

SİNOP'TA KIRSAL KESİMDE YAŞAYAN KİŞİLERDE KENE KAYNAKLI ENSEFALİT VİRUSU (TBEV) SEROPREVALANSI*

SEROPREVALENCE OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS (TBEV) AMONG THE RESIDENTS OF RURAL AREAS IN SİNOP, CENTRAL BLACK-SEA REGION, TURKEY

Turabi GÜNEŞ¹, Ömer POYRAZ², Mehmet ATAŞ³, Ahmet ALİM³

¹ Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Sivas. (turabigunes@hotmail.com)

² Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas.

³ Sivas Sağlık Müdürlüğü, Halk Sağlığı Laboratuvarı, Sivas.

ÖZET

Kene kaynaklı ensefalit virusu (Tick-borne encephalitis virus; TBEV) tarafından oluşturulan kene ensefaliti (TBE), özellikle Asya ve Kuzey Avrupa ülkelerinde görülen ciddi nörolojik enfeksiyonlar arasında yer alır. Virusun insana bulaşında rol oynayan vektörler özellikle *Ixodes* cinsine ait sert keneler olup, *I. ricinus* Avrupa alt tipinin, *I. persulcatus* ise Uzak Doğu ve Sibirya alt tipinin temel vektörüdür. Bunlardan *I. ricinus* özellikle sahil kesimleri olmak üzere Türkiye'nin birçok iklim bölgelerinde bulunmaktadır. Bu çalışmada, Sinop'ta kırsal kesimde yaşayan kişilerde TBEV seroprevalansının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, 2006-2007 yıllarının Mayıs-Haziran aylarında Sinop merkez ilçeye bağlı 12 köyde yaşayan risk grubundaki 273 kişiden (yaş aralığı: 11-83 yıl) kan örneği alınmış ve örneklerde TBEV IgG antikor varlığı ticari bir indirekt floresan antikor kiti (Euroimmun, Almanya) ile araştırılmıştır. Serum örneklerinin %2.9 (8/273)'unda testin tarama sulandırımında (1/10) TBEV IgG pozitifliği saptanmış; bu serumların 1/100 sulandırılarak çalışılması sonunda ise 7 (%2.6)'sinden pozitif sonuç alınmıştır. TBEV seropozitifliğinin cinsiyet (141'i erkek), yaş grubu (142'si 21-50 yaş arası), meslek grubu (17'si orman işçisi, 57'si çoban, 199'u hayvancılık/çiftçilik yapan kişi) ve kene ile temas öyküsüne göre (169'unda kene tutması öyküsü var) dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0.05$). Çalışmada, TBEV seropozitif 8 örnekte, kene ile bulaşan bir diğer etken olan *Borrelia burgdorferi*'ye karşı IgG antikor varlığı da ticari bir ELISA kiti ile (Zeus Scientific, Hollanda) araştırılmış ve dördünde pozitiflik tespit edilmiştir. Buna göre TBEV - *B. burgdorferi* koenfeksiyon oranı %1.5 (4/273) olarak hesaplanmış; ancak her iki yöntem (TBEV IgG IFA ve *B. burgdorferi* IgG ELISA) ile de alınan sonuçlar doğrulama testleriyle doğrulanamadığından bu olgular "olası" olarak değerlendirilmiştir. Son yıllarda ülkemizde, gerek tanı yöntemlerindeki gelişmeler, gerekse farkındalığın artması nedeniyle vektör kaynaklı viral enfeksiyonların saptanma sıklığı artmaktadır. Sonuç olarak, Türkiye'nin en kuzeyinde ve TBEV endemik haritasına yakın coğrafyada yer alan Sinop ve içinde bulunduğu Karadeniz bölgesinde TBEV olgularının düşük oranlarda da olsa görülebileceği akılda tutulmalıdır.

Anahtar sözcükler: Kene kaynaklı ensefalit virusu, TBEV, *Ixodes ricinus*, seroprevalans, Sinop.

* Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CUBAP) tarafından desteklenmiştir (SHMYO-005).

ABSTRACT

Tick-borne encephalitis (TBE), caused by tick-borne encephalitis virus (TBEV) is one of the serious neurological infections seen especially in the Asian and North European countries. The principal vectors of TBEV are hard ticks belonging to *Ixodes* genus. The major vector of European TBEV subtype is *I. ricinus* and the major vector of Far-Eastern and Siberian subtypes is *I. persulcatus*. *I. ricinus* exists in many climatic regions of Turkey, especially in the coastal areas. The aim of this study was to investigate the TBEV seroprevalance among the residents of rural areas in Sinop (a province located at the coast of Central Black-Sea region of Turkey). A total of 273 blood samples have been collected from the subjects (age range: 11-83 years) inhabiting in 12 villages of the central district of Sinop, during the months of May and June in 2006 and 2007. The presence of TBEV IgG antibodies in serum samples were searched by a commercial indirect fluorescent antibody kit (Euroimmun, Deutschland). TBEV IgG positivity was detected in 2.9% (8/273) of the subjects at a screening titer (1/10) and 7 (2.6%) of them also yielded positive results at further dilutions (1/100). The rates of TBEV seropositivity were not found statistically significant ($p > 0.05$), with respect to gender (141 of the subjects were male), age (142 of the subjects were between 21-50 years old), occupation (17 foresters, 57 were shepherds, 199 were farmers/stockbreeders) and history of tick bite (169 of the subjects had been bitten by ticks). Presence of IgG antibodies against *Borrelia burgdorferi*, another agent which is transmitted by the same vector, were also investigated in TBEV seropositive 8 subjects by a commercial ELISA kit (Zeus Scientific, The Netherlands). Four of these subjects yielded *B. burgdorferi* IgG positivity, so the TBEV - *B. burgdorferi* coinfection rate was estimated as 1.5% (4/273). However, since the results obtained by the tests used in this study (TBEV IgG IFA and *B. burgdorferi* IgG ELISA) have not been confirmed by additional confirmational tests, these subjects were referred as "probable cases". In recent years the detection rates of vector-borne viral infections is in an increment trend in Turkey due to the developments in diagnostic tests and awareness for emerging infections. In conclusion since Sinop, which is placed in the northernmost point of Turkey, is located close to TBEV endemic areas, the presence of TBEV in Sinop and the Black Sea region should always be considered.

Key words: Tick borne encephalitis virus, TBEV, *Ixodes ricinus*, seroprevalence, Turkey.

GİRİŞ

Kene kaynaklı ensefalit virüsü (Tick-borne encephalitis virus; TBEV) tarafından oluşturulan kene ensefaliti (TBE), Avrupa ve Asya'da görülen en ciddi nörolojik enfeksiyonlardandır¹. TBE klinik olarak ilk kez Schneider tarafından 1931 yılında, Rusya'nın Uzak Doğu bölgesinde görülen şiddetli ensefalit olgularında tanımlanmıştır². TBE'nin Asya'da görülen şekli "Rusya ilkbahar-yaz ensefaliti (RSSE)" ve "Uzak Doğu ensefaliti (FEE)" olarak; Avrupa alt tipinin oluşturduğu enfeksiyonlar ise "Orta Avrupa ensefaliti" ve "Difazik süt ateşi" olarak farklı şekilde isimlendirilmiştir^{1,3}.

Kene kaynaklı flaviviruslar, *Flaviviridae* ailesi, *Flavivirus* cinsi içinde bulunan TBEV serokompleksi içinde yer almaktadır. Bu serolojik grubun memeli alt grubunda bulunan TBEV'nin Uzak Doğu, Sibirya ve Batı Avrupa olmak üzere üç alt tipi bulunmaktadır⁴. Uzak Doğu ve Avrupa alt tipleri ile oluşan enfeksiyonlarda klinik seyir farklı olup, Avrupa alt tipi iki fazlı seyreden daha ılımlı bir klinik tabloya yol açar^{3,4}.

