

Toscana Virus Enfeksiyonlarına Genel Bakış

An Overview of Toscana Virus Infections

Ayten KADANALI

Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul.
Umraniye Training and Research Hospital, Clinic of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Istanbul, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 01.07.2011 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 26.09.2011

ÖZET

Toscana virus tatarcıklar (*Phlebotomus* spp.) tarafından insana bulaştırılan ve özellikle yaz döneminde ateş ve menenjitte sebep olabilen bir arbovirustur. Toscana virus santral sinir sistemine tropizm gösterir ve bulunduğu ülkelerde menenjit ve ensefalitin önemli viral etkenleri arasındadır. İtalya, Fransa, İspanya, Portekiz ve diğer Akdeniz ülkelerinde Toscana virus ile ilgili çok sayıda klinik ve epidemiyolojik çalışma bulunmaktadır. Türkiye’de Toscana virus aktivitesi saptanmıştır, ancak veriler sınırlı düzeydedir. Bu derleme yazıda, ülkemizde de yaz dönemlerinde ateşli hastalık, menenjit ve ensefalit sebebi olan Toscana virusun epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar özellikleri tartışılmıştır.

Anahtar sözcükler: Toscana virus; epidemiyoloji; menenjit.

ABSTRACT

Toscana virus which is an arbovirus transmitted to humans by sandflies (*Phlebotomus* spp.), can cause febrile illness and meningitis mainly during summer. It has a tropism for central nervous system and is a major cause of meningitis and encephalitis in endemic countries. Majority of the clinical and epidemiologic studies on Toscana virus have been reported from Italy, France, Spain, Portugal and other Mediterranean countries. Although Toscana virus infections has been identified, data on virus activity in Turkey are limited. In this review article, the epidemiological, clinical and laboratory features of Toscana virus as a cause of febrile diseases, meningitis and encephalitis during summer in Turkey were discussed.

Key words: Toscana virus; epidemiology; meningitis.

GİRİŞ

Toskana virus (TOSV) ilk olarak 1971 yılında İtalya'dan toplanan *Phlebotomus perniciosus* türü tatarcıklardan izole edilmiş; insanlarda santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonuyla ilişkisi ise 1983 yılında yine İtalya'da lenfositik menenjitli bir hastanın beyin omurilik sıvısı (BOS)'nda saptanmasıyla gösterilmiştir^{1,2}. TOSV ile ilgili klinik ve epidemiyolojik çalışmaların çoğu İtalya'dan bildirilmekle birlikte, son yıllarda diğer Akdeniz ülkelerinden de olgular rapor edilmekte ve bu ülkelerde yaz aylarında görülen aseptik menenjit olgularının üçte birinin sorumlusu TOSV gibi gözükmektedir^{3,4}.

Türkiye'de son yıllarda Kırım-Kongo kanamalı ateşi virusu, Batı Nil virusu ve hantavirus enfeksiyonları gibi zoonotik viral enfeksiyonların insidansında artış görülmektedir⁵. Bu durum, iklimsel değişikliklerin yanı sıra, tanı olanaklarının gelişmesi, tanı yöntemlerinin yaygın olarak kullanılması ve farkındalığın artmasıyla açıklanabilir. Ülkemizde TOSV aktivitesiyle ilgili ilk veriler üç dekad öncesine dayanmakla birlikte 2000'li yıllardan sonra çalışmalar hız kazanmıştır^{5,6}. Bu derleme yazıda, TOSV'nin virolojik, epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar özellikleri özetlenmiş ve ülkemizdeki durum tartışılmıştır.

GENEL ÖZELLİKLER

TOSV, *Bunyaviridae* ailesinin *Phlebovirus* cinsinden Sandfly Fever (tatarcık humması) virusunun bir serotipidir⁷. Virion, zarflı ve ikozahedral simetrik olup, yaklaşık 100 nm büyüklüğündedir. Genom; büyük (Large, L), orta (Medium, M) ve küçük (Small, S) olmak üzere üç adet tek iplikli negatif RNA segmentinden oluşmuştur. Bu segmentler sırasıyla RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (L), iki zarf glikoproteini (GN ve GC) ve bir nükleokapsid proteinini (N) kodlar. Ayrıca, yapısal olmayan iki protein (NSm ve NSs) de sırasıyla M ve S segmentleri tarafından kodlanmaktadır⁷.

