21. Platonov AE, Shipulin GA, Shipulina OY, et al. Outbreak of West Nile virus infection, Volgograd Region, Russia, 1999. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 128-32.
22. Khairallah M, Ben Yahia S, Ladjimi A, et al. Chorioretinal involvement in patients with West Nile virus infection. *Ophthalmology* 2004; 111: 2065-70.

23. Centers for Disease Control and Prevention. Neuroinvasive and non-neuroinvasive domestic arboviral diseases. Available from: http://www.cdc.gov/ncphi/diss/nndss/casedef/arboviral_current.htm
24. Gobbi F, Napoletano G, Piovesan C, et al. Where is West Nile fever? Lessons learnt from recent human cases in northern Italy. *Euro Surveill* 2009; 14: pii 19143.
25. Mazurek JM, Winpisinger K, Mattson B, et al. The epidemiology and early clinical features of West Nile virus infection. *Am J Emerg Med* 2005; 23: 236-43.
26. Sampathkumar P. West Nile Virus: epidemiology, clinical presentation, diagnosis and prevention. *Mayo Clin Proc* 2003; 1137-44.
27. Parida M, Posadas G, Inoue S, Hasebe F, Morita K. Real-time reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of West Nile virus. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 257-63.
28. Lanciotti RS, Kerst AJ, Nasci RS, et al. Rapid detection of West Nile virus from human clinical specimens, field-collected mosquitoes, and avian samples by aTaqMan reverse transcriptase-PCR assay. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4066-71.