TBEV, insanlara kene ısırması, enfekte süt ve süt ürünlerinin alınması ile bulaşabilmektedir³. TBEV'nin vektörleri, özellikle *Ixodes* cinsine ait sert kenelerdir. TBEV Avrupa alt tipine *I. ricinus*, Uzak Doğu ve Sibirya alt tipine ise *I. persulcatus* temel vektör görevi yapar¹.

TBE tanısı, klinik ve laboratuvar bulguları ile konulmaktadır. Hastalığın viremi döneminde viral nükleik asit, ters transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile saptanabilir; ancak bu yöntemin pratikte değeri düşüktür⁵. Bu nedenle TBE tanısı genellikle serolojik testlerle özgül IgM ve IgG antikorlarının tespitine dayanır. Serolojik testler arasında, enzim temelli immünolojik yöntemler (ELISA) ve indirekt floresan antikor (IFA) testi en sık tercih edilen yöntemlerdir^{5,6}.

Türkiye’de, özellikle sahil bölgeleri olmak üzere birçok bölgede *I. ricinus* türü kenelere yaygın olarak rastlanmaktadır^{7,8}. Ancak karasal iklimin hüküm sürdüğü iç kesimlerde bu kene türü daha nadir görülmektedir⁹. Sinop’un da içinde bulunduğu Orta Karadeniz bölgesi, yüksek yağış miktarı ve bol bitki örtüsü ile keneler için konak görevi yapan vahşi ve evcil hayvanlar için uygun yaşama alanı oluşturmaktadır. Bu çalışmanın amacı, Sinop’ta kırsal kesimde yaşayan kişilerde TBEV IgG seroprevalansının IFA yöntemiyle araştırılmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, ülkemizin Orta Karadeniz sahil bölgesinde, 41-42° kuzey ve 34-35° doğu boylamları arasında yer alan Sinop ili çevresinde gerçekleştirildi. Çalışmada, Sinop merkez ilçeye bağlı 42 köyde yaşayan 20.000 kişilik nüfus için gerekli en düşük örneklem büyüklüğü 237 olarak hesaplandı ve bunlar arasından 12 köy küme örnekleme yöntemiyle seçildi¹⁰. 2006-2007 yıllarının Mayıs-Haziran aylarında bu köylerdeki yaklaşık 900 kişiyle iletişim kurularak, 273 bireyden (yaş aralığı: 11-83 yıl; 141 erkek, 132 kadın) onayları ile kan örneği toplandı. Örneklerin alınmasında; köyde yaşayanlar, hayvan ve hayvan ürünleriyle uğraşanlar ve son beş yıl içerisinde kene ısırığı öyküsü olanlar özellikle tercih edildi. Kan örneklerinin serumları steril şartlarda ayrıldı ve çalışılncaya kadar -20°C’de saklandı.

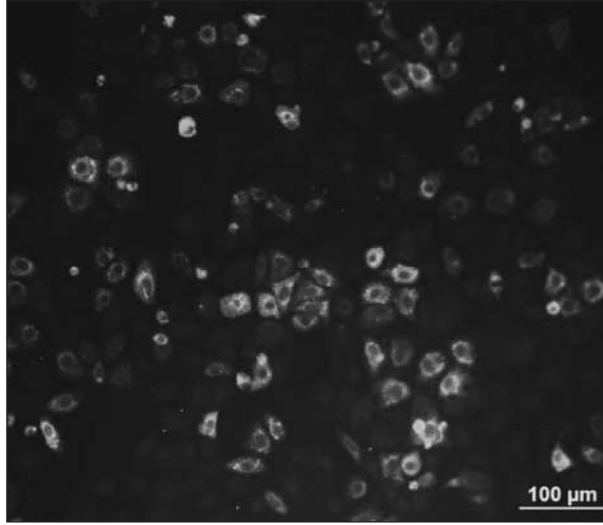
Örneklerde TBEV IgG antikor varlığının araştırılmasında ticari bir IFA kiti (Euroimmun, Almanya) kullanıldı. Yöntem, test serumlarının 1/10 sulandırılmaları kullanılarak üretici firmanın önerilerine göre uygulandı. Floresan mikroskobunda (400x) yapılan incelemede; pozitif kontrol serumlarının verdiği ışımaya şiddeti eşik değeri (cut-off) olarak kabul edildi ve örnekler bu görüntü ile karşılaştırılarak değerlendirildi (Resim 1). Tarama sulandırımının pozitif sonuç veren serumlar 1/100 sulandırılmaları yapılarak tekrar çalışıldı.