Sandfly fever virusları (SFV), Güney Avrupa, Afrika, Asya ve Amerika'da tatarcıklardan izole edilmiş olup, aynı tatarcık popülasyonunda farklı virusların varlığına dair kanıtlar bulunmaktadır⁴. Oluşturduğu hastalık; "papatacci fever", "febris pappataci", "phlebotomus fever" ve "üç gün ateşi" gibi farklı isimlerle anılmaktadır. TOSV haricindeki tatarcık humması etkenleri, kendini sınırlayan birkaç gün süren ateş, terleme, baş ağrısı, halsizlik ve kırıngılığa neden olurken, TOSV nörotropizm gösterip menenjit ya da meningoensefalite yol açabilir³. *Phlebovirus* cinsi, antijenik olarak farklı 68 serotipten oluşur ve iki temel gruba ayrılır. Bunlardan "Sandfly (phlebotomus) fever" grubu tatarcık ile bulaşan 55 üyeye sahipken, "Uukuniemi" grubu kenelerle geçen 13 üyeden oluşmaktadır. Sandfly fever grubu viruslar içinde en yaygın serotipler Sandfly Fever Sicilian Virus (SFSV), Sandfly Fever Naples Virus (SFNV), Toscana Virus (TOSV) ve Sandfly Fever Cyprus Virus (SFCV)'tur⁷. TOSV enfeksiyonları önceleri İtalya ve Portekiz ile sınırlı gibi görünürken, daha sonra Fransa, Türkiye, İspanya, Slovenya, Yunanistan ve Kıbrıs'tan çeşitli olgular bildirilmiştir^{3,4,8-10}. Son yıllarda Avrupa ülkelerinden izole edilen TOSV izolatlarının iki ayrı genotip (genotip A ile genotip B) olarak farklılık gösterdiği ortaya konmuş ve genotiplerin farklı coğrafi dağılımı olabileceği iddia edilmiştir^{11,12}. Bugüne kadar reenfeksiyon gelişen olguların tanımlanmamış olması, önceden kazanılmış bağışıklığın koruyucu olduğunu düşündürmektedir¹³. İtalya'da izole edilen suşlar arasında nükleoprotein gen yapısında

farklar bulunmuş, ancak bunun hastalığın klinik seyri ile bir ilişkisi gösterilememiştir^{12,14}. TOSV A genotipi İtalya, Fransa, Portekiz ve son yıllarda Türkiye’de saptanmış, TOSV B genotipi ise İspanya, Fransa ve Portekiz’den bildirilmiştir¹³⁻¹⁵. Genotip yayılımındaki coğrafi farkların, vektör türlerindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir^{4,9}.

VEKTÖRLER

TOSV için vektörler *P.perniciosus* ve *P.perfilliwei* türü tatarcıklar olup, virus tatarcıklarda transovaryal ve veneryal geçiş göstermektedir⁷. TOSV’nin belirli bir hayvan rezervuarı henüz tanımlanmamakla birlikte, yapılan bir çalışmada; at, keçi, domuz, kedi, köpek, koyun ve ineklerden alınan 1186 serum örneği incelenmiş ve en sık kedi (%59.6) ve köpek (%48.3) olmak üzere toplam 429 serum örneğinde pozitiflik saptanmıştır¹⁵. Bu sonuçlar evcil hayvanların önemli bir kısmının TOSV ile enfekte olduğunu göstermektedir.

TOSV için vektör olan tatarcıklar, gündüzleri ahırlar, bodrumlar, ağaç kovukları, duvar çatlakları ve kemirgen yuvalarında saklanır, geceleri ise aktif duruma geçer¹⁶. İnsanlardan gün batımından gün doğumuna kadar kan emen tatarcıklar, gündüz ev-ahır içinde dinlenme halinde iken rahatsız edilirse sokabilir. Erişkin tatarcıkların aktivitelerine etki eden meteorolojik koşullar incelendiğinde, en aktif oldukları sıcaklığın 25-28°C arasında olduğu dikkati çekmektedir¹⁶. Erişkinlerin soğuğa çok hassas olmasına karşın dördüncü evre larvaları dayanıklıdır. Erişkinler için ideal nem oranı %50’nin üzerindedir. Tatarcıklar açık havada rüzgara çok duyarlı olup, hızlı rüzgardan kaçmak için yere yakın uçarlar (3 m/s). Hafif bir esintide bile sayıları azaldığı için bina içindeki aktiviteleri dışarıdakine göre çok daha fazladır¹⁶.

