

**T.C.**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Aras Havzası ve Kars Platosu Sivrisineklerinde Batı Nil Virusü Varlığının**  
**Moleküler Yöntemlerle Araştırılması**

**(DOKTORA TEZİ)**

**Özge KUÇLU**

**Danışman**

**Prof. Dr. Atila AKÇA**

**II. danışman**

**Yrd. Doç. Dr. Cem ÖZİÇ**

**HAZİRAN- 2015**

**KARS**

Bu tez çalışması 2014-VF-17 numaralı proje ile KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Fonu tarafından desteklenmiştir

**T.C.**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Aras Havzası ve Kars Platosu Sivrisineklerinde Batı Nil Virusu Varlığının  
Moleküler Yöntemlerle Araştırılması**

(DOKTORA TEZİ)

Özge KUÇLU

**Danışman**  
**Prof. Dr. Atila AKÇA**  
**II. danışman**  
**Yrd. Doç. Dr. Cem ÖZİÇ**

HAZİRAN-2015  
KARS

## KABUL ONAY SAYFASI

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Özge KUÇLU'nun Prof. Dr. Atila AKÇA'nın danışmanlığında Doktora tezi olarak hazırladığı "Aras Havzası ve Kars Platosu Sivrisineklerinde Batı Nil Virüsü Varlığının Moleküler Yöntemlerle Araştırılması" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy *birliği*... ile kabul edilmiştir.

19 / 06 / 2015

### Adı ve Soyadı

**Baskan:** Prof. Dr. Atila AKÇA

**Üye :** Prof. Dr. Zati VATANSEVER

**Üye :** Doç. Dr. Mehmet Ali KIRPIK

**Üye :** Doç. Dr. Esin GÜVEN

**Üye :** Doç. Dr. Yakup YILDIRIM

### İmza



Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun ....../....../200. gün ve ..../  
..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hidayet Metin ERDOĞAN

Enstitü Müdürü

Bu doktora tez çalışmasını, bütün bilgi ve birikimimi kendisine borçlu olduğum, yaptığım doktora tez çalışmasını bana miras olarak bırakan, tanıdığım yüreği en güzel insan olan özlemlle andığım merhum hocam Doç. Dr. Adnan ALDEMİR'e ithaf ediyorum.

## ÖNSÖZ

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında doktora tezi olarak hazırlanmıştır.

Doktora öğrenimim ve tez çalışmam boyunca bilgi ve desteğini benden esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Atila AKÇA'ya,

Tez çalışmamın her aşamasında maddi ve manevi olarak bana destek olan, laboratuvarını ve bilgisini bana açan tez ikinci danışmanım Yrd. Doç. Dr. Cem ÖZİÇ'e

Yüksek lisans öğrenimimden bu yana her konuda yanımda olan, maddi, manevi ve bilgi desteğini benden esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Berna Demirci'ye

Doktora sürecim boyunca tüm imkânlarını bana sunan ve kucak açan Başta Prof. Dr. Zati VATANSEVER olmak üzere Parazitoloji Anabilim dalı ve Biyoloji Anabilim dalı hocalarıma,

Eğitimim boyunca bana destek olan ve dostluklarını esirgemeyen, arazi çalışmalarım için bana eşlik ve yardım eden arkadaşlarım Yrd. Doç. Dr. Evren KOÇ, Yrd. Doç. Dr. Mustafa SERTÇELİK, Yrd. Doç. Dr. Murat BEYTUR, Mehmet Emin YAYLA, Uzman Biyolog Yakup ŞAŞMAZ, Uzman Biyolog Sedat İNAK, Araş. Gör. Dr. Neslihan MUTLU, Araş. Gör. Gül Esmâ AKDOĞAN, Doktora öğrencisi Hilal BEDİR ve diğer tüm hocalarım ve arkadaşlarıma,

Çalışmamda bana kalacak yer imkânı sağlayan ve çalışmama destek olan Kuzey Doğa Derneği çalışanlarına,

Maddi ve manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda ve destekçim olan sevgili aileme teşekkür ederim.