Çalışmada, TBEV seropozitifliği saptanan örneklerde, kene ile bulaşan bir diğer etken olan *Borrelia burgdorferi*’ye karşı da IgG antikor varlığı ticari bir ELISA kiti ile (Zeus Scientific, Hollanda) araştırıldı.

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi bilgisayar ortamında SPSS-16 programı ile (Chicago, IL) gerçekleştirildi. Parametreler arasında TBEV seropozitifliği açısından fark olup olmadığını ortaya koymak için ki-kare ve Fisher’in Exact testi uygulandı ve $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 273 serum örneğinin 8 (%2.9)’inde tarama sulandırımında (1/10) TBEV IgG antikorları pozitif olarak saptanmış; bu serumların 1/100 sulandırılarak çalışılması sonunda ise 7(%2.6)’sinden pozitif sonuç alınmıştır (Resim 1, Tablo I). TBEV seropozitifliğinin cinsiyete, yaş gruplarına, kene ile temas öyküsüne ve meslek gruplarına göre dağılımları incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0.05$) (Tablo I).



Resim 1. TBEV IgG pozitif serum örneklerinin floresan mikroskoptaki görünümü (IFAT, 400X)

Tablo 1. Sinop Yöresinde Kırsal Kesimde Yaşayan Kişilerde TBEV Seropozitifliğinin Demografik Özellikleri

	Toplam sayı	TBEV seropozitif sayı (%)	p değeri
Cinsiyet			
Kadın	132	2 (1.5)	0.284
Erkek	141	6 (4.3)	
Yaş grubu			
11-20	39	2 (5.1)	0.238
21-30	41	0	
31-40	46	3 (6.5)	
41-50	55	3 (5.5)	
51-60	32	0	
≥ 61	60	0	
Kene ile temas öyküsü			
Yok	104	5 (4.8)	0.266
Var	169	3 (1.8)	
Meslek grubu			
Çoban	57	4 (7)	0.071
Hayvancılık/çiftçilik	199	3 (1.5)	
Orman işçisi	17	1 (5.9)	

TBEV IgG pozitif bulunan sekiz örneğin dördünde *B.burgdorferi* IgG antikorları da pozitif olarak saptanmış ve TBEV-*B.burgdorferi* koenfeksiyon oranı %1.5 (4/273) olarak hesaplanmıştır. Ancak her iki yöntem (TBEV IgG IFA ve *B.burgdorferi* IgG ELISA) ile de alınabilecek yalancı pozitif sonuç olasılığının dışlanamaması nedeniyle bu olgular "olası" olarak değerlendirilmiştir.