TOSV ENFEKSİYONLARI

TOSV enfeksiyonlarında klinik formlar, asemptomatik seyirden menenjit veya meningoensefalite kadar değişebilmektedir⁷. Hafif seyirli kendini sınırlayan ateşli olgular sıklıkla hastaneye yatırılmazlar; laboratuvar tetkikleri de yapılmadığından muhtemelen TOSV tanısı almazlar. Kuluçka süresi birkaç gün ile iki hafta arasında değişir. Ardından belirgin baş ağrısı (18 saat-5 gün), ateş (%76-97), bulantı, kusma (%67-88) ve miyalji (%18) gelişir^{17,18}. Fizik muayenede ense sertliği (%53-95), Kernig pozitifliği (%87), bilinç bozukluğu (%12), tremor (%2.6), parezi ve nistagmus görülebilir. BOS incelemesinde; hücre sayısı lenfosit ağırlıklı olarak (%60-90) artmıştır (30-900/mm³); biyokimyasal incelemede normal glukoz ve artmış protein değerleri (67-183 mg/dl) saptanır. Hemogramda, olguların %29’unda lökositoz, %6’sında lökopeni bulgusu tespit edilebilir^{17,18}. Yaklaşık yedi gün sonra iyileşme görülür.

Hastalık çoğunlukla hafif seyirli olmakla beraber, literatürde az sayıda ağır klinik seyirler de bildirilmekte ve TOSV enfeksiyonlarının olağandışı bulgular (makülopapüler döküntü, yaygın lenfadenopati, hepatosplenomegali, kanama eğilimi, dissemine intravasküler koagülopati vb.) ile de seyredebileceği vurgulanmaktadır¹⁸⁻²⁰.

TOSV enfeksiyonlarının özgül bir antiviral tedavisi yoktur ve çoğu olguda semptomatik tedavi yeterli olmaktadır⁷.

TANI

Akut TOSV enfeksiyonlarının tanısında, hasta örneklerinde virusun varlığı kültür veya nükleik asit amplifikasyon testleriyle gösterilebilir ya da özgül antikor varlığı serolojik yöntemlerle tespit edilebilir²¹. Virus izolasyonu için Vero, BHK-21 ve LLC-MK2 hücre kültürleri kullanılabilir. Birlikte, bu yöntem zaman alıcıdır ve duyarlılığı oldukça düşüktür^{7,21}.

Serolojik Tanı

Bu amaçla serum ve BOS örneklerinde TOSV IgG ve IgM pozitifliği araştırılır. Ancak cinsler arasındaki ve özellikle de TOSV ile SFNV arasındaki çapraz reaktivite varlığı akılda tutulmalıdır⁷. Akut fazda serum ve/veya BOS'ta saptanan IgM pozitifliği ile akut ve konvalesan serumlar arasında IgG titre artışı tanıda değerlidir. IgM antikorları bir yıla varan sürelerde saptanabilir; IgG artışı ise yavaştır, ancak yıllarca kalıcıdır^{21,22}. Belirli bir SFV serotipi ile karşılaşmış olmak, başka bir serotip için koruyuculuk oluşturmamaktadır.

TOSV antikorlarının saptanmasında, hemaglutinasyon inhibisyon (HI), indirekt immünfloresan antikor (IFA), ELISA, immünblot (IB) ve virus nötralizasyon testi (VNT) gibi yöntemler kullanılabilir. Ticari olarak temin edilen bazı testlerde antijen olarak enfekte hücrelerden elde edilen kısmi pürifiye antijenler veya rekombinant viral proteinler kullanılmıştır^{21,23}. Ancak bu antijenlerle uygulanan yöntemlerde, TOSV dışındaki SFV serotiplerinden birine karşı antikor varlığı yanlış pozitifliklere yol açabilir. Nitekim gerek tanı gerekse seroprevalans çalışmalarının çoğu, SFV serotiplerini birbirinden ayıramayan ELISA ya da IFA testleriyle yapılmaktadır. Bu nedenle elde edilen sonuçlar dikkatle değerlendirilmeli, doğrulama için ek olarak VNT uygulanmalıdır¹⁷.

TOSV serolojisinde kullanılmak üzere geliştirilen birçok ticari test mevcuttur. Ergünay ve arkadaşlarının²⁴ çalışmasında, TOSV antikorlarının saptanmasında IB, ELISA ve IFA temelli çeşitli ticari kitlerin performansları araştırılmış ve alınan sonuçlar altın standart olarak kabul edilen VNT ile karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmiştir. Bu araştırmacılar, ticari sistemlerin birbirleriyle uyumunu %57.8, VNT ile uyumunu ise %62.6 olarak bulmuşlar; VNT'nin duyarlılığının diğer yöntemlere göre düşük olduğunu belirtmişler ve IFA testinin tarama amaçlı, IB ve VNT yöntemlerinin ise birlikte doğrulama amaçlı kullanılabileceğini vurgulamışlardır²⁴.