HAZİRAN 2015

Özge KUÇLU

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>SAYFA</b>
<b>ÖZET</b>	<b>VIII</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>X</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>	<b>X</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>XIV</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ</b>	<b>XVI</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	<b>XVII</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Sivrisineklerin Biyo-Ekolojik Özellikleri</b>	<b>4</b>
<b>2.2. Sivrisineklerin Sistematiği</b>	<b>5</b>
<b>2.3. Sivrisineklerin Hastalık Geçişindeki Rolü</b>	<b>10</b>
<b>2.4. Batı Nil Virusu</b>	<b>12</b>
2.4.1. Batı Nil Virusunun Tarihçesi	12
2.4.2. Batı Nil Virusunun Sınıflandırılması	15
2.4.3 Batı Nil Virusu'nun Yapısı ve Genomu	17
2.4.3.1 Yapısal Proteinler	18
2.4.3.2 Yapısal Olmayan Proteinler	18
2.4.4 Batı Nil Virusu'nun Replikasyonu	19
2.4.5 Batı Nil Virusu'nun Rezervuar ve Vektörleri	20
2.4.5.1 Kuşlarda Batı Nil Virusu	20
2.4.5.2 Sivrisineklerde Batı Nil Virusu	21
2.4.6 BNV'nin Bulaşma Döngüsü	24
2.4.7 Patogenez ve Patoloji	26
2.4.8 Klinik	27
2.4.9 İmmunite	28

2.4.10 Tanı	29
2.4.10.1 Serolojik Yöntemler	29
2.4.10.2 Moleküler Yöntemler	31
2.4.10.3 Antijen testleri	33
2.4.10.4 İmmunohistokimya	34
2.4.11 Tedavi, Kontrol ve Korunma	34
2.4.12 Türkiye’de Batı Nil Virusü’nun Epidemiyolojisi	36
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>40</b>
<b>3.1 Çalışma Alanlarının Özellikleri</b>	<b>40</b>
<b>3.2 Araştırma Alanının İklimi</b>	<b>43</b>
<b>3.3 Arazi Çalışmaları</b>	<b>44</b>
<b>3.4. Moleküler Çalışmalar</b>	<b>46</b>
3.4.1. RNA İzolasyonu ve Saflaştırılması	46
3.4.1.1. Sivrisineklerden Total RNA İzolasyonu	46
3.4.1.2. RNA’ların Spektrofotometre’de Ölçümü, Miktar ve Kalite Tayini	47
3.4.1.3. Toplam RNA’dan Geri Transkripsiyon (RT) Reaksiyonu ile cDNA’nın Üretilmesi	47
3.4.1.4. BNV Spesifik Primerlerin Tasarlanması	48
3.4.1.5 PZR Reaksiyon Koşulları:	49
3.4.1.5.1 cDNA Kopyasının Üretimi:	49
3.4.1.5.2 Agaroz Jel Analizi ve Jel Görüntüleme İşlemi	49
3.4.1.5.3 PZR Ürünlerinin Jelden Saflaştırılması	49
<b>3.5 Bulguların Değerlendirilmesi</b>	<b>50</b>
<b>4.BULGULAR</b>	<b>52</b>
<b>4.1 Sivrisinek Örneklerinin Sayı Ve Dağılımı</b>	<b>52</b>
<b>4.2 Sivrisinek Örneklerinde Virus İncelemeleri</b>	<b>57</b>
4.2.1 Sivrisinek RNA’larının İzolasyonu ve cDNA’nın Klonlanması	58

<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	<b>78</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b>	<b>90</b>
<b>7. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>122</b>
<b>EKLER</b>	<b>124</b>



## ÖZET

Batı Nil Virüsü'nün hayat döngüsü, kuşlar ile bu kuşlardan kan emerek beslenen sivrisinekler arasındadır. Kuşlardan kan emerek virüsü alan sivrisinekler yine kan emme yolu ile virüsü insan, at, evcil ve yabani kanatlılara bulaştırmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalar Kars Platosu ve Aras Havzası'nın göçmen kuşların göç yolu güzergâhında olduğunu ve virüsün vektörlüğünü yapabilecek olan sivrisinek türlerini bulundurduğunu göstermektedir. Türkiye sınırları içerisinde Aras Havzası'nda virüsün varlığına yönelik herhangi bir çalışma bulunmazken, Kars Platosu'nda BNV'nin ördeklerde var olduğu bilinmektedir. Ancak her iki bölgede de virüsün vektörlerine yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Her iki bölgenin de kuş göç yolu üzerinde olması, BNV'nin vektörü olabilecek sivrisinekleri barındırması, yörede kaz, ördek ve at yetiştiriciliğinin yaygın olması bu bölgeleri Batı nil ateşi hastalığı bakımından riskli kılmaktadır.