TARTIŞMA

Kene ensefalitlerinin bulaşında temel rol oynayan *I.ricinus* türü kenelerin dağılım gösterdiği coğrafyalarda, TBEV seroprevalansı ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Virus daha ziyade Asya ve Avrupa'nın kuzey enleminde bulunan ülkelerinde yaygındır¹¹. Komşumuz olan Yunanistan TBEV endemik haritasında şüpheli ülkeler arasında gösterilmektedir^{11,12}. Yunanistan'da yapılan bir çalışmada¹³, 921 sağlıklı bireyin %2'sinde; Litvanya'da¹⁴ ise 1488 sağlıklı bireyin %2.9'unda TBEV seropozitifliği saptanmıştır. Sinop ili de, yurdumuzun en kuzeyinde ve TBEV endemik haritasına yakın coğrafyadadır. Bu amaçla çalışmamızda Sinop'ta kırsal kesimde yaşayan kişilerde TBEV seroprevalansının araştırılması amaçlanmıştır ve %2.9 (8/273) oranında pozitiflik saptanmıştır. Yurdumuzda 1980 yılında TBEV serolojisi ile ilgili ilk çalışmayı yapan Serter¹⁵, Ege Bölgesi'nde TBEV seropozitifliğini hemagglütinasyon inhibisyon testi ile %1.4, nötralizasyon testi ile %1.2 olarak bildirmiş ve bu bölgede TBE'nin sporadik olarak görülebileceğini belirtmiştir. Ergünay ve arkadaşlarının¹⁶ 2007 yılında yayınlanan çalışmasında, Şanlıurfa ve Siverek'te yaşayan kişilerde TBEV IgG pozitifliği ELISA yöntemi ile %10.5 (19/181)'i olarak bildirilmiştir. Yine Ergünay ve arkadaşları¹⁷ başka bir çalışmada, 2009 yılında Ankara, Konya, Eskişehir ve Zonguldak'tan temin edilen 2454 kan donöründe TBEV seroprevalansını %1.9 oranında saptamışlardır. Aynı çalışmada, Sinop'a coğrafi olarak çok yakın olan Zonguldak'tan toplanan 198 örneğin 2 (%1)'sinden pozitif sonuç alınmış; bu örneklerin 1 (%0.5)'i, plak redüksiyon nötralizasyon testi ile doğrulanmıştır¹⁷. Bizim çalışmamızda, TBEV IgG seropozitifliği IFA yöntemi ile %2.9 olarak belirlenmiş, ancak teknik ve ekonomik olanaksızlıklar nedeniyle doğrulama testi uygulanamamıştır. Hızlı serolojik testlerde diğer flaviviruslarla çapraz reaksiyon görülme sıklığı oldukça yüksek olmakla birlikte, son yıllarda ELISA ve IFA'nın özgüllük ve duyarlılığı %94'lerin üzerine çıkmıştır^{5,6,18}. Çapraz reaksiyon olasılığının, test serumlarının düşük sulandırımalarında görülmesi daha muhtemeldir¹⁹. Bizim çalışmamızda, 1/10 sulandırımında TBEV seropozitifliği gösteren sekiz serumun yedisi 1/100 sulandırımında da pozitif sonuç vermiştir. Bu durum her ne kadar yalancı pozitiflik olasılığını azaltıyorsa da, doğrulama testlerinin yapılamaması, çalışmamızın en önemli kısıtlamasıdır.

Ixodes cinsi keneler TBEV bulaşının yanı sıra *B.burgdorferi* bulaşı için de vektör olduklarından her iki mikroorganizmayı da birlikte taşıyabilirler²⁰. Yapılan serolojik çalışmalar, TBEV ve *B.burgdorferi* koenfeksiyonlarının nadir olmadığını göstermektedir²⁰⁻²². Sinop yöresinin *B.burgdorferi* yönünden riskli bölgelerden olduğu da Güneş ve arkadaşlarının⁸ yaptığı çalışma ile vurgulanmaktadır. Bu araştırmacılar, 2004 yılında Sinop'ta araziden topladıkları erişkin *I.ricinus* türü kenelerin %32.4'ünde *B.burgdorferi* taşıyıcılığı saptamışlardır⁸. Bu olasılığın araştırılması amacıyla, çalışmamızda TBEV IgG pozitif bulunan sekiz se-

rum örneğinde *B.burgdorferi* IgG testi de çalışılmış ve dört örnekte pozitiflik belirlenmiştir. Saptanan %1.5 (4/273) oranındaki bu birliktelik “olası koenfeksiyon” olarak değerlendirilmiştir; zira yukarıdaki kısıtlamaya benzer olarak, *B.burgdorferi* IgG pozitifliğinin Western Blot yöntemiyle doğrulanması mümkün olamamıştır.