Moleküler Tanı

Serum veya BOS örneklerinde revers transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile viral nükleik asit saptanabilir ve referans suşlar kullanıldığında duyarlılığı yüksektir^{25,26}. Özellikle kan ve BOS örneğinde virus seviyesi düşük olan olgularda PCR, virus izolasyonu ve IgM tespitine göre daha duyarlıdır⁸. Ergünay ve arkadaşlarının¹⁴ çalışmasında, TOSV RNA pozitif bulunan 16 olgunun yalnızca 4 (%25)'ünde IFA ile TOSV IgM varlığı saptanmıştır. Klasik PCR uygulamalarında, "single-round" veya duyarlılığı daha yüksek olan "nested" temelli yöntemler kullanılabilir, bu protokollerde virusun S ya da L segmentine karşı özgül ya da jenerik primerler seçilebilmektedir^{8,25-28}. Son yıllarda ise gerçek zamanlı PCR sistemlerinin kullanılmasıyla kontaminasyon riski belirgin bir şekilde

azaltılmıştır. Bu yöntemin duyarlılığı "nested" PCR protokolüne yakındır ve işlemler üç saat içinde sonuçlanmaktadır⁸. Akdeniz ülkelerinde bulunan ve insanlarda hastalığa neden olan bütün TOSV genotiplerini saptayabilecek gerçek zamanlı RT-PCR testlerinin geliştirilmesi için, değişik ülkelerdeki viral heterojenitenin belirlenmesi ve bunları tanıyacak primerlerin ortaya konulması gereklidir.

EPİDEMİYOLOJİ

TOSV enfeksiyonları başta İtalya, İspanya, Portekiz ve Fransa olmak üzere diğer Avrupa ve Akdeniz ülkelerinden bildirilmektedir³. Adını İtalya'nın Toskana bölgesinden alan TOSV ile ilgili yayınların çoğu bu ülkeden yapılmıştır. Güney Toskana'da yapılan bir çalışmada, 1995-1998 yılları arasında aseptik menenjitli 277 olgunun %81'inden TOSV'nin sorumlu olduğu saptanmıştır²⁷. İtalya'nın Toscana ve Piedmont bölgelerinde yapılan bir başka çalışmada, ormancılıkla uğraşan kişilerde TOSV seropozitifliği %77.2, şehirli popülasyonda ise %22.7 olarak belirlenmiş; bu bulgunun vektörlerin yaşadığı bölgeler ile tam anlamıyla uyumlu olduğu vurgulanmıştır²⁹. Çalışmalarından elde edilen bulgular, TOSV enfeksiyonlarının asemptomatik veya hafif seyirli geçebileceğini; asemptomatik seyrin genç erişkinlerde (%91) ileri yaşlara (%31.4) göre daha sık görüldüğünü; TOSV IgG pozitiflik oranlarının yaşa bağımlı bir artış gösterdiğini (çocuklarda %5.8, yetişkinlerde %19.8) ve TOSV'ye bağlı aseptik menenjit insidansının temmuz-eylül aylarında yükseldiğini ortaya koymaktadır^{13,26,27,30-32}.

İspanya ve Portekiz'de yapılan çalışmalarda da, bu bölgelerde TOSV seroprevalans oranlarının (yaklaşık %25) İtalya'daki bulgularla benzerliği gösterilmiş ve virusun SSS enfeksiyonlarında rol alan önemli etyolojik ajanlardan biri olduğu bildirilmiştir³³⁻³⁵. Ancak menenjit tanısı almış hastalarda saptanan TOSV pozitifliğinin İtalya'ya göre daha düşük olması, bu bölgedeki virus suşunun İtalya'ya göre daha az nörovirulan olduğunu düşündürmektedir.

Bir diğer Akdeniz ülkesi olan Fransa'da ise gerek yerli popülasyonda gerekse İtalya'ya seyahat eden kişilerde TOSV enfeksiyonları rapor edilmiştir^{11,12,36,37}. Güneydoğu Fransa'da yapılan bir çalışmada, sağlıklı kan donörlerinin %12'sinde ve SSS enfeksiyonu olan hastaların %18.9'unda TOSV IgG pozitifliği saptanmıştır³⁸. Akdeniz'e kıyısı olan diğer ülkelerde de (Bosna-Hersek, Yunanistan, Kıbrıs, İsrail, Tunus vb.) TOSV varlığı ve enfeksiyonları gösterilmiştir^{10,39-42}.