Bu çalışmada, 2013-2014 yıllarına ait Haziran-Ağustos aylarında hem iklimsel hem de coğrafi olarak birbirinden farklılık gösteren Kars Platosu ve Aras Havzası sivrisineklerinde Batı Nil Virüsü varlığının moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlandı. Çalışmada Haziran-Ağustos aylarında ergin sivrisinekler New Jersey ışık tuzakları ve ağız aspiratörleri ile toplandı ve laboratuvara canlı olarak getirildi. Buz üzerinde morfolojik olarak tür teşhisleri yapıldıktan sonra toplandıkları tarih ve yerleşim birimlerine göre ayrılarak 2-50'şerlik gruplar olacak şekilde ependorf tüplere alındı ve laboratuvar çalışmalarının başlamasına kadar -80 °C'de saklandı. BNV'ye ait nükleik asitlerin saptanması için standart RT-PZR yöntemi uygulandı. RT-PZR sonucu elde edilen ürünlerden uygun olan bantlar jelden kesilip alınarak saflaştırıldı ve dizi analizi yapıldı. Elde edilen dizilere BLAST analizi yapıldı ve virüsün hangi kökene ait olduğu belirlendi. Belirlenen türler çeşitli biyoinformatik programlarla karşılaştırıldı ve filogenetik ağaç oluşturuldu. Türlerin, yılların ve bölgelerin enfeksiyon oranları PooledInfRate, version 4.0 programı ile hesaplandı.

Çalışma sonucunda Kars Platosu ve Aras Havzası'ndan toplam 15.287 sivrisinek toplandı (Kars Platosu 3355, Aras Havzası 11.932) ve 376 havuz oluşturuldu. RT-PZR sonucunda test edilen 376 havuzdan 128 (%34.04)'i BNV nükleik asitleri açısından pozitif bulundu. Enfeksiyon oranları, bu konuda kabul edilen yöntemler ile hesaplandığında MIR (Minimum Infection Rate) 8,37/1000 sivrisinek, MLE

(Maximum Likelihood of Infection) 10,22/1000 sivrisinek olarak belirlendi. Kars Platosu'nda enfeksiyon oranları MIR 6.56/1000 sivrisinek ve MLE 7.49/1000 sivrisinek oldu. Aras Havzası'nda ise enfeksiyon oranları MIR 8.88/1000 sivrisinek ve MLE 11.03/1000 sivrisinek olarak bulundu.

Çalışmada pozitif bulunan türler *Ochleratatus caspius*, *Culex theileri*, *Culex pipiens ssp.*, *Anopheles maculipennis* kompleks ve *Anopheles hyrcanus* türleri oldu. *Ochleratatus caspius*, *Culex theileri*, *Culex pipiens ssp.* ve *Anopheles maculipennis* kompleks hem Kars Platosu, hem de Aras Havzası'nda enfekte bulundu. BNV nükleik asitleri en çok *Ochleratatus caspius* türüne ait havuzlarda bulunmasına rağmen, MLE enfeksiyon oranları sayıca az olan *Culex pipiens* türünde daha yüksekti.

Kars Platosu ve Aras Havzası'nda pozitif bulunan 8 havuza ait bantlar saflaştırılarak dizi analizi yapıldı. Yapılan analiz sonucunda tespit ettiğimiz BNV'nin, daha önce Orta Afrika ve Eskişehir'de tespit edilen virusla %99 otanında benzerlik gösterdiği ve bunlarla birlikte Köken 1'de yer aldığı belirlendi.

Sonuç olarak bu çalışma ile Kars Platosu ve Aras Havzası sivrisineklerinin BNV nükleik asitlerini taşıdığı, BNV nükleik asitlerini taşıyan en yaygın türün sırasıyla *Ochleratatus caspius*, *Culex theileri*, *Culex pipiens* ve *Anopheles maculipennis* olduğu, en yüksek enfeksiyon oranının ise *Culex pipiens*'de olduğu, yörelerdeki virusun Köken 1'e ait olduğu ve en çok Türkiye'den Eskişehir ilinde attan izole edilen virus ve Orta Afrika Cumhuriyeti'nden insandan izole edilen virus ile benzerlik gösterdiği belirlendi.

**Anahtar kelimeler:** Batı Nil Virusu, BNV, RT-PZR, Sivrisinek, Kars Platosu, Aras Havzası

## **ABSTRACT**

The lifecycle of the West Nile Virus is perpetuated by migratory birds and the mosquitoes which feed by sucking blood from those birds. Mosquitoes which take the virus while sucking blood from migratory birds transmit it to people, horses and domestic fowl, again through sucking blood. Previously conducted studies suggest that the Kars Plateau and Aras Basin are on the flightpath of migratory birds and virus in the harbour those species of mosquitoes which can be vectors of the virus. Although no studies have been undertaken aimed at determining the presence of the virus in the Aras Basin, the West Nile Virus (WNV) is known to be present in ducks in the Kars Plateau. Nonetheless, no studies on the viral vectors are available in either region. Since both of these regions are on the migration route of the birds, harbour the mosquitoes which may be vectors of WNV and have extensive goose, duck and horse breeding, they are at risk of WNV.