Risk grubunu teşkil eden kişilerde TBEV seroprevalansı daha yüksek gözükmemektedir^{23,24}. Doğu Polonya’da yapılan bir çalışmada, 1261 orman işçisinin %19.8’inde ve 233 çiftçinin %32’sinde TBEV antikorları pozitif bulunmuştur²³. Çalışmamızda, kırsal kesimde yaşayan bireylerde tespit edilen %2.9 oranındaki seroprevalans, diğer çalışmalarda risk grubu kişilerde saptanan oranlardan daha düşük bulunmuştur. Bulgularımız ayrıca, TBEV seroprevalansının cinsiyet, yaş, meslek ve kene ısırığı öykülerine göre dağılımları arasında istatistiksel bir farkın olmadığını ($p > 0.05$) göstermiştir (Tablo I). Cinsiyetler arasında farklılık görülmemesi, kadın ve erkeklerin benzer oranda kene ısırığına maruz kalmasından kaynaklanabilir. Çobanlar, hayvancılık/çiftçilik yapanlar ve orman işçileri arasında da seropozitifliğin benzer olması, yine bu grupların benzer oranda kene ısırığına maruz kalmasına bağlı olabilir. Ancak kene ısırığı öyküsü olan ve olmayanlar arasında TBEV seroprevalansının farklılık göstermemesi dikkatle değerlendirilmelidir. Bu durum, kişilerden doğru öykü alınamamasından ya da kişilerin kene ile temas edip etmediklerinin farkında olmamasından kaynaklanabilir. Zira *I.ricinus* nimfleri de önemli düzeylerde TBEV taşıyıcısıdır^{1,24} ve insanlar özellikle nimf ve larva olmak üzere, bazen de erişkin kene tutmalarını hissedemeyebilir.

Sonuç olarak, gerek tanı yöntemlerindeki gelişmeler gerekse farkındalığın artması nedeniyle son yıllarda ülkemizde vektör kaynaklı viral enfeksiyonların saptanma sıklığında ki artış göz önüne alınırsa, özellikle uygun coğrafyaya sahip Sinop ve içinde yer aldığı Karadeniz bölgesinde, TBEV olgularının düşük düzeylerde de olsa görülebileceği akılda tutulmalıdır.

TEŞEKKÜR

Çalışma sırasında kan örneklerinin toplanmasındaki yardımı için Yük. Hemşire Zübeyde Güneş’e ve çalışmaya verdiği teknik destek için Prof. Dr. Zati Vatansever’e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Labuda M, Nutall A. Tick-borne viruses. Parasitology 2004; 129: 221-45.
2. Schneider H. Über epidemische akute meningitis serosa. Wien Klin Wschr 1931; 44: 350.
3. Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. Lancet 2008; 371:1861-71.
4. Gritsun TS, Lashkevich VA, Gould EA. Tick-borne encephalitis. Antiviral Res 2003; 57:129-46.
5. Holzmann H. Diagnosis of tick-borne encephalitis. Vaccine 2003; 21(Suppl 1): 36-40.
6. Sonnenberg K, Niedrig M, Steinhagen K, et al. State-of-the-art serological techniques for detection of antibodies against Tick-borne encephalitis virus. Int J Med Microbiol 2004; 293(Suppl 37): 148-51.
7. Karaer Z, Yukarı BA, Aydın L. Türkiye keneleri ve vektörleri, s: 363-434. Özcel MA, Daldal N (eds), Parazitoloji’de Artropod Hastalıkları ve Vektörler. 1997, Türkiye Parazitoloji Derneği, Yayın No:13, İzmir.