Akdeniz bölgesi dışındaki ülkelere (Kuzey Avrupa, Amerika vb.) bildirilen TOSV enfeksiyonları irdelendiğinde; daha ziyade yaz aylarında endemik bölgelere seyahat eden olgular olduğu izlenmektedir^{19,22,43-50}. Eitrem ve arkadaşları⁴⁴, 1985 yılında Kıbrıs'ta görev yapan İsveçli askerlerin %25'inde herhangi bir hastalık bulgusu olmaksızın TOSV serokonversiyonu saptamışlardır. Buna karşın diğer raporlarda, özellikle İtalya'ya yaptığı turistik gezilerden dönen kişilerde TOSV'ye bağlı menenjit/meningoensefalit tablosunun geliştiği bildirilmektedir^{43,46-50}. Ülkemizde tatil yapan ve Almanya'ya döndükten sonra menenjit gelişen 15 yaşındaki bir olguda ise etken olarak SFSV tespit edilmiş ve bu olgu raporu, SFV Sicilya serotipinin menenjit ile ilişkisini gösteren tek olgu olması nedeniyle ilgi çekici bulunmuştur⁵¹.

ÜLKEMİZDE TOSV

Türkiye, bir Akdeniz ülkesi olarak endemik bölgede olmasına karşın tatarcık ateşi virusları (SFV) ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Tesh ve arkadaşlarının 1976 yılında yayınlanan çalışmasında, ülkemizin de içinde bulunduğu 59 farklı bölgeden toplanan serum örneklerinde SFV seroprevalansı araştırılmış ve Antalya'dan alınan 1955 yılına ait 50 serum örneğinde SFSV ve SFNV sıklığı sırasıyla %22 ve %62 olarak saptanmıştır⁵². Serter'in⁶ Ege Bölgesinde yaptığı çalışmada bu oranlar sırasıyla %0.84 ve %13.9 olarak bildirilmiş; Özbek ve arkadaşları⁵³ ise aynı bölgede SFNV ve TOSV varlığını göstermişlerdir. İzmir, Adana ve Ankara illerinde, ateşli hastalık ve tatarcık ısırtığı öyküsü olan, ancak SSS bulguları göstermeyen 106 olgunun incelendiği bir çalışmada, SFSV, SFSV/SFCV ve SFCV için IgM pozitiflik oranları sırasıyla %3, %12 ve %4 olarak tespit edilmiştir⁵⁴. Bu çalışmada ayrıca, yeni bir virus tipi olarak Sandfly Fever Turkish Virus (SFTV) tanımlanmıştır⁵⁴.

Kırıkkale'de ortaya çıkan salgının değerlendirildiği çalışmada, ateş, miyalji-artralji, baş ağrısı, konjunktival hiperemi, ishal, bulantı-kusma öyküsü olan 11 hasta incelenmiş; beş hastada SFNV IgM, üç hastada ise SFSV IgM pozitifliği saptanmış ve tüm olgular semptomatik olarak tedavi edilmiştir⁵⁵. Ankara'da oluşan salgın kapsamında 50 hastanın değerlendirildiği diğer bir çalışmada da, etkenin yeni tanımlanan SFV Türk serotipi (SFTV) olduğu ve karaciğer enzimlerinde artış ve trombositopeniyle seyreden ciddi klinik tablo oluşturduğu rapor edilmiştir⁵⁶. Ergünay ve arkadaşlarının¹⁴ yaptığı kapsamlı çalışmada ise Ankara, Zonguldak, Konya ve Eskişehir illerinden 1533 kan donörü değerlendirilmiş; SFV antikorları IFA ile araştırılmış ve VNT ile doğrulanmıştır. Kan donörlerinde toplam SFV IgG pozitifliği %32.9 olarak belirlenmiş; tüm illerden alınan örneklerde TOSV seropozitifliği saptanmış ancak en yüksek oranın Konya'da gözlemlendiği ifade edilmiştir¹⁴. Bu çalışmada ayrıca, aseptik menenjitli 102 olgudan 16 (%15.7)'sinin BOS örneğinde TOSV RNA'sı pozitif bulunmuş ve virus, TOSV A genotipi olarak tanımlanmıştır. Sonuçta araştırmacılar, Orta ve Kuzey Anadolu bölgelerinde ateşli hastalık ve/veya aseptik menenjitli olgularda SFV'nin de etken olarak düşünülmesi gerektiğini vurgulamışlardır¹⁴.