In this study, it is aimed to investigate that the presence of WNV in mosquitoes on Kars Plateau and Aras Basin which are differential both climatically and geographically in the year 2013-2014 of June-August by molecular methods. In the study, adult mosquitoes were collected with New Jersey light-traps and mouth aspirators and conveyed in June-August to the laboratory alive. After species diagnosis had been made morphologically, mosquitoes were kept on ice, classified in respect of collection date and locations, placed in eppendorf tubes in groups of 2-50 and kept in -80 °C till starting to laboratory studies. The standard RT-PCR method was used to identify the nucleic acids characteristic of WNV. Convenient bands were cut from the products acquired as a result of RT-PCR removed from the gel and, purified sequence analysed. BLAST analysis was performed on the sequences obtained and the origins of the virus were determined. The species identified were compared to various bioinformatics programs and incorporated into the phylogenetic tree. Infection rate of species, years and locality was calculated by PooledInfRate program, version 4.0.

In the result of study, 15.287 mosquitoes samples have been collected in Kars Plateau and the Aras Basin (Kars Plateau 3355, Aras Basin 11.932) and 376 pools have been created. 128 (%34.04) from 376 from tested pool of RT-PCR results were found positive for WNV nucleic acids. Infection rate, as calculated by acknowledged methods,

MIR (Minimum Infection Rate) was determined as 8.37/1000 mosquitoes, MLE (Maximum Likelihood of Infection) was determined as 10.22/1000. Infection rate on the Kars Plateau was MIR 6.56/1000 mosquitoes and MLE 7.49/1000 mosquitoes. Infection rate in Aras Basin was found as MIR 8.88/1000 mosquitoes and MLE 11.03/1000 mosquitoes.

The positive found species in the study were *Ochleratatus caspius*, *Culex theileri*, *Culex pipiens ssp.*, *Anopheles maculipennis* complex and *Anopheles hyrcanus*. In both Kars Plateau and Aras Basin, *Ochleratatus caspius*, *Culex theileri*, *Culex pipiens ssp.* and *Anopheles maculipennis* complex were found infected. Although the presence of WNV nucleic acids were found the most in the pools belong to *Ochleratatus caspius* species, MLE infection rates were higher than outnumbered *Culex pipiens ssp.*

Bands which belong to positive found eight pools were purified and sequence analyses have been carried out. WNV, which has been determined as a result of the analysis, resemble to the virus which previously has been detected in Central Africa and Eskişehir with %99 similarity and after all has been determined that takes place in Lineage 1.

As a result, with this study, it has been determined that mosquitoes of Kars Plateau and Aras Basin contain WNV's nucleic acids, the most common species that carry the WNV nucleic acid are *Ochleratatus caspius*, *Culex theileri*, *Culex pipiens* ve *Anopheles maculipennis*, the highest infection rate is in *Culex pipiens*, virus in regions belongs to Lineage 1 and it is the most similar to virus isolated from horse from Eskişehir Province (Turkey) and from human from Central African Republic.

**Key Words:** West Nile Virus, WNV, RT-PZR, Mosquito, Kars Plateau, Aras Basin

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ALFV	Alfuy Virus
BNV	Batı Nil Virusu
BOS	Beyin Omirilik Sıvısı
<sup>0</sup> C	Santigrat Derece
CDC	Centers for Disease Control (Hastalık Kontrol Merkezi)
CFT	Koplement fiksasyon testi
CI	Confidence intervals (Güven Aralığı)
CPCV	Cacipacore Virus
dk.	Dakika
DNA	Deoxyribonucleic acid
EEE	Doğu At Ensefaliti
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
ER	Endoplazmik Retikulum
g	Gram
GPS	Küresel konumlama sistemi
HIA	Hemaglutinasyon inhibisyon
IFA	Immunofluorescence assay
JEV	Japon Ensefaliti virusu
KOUV	Koutango Virus

MIR	Minimum Enfeksiyon Oranı
$\mu$ l	Mikrolitre
ml	Mililitre
MLE	Maximum Likelihood Estimation
mRNA	Messenger Ribonucleic acid
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
MVEV	Murray Valley EnsefalitiVirusu
Nm	nanometre
NASBA	Taqman assay ve nükleik asid temelli amplifikasyon
NCBI	The National Center of Biotechnology Information
NS	Non- suctural (Yapısal olmayan)
PCR	Polymerase