8. Güneş T, Kaya S, Poyraz O, Engin A. The prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks in the Sinop region of Turkey. *Türk J Vet Anim Sci* 2007; 31: 153-8.
9. Güneş T, Poyraz O, Kaya S, Gencer L, Alim A. Investigation of vectors for *Borrelia burgdorferi* and Lyme seropositivity in Sivas region. *Mikrobiyol Bul* 2005; 39: 503-8.
10. Sümbüllüoğlu K, Sümbüllüoğlu Y. Biyoistatistik. 2000, 9. Baskı. Hatipoğlu Yayınları, Şahin Matbaası, Ankara.
11. Süss J. Tick-borne encephalitis in Europe and beyond-the epidemiological situation as of 2007. *Euro Surveill* 2008; 13. pii: 18916.
12. Donoso Mantke O, Schädler R, Niedrig M. A survey on cases of tick-borne encephalitis in European countries. *Euro Surveill* 2008; 13. pii: 18848.
13. Pavlidou V, Geroy S, Diza E, Antoniadis A, Papa A. Epidemiological study of tick-borne encephalitis virus in northern Greece. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2007; 7: 611-5.
14. Juceviciene A, Vapalahti O, Laiskonis A, Ceplikiene J, Leinikki P. Prevalence of tick-borne-encephalitis virus antibodies in Lithuania. *J Clin Virol* 2002; 25: 23-7.
15. Serter D. Present status of arbovirus sero-epidemiology in the Aegean region of Turkey, pp: 155-61. In: Vesenjak-Hirjan J, Calisher C (eds), *Arboviruses in the Mediterranean Countries*. 1980. Zbl Bakt Suppl 9. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Germany.
16. Ergunay K, Ozer 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: 157-61.
17. Ergunay K, Saygan MB, Aydoğan S, et al. Confirmed exposure to tick-borne encephalitis virus and probable human cases of tick-borne encephalitis in Central/Northern Anatolia, Turkey. *Zoonoses Public Health* 1010 [Epub ahead of print].
18. Donoso Mantke O, Achazi K, Niedrig M. Serological versus PCR methods for the detection of tick-borne encephalitis virus infections in humans. *Future Virology* 2007; 2: 565-72.
19. Niedrig M, Vaisviliene D, Teichmann A, Klockmann U, Biel SS. Comparison of six different commercial IgG-ELISA kits for the detection of TBEV-antibodies. *J Clin Virol* 2001; 20:179-82.
20. Morozova OV, Dobrotvorsky AK, Livanova NN, et al. PCR detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, tick-borne encephalitis virus, and the human granulocytic ehrlichiosis agent in *Ixodes persulcatus* ticks from Western Siberia, Russia. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3802-4.
21. Cizman M, Avsic-Zupanc T, Petrovec M, Ruzic-Sabljic E, Pokorn M. Seroprevalence of ehrlichiosis, Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis infections in children and young adults in Slovenia. *Wien Klin Wochenschr* 2000; 112: 842-5.
22. Walder G, Lkhamsuren E, Shagdar A, et al. Serological evidence for tick-borne encephalitis, borreliosis, and human granulocytic anaplasmosis in Mongolia. *Int J Med Microbiol* 2006; 296(Suppl 40): 69-75.
23. Cisar E, Sroka J, Zwolinski J, Uminski J. Seroepidemiologic study on tick-borne encephalitis among forestry workers and farmers from the Lublin region (eastern Poland). *Ann Agric Environ Med* 1998; 5: 177-81.
24. Danielova V, Holubova J, Daniel M. Tick-borne encephalitis virus prevalence in *Ixodes ricinus* ticks collected in high risk habitats of the south-Bohemian region of the Czech Republic. *Exp Appl Acarol* 2002; 26: 145-51.