SONUÇ

Son yıllarda artış gösteren küreselleşme ve habitat değişimi, seyahat olanaklarının ve hava yolculuğunun artması, sosyoekonomik krizler, ormanların yok olması, flora ve fauna yapısının değişmesi, iklim değişiklikleri ve zirai işlemlerdeki değişiklikler gibi birçok faktör, yeni ve yeniden önem kazanan enfeksiyon etkenlerini de gündeme getirmiştir. Arbovirus enfeksiyonlarının sürveyans çalışmaları, ileriki yıllarda önemli bir halk sağlığı sorununu oluşturma potansiyeli nedeniyle dünya çapında yürütülmektedir. Bugün için TOSV'nin ülkemizdeki varlığı ve SSS enfeksiyonları ile ilişkisi gösterilmiş olmakla birlikte, konu ile ilgili daha ileri seroepidemiolojik, klinik ve moleküler çalışmalara gerek vardır. Sonuç olarak, ateşli hastalık ve/veya aseptik menenjit/meningoensefalit olgularında, özellikle de tatarcık ısırtığı öyküsü olduğunda, ayırıcı tanıda TOSV enfeksiyonu düşünülmesi ve ülkemizdeki klinisyenlerin konuyla ilgili farkındalığı artırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Verani P, Ciufolini MG, Caciolli S, et al. Ecology of viruses isolated from sand flies in Italy and characterized of a new Phlebovirus (Arabia virus). *Am J Trop Med Hyg* 1988; 38(2): 433-9.
2. Nicoletti L, Verani P, Caciolli S, et al. Central nervous system involvement during infection by Phlebovirus toscana of residents in natural foci in central Italy (1977-1988). *Am J Trop Med Hyg* 1991; 45(4): 429-34.
3. Valassina M, Cusi MG, Valensin PE. A Mediterranean arbovirus: the Toscana virus. *J Neurovirol* 2003; 9(6): 577-83.
4. Depaquit J, Grandadam M, Fouque F, Andry PE, Peyrefitte C. Arthropod-borne viruses transmitted by Phlebotomine sandflies in Europe: a review. *Euro Surveill* 2010; 15(10): 19507.
5. Ergunay K, Whitehouse CA, Ozkul A. Current status of human arboviral diseases in Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2011; 11(6): 731-41.
6. Serter D. Present status of arbovirus sero-epidemiology in the Aegean region of Turkey. *Zentralbl Bakteriol* 1980; 270(Suppl 9): 155-61.
7. Schmaljohn CS, Nichol ST. Bunyaviridae, pp: 1741-88. In: Knipe DM, Howley PM (eds), *Fields Virology*. 2007, 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
8. Charrel RN, Gallian P, Navarro-Mari JM, et al. Emergence of Toscana virus in Europe. *Emerg Infect Dis* 2005; 11(11): 1657-63.
9. Collao X, Palacios G, Sanbonmatsu-Gámez S, et al. Genetic diversity of Toscana virus. *Emerg Infect Dis* 2009; 15(4): 574-7.
10. Papa A, Andriotis V, Tzilianos M. Prevalence of Toscana virus antibodies in residents of two Ionian islands, Greece. *Travel Med Infect Dis* 2010; 8(5): 302-4.
11. Charrel RN, Izri A, Temmam S, et al. Cocirculation of 2 genotypes of Toscana virus, southeastern France. *Emerg Infect Dis* 2007; 13(3): 465-8.
12. Cusi MG, Savellini GG, Zanelli G. Toscana virus epidemiology: from Italy to beyond. *Open Virol J* 2010; 4: 22-8.
13. Valassina M, Cuppone AM, Bianchi S, Santini L, Cusi MG. Evidence of Toscana virus variants circulating in Tuscany, Italy, during the summers of 1995 to 1997. *J Clin Microbiol* 1998; 36(7): 2103-4.
14. Ergünay K, Saygan MB, Aydoğan S, et al. Sandfly fever virus activity in central/northern Anatolia, Turkey: first report of Toscana virus infections. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17(4): 575-81.
15. Navarro-Mari JM, Palop-Borras B, Perez-Ruiz M, Sanbonmatsu-Gamez S. Serosurvey study of Toscana virus in domestic animals, Granada, Spain. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2011; 11(5): 583-7.
16. Killick-Kendrick R. The biology and control of flebotomine sand flies. *Clin Dermatol* 1999; 17(3): 279-89.
17. Dionisio D, Esperti F, Vivarelli A, Valassina M. Epidemiological, clinical and laboratory aspects of sandfly fever. *Curr Opin Infect Dis* 2003; 16(5): 383-8.
18. Tyler KL. Emerging viral infections of the central nervous system: part 1. *Arch Neurol* 2009; 66(8): 939-48.
19. Kuhn J, Bewermeyer H, Hartmann-Klosterkoetter U, Emmerich P, Schilling S, Valassina M. Toscana virus causing severe meningoencephalitis in an elderly traveller. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76(11): 1605-6.
20. Sanbonmatsu-Gámez S, Pérez-Ruiz M, Palop-Borrás B, Navarro-Mari JM. Unusual manifestation of Toscana virus infection, Spain. *Emerg Infect Dis* 2009; 15(2): 347-8.
21. Cusi MG, Savellini GG. Diagnostic tools for Toscana virus infection. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2011; 9(7): 799-805.
22. Schwarz TF, Jäger G, Gilch S, Pauli C. Serosurvey and laboratory diagnosis of imported sandfly fever virus, serotype Toscana, infection in Germany. *Epidemiol Infect* 1995; 114(3): 501-10.
23. Magurano F, Nicoletti L. Humoral response in Toscana virus acute neurologic disease investigated by viral-protein-specific immunoassays. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6(1): 55-60.
24. Ergunay K, Litzba N, Lo MM, Aydogan S, Saygan MB. Performance of various commercial assays for detection of Toscana virus antibodies. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2011; 11(6): 781-7.

25. Schwarz TF, Jager G, Gilch S, Nitschko H. Nested RT-PCR for detection of sandfly fever virus, serotype Toscana, in clinical specimens, with confirmation by nucleotide sequence analysis. *Res Virol* 1995; 146(5): 355-62.
26. Valassina M, Cusi MG, Valensin PE. Rapid identification of Toscana virus by nested PCR during an outbreak in the Siena area of Italy. *J Clin Microbiol* 1996; 34(10): 2500-2.
27. Valassina M, Meacci F, Valensin PE, Cusi MG. Detection of neurotropic viruses circulating in Tuscany: the incisive role of Toscana virus. *J Med Virol* 2000; 60(1): 86-90.
28. Sánchez Seco MP, Echevarría JM, Hernández L, Estévez D, Navarro Marí JM, Tenorio A. Detection and identification of Toscana and other phleboviruses by RT-nested-PCR assays with degenerated primers. *J Med Virol* 2003; 71(1): 140-9.
29. Valassina M, Valentini M, Pugliese A, Valensin PE, Cusi MG. Serological survey of Toscana virus infection in a high-risk population in Italy. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10(3): 483-4.
30. Braito A, Corbisiero R, Corradini S, et al. Evidence of Toscana virus infections without central nervous system involvement: a serological study. *Eur J Epidemiol* 1997; 13(7): 761-4.
31. Braito A, Ciufolini MG, Pippi L, et al. Phlebotomus-transmitted toscana virus infections of the central nervous system: a seven-year experience in Tuscany. *Scand J Infect Dis* 1998; 30(5): 505-8.
32. Terrosi C, Olivieri R, Bianco C, Cellesi C, Cusi MG. Age-dependent seroprevalence of Toscana virus in central Italy and correlation with the clinical profile. *Clin Vaccine Immunol* 2009; 16(8): 1251-2.
33. Echevarría, JM, de Ory F, Guisasaola ME, et al. Acute meningitis due to Toscana virus infection among patients from both the Spanish Mediterranean region and the region of Madrid. *J Clin Virol* 2003; 26(1): 79-84.
34. Sanbonmatsu-Gámez S, Pérez-Ruiz M, Collao X, et al. Toscana virus in Spain. *Emerg Infect Dis* 2005; 11(11): 1701-7.
35. Santos L, Simões J, Costa R, Martins S, Lecour H. Toscana virus meningitis in Portugal, 2002-2005. *Euro Surveill* 2007; 12(6): E3-4.
36. Hemmersbach-Miller M, Parola P, Charrel RN, Paul Durand J, Brouqui P. Sandfly fever due to Toscana virus: an emerging infection in southern France. *Eur J Intern Med* 2004; 15(5): 316-7.
37. Epelboin L, Hausfater P, Schuffenecker I, et al. Meningoencephalitis due to Toscana virus in a French traveler returning from central Italy. *J Travel Med* 2008; 15(5): 361-3.
38. De Lamballerie X, Tolou H, Durand JP, Charrel RN. Prevalence of Toscana virus antibodies in volunteer blood donors and patients with central nervous system infections in southeastern France. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2007; 7(2): 275-7.
39. Eitrem R, Stylianou M, Niklasson B. High prevalence rates of antibody to three sandfly fever viruses (Sicilian, Naples and Toscana) among Cypriots. *Epidemiol Infect* 1991; 107(3): 685-91.
40. Cohen D, Zaide Y, Karasenty E, et al. Prevalence of antibodies to West Nile fever, sandfly fever Sicilian, and sandfly fever Naples viruses in healthy adults in Israel. *Public Health Rev* 1999; 27(1-3): 217-30.
41. Hukic M, Salimovic-Besic I. Sandfly-Pappataci fever in Bosnia and Herzegovina: the new-old disease. *Bosn J Basic Med Sci* 2009; 9(1): 39-43.
42. Bahri O, Fazaa O, Ben Alaya-Bouafif N, Bouloy M, Triki H, Bouattour A. Role of Toscana virus in meningoencephalitis in Tunisia. *Pathol Biol (Paris)* 2011; 59(6): e125-7.
43. Ehrnst A, Peters CJ, Niklasson B, Svedmyr A, Holmgren B. Neurovirulent Toscana virus (a sandfly fever virus) in Swedish man after visit to Portugal. *Lancet* 1985; 1: 1212-3.
44. Eitrem R, Vene S, Niklasson B. Incidence of sand fly fever among Swedish United Nations soldiers on Cyprus during 1985. *Am J Trop Med Hyg* 1990; 43(2): 207-11.
45. Eitrem R, Niklasson B, Weiland O. Sandfly fever among Swedish tourists. *Scand J Infect Dis* 1991; 23(4): 451-7.
46. Beersma MF, Grimbergen YA, Kroon FP, Veldkamp PJ. Meningitis caused by Toscana virus during a summer stay in Italy. *Ned Tijdschr Geneesk* 2004; 148(6): 286-8.

47. Imirzalioglu C, Schaller M, Bretzel RG. Sandfly fever Naples virus (serotype Toscana) infection with meningeal involvement after a vacation in Italy. *Dtsch Med Wochenschr* 2006; 131(50): 2838-40.
48. Defuentes G, Rapp C, Imbert P, Durand JP, Debord T. Acute meningitis owing to phlebotomus fever Toscana virus imported to France. *J Travel Med* 2005; 12(5): 295-6.
49. Sonderegger B, Hachler H, Dobler G, Frei M. Imported aseptic meningitis due to Toscana virus acquired on the island of Elba, Italy, August 2008. *Euro Surveill* 2009; 14(1). pii: 19079.
50. Kay MK, Gibney KB, Riedo FX, Kosoy OL, Lanciotti RS, Lambert AJ. Toscana virus infection in American traveler returning from Sicily, 2009. *Emerg Infect Dis* 2010; 16(9): 1498-500.
51. Becker M, Zielen S, Schwarz TF, Linde R, Hofmann D. Pappataci fever. *Klin Padiatr* 1997; 209(6): 377-9.
52. Tesh RB, Saidi S, Gajdamovic SJ, Rodhain F, Vesenjaj-Hirjan J. Serological studies on the epidemiology of sandfly fever in the Old World. *Bull World Health Organ* 1976; 54(6): 663-74.
53. Ozbek Y, Ertabaklar H, Ciufolini MG, et al. Sandfly fever viruses (Phleboviruses) transmitted by phlebotomus in Turkey. *Microbiologia Balkanica* 2003, 3rd Balkan Conference of Microbiology, 4-6 September 2003, Istanbul, Turkey. *Proceedings and Abstract Book*, p: 1152-5.
54. Carhan A, Uyar Y, Ozkaya E, et al. Characterization of a new new phlebovirus related to Sandfly fever Sicilian virus isolated during a Sandfly fever epidemic in Turkey. *J Clin Virol* 2010; 48(4): 264-9.
55. Torun Edis C, Yağcı Çağlayık D, Uyar Y, Korukluoğlu G, Ertek M. Kırkkale ilinde saptanan tatarcık humması salgını. *Mikrobiyol Bul* 2010; 44(3): 431-9.
56. Kocak Tufan Z, Weidmann M, Bulut C, et al. Clinical and laboratory findings of a sandfly fever Turkey Virus outbreak in Ankara. *J Infect* 2011; 63(5): 375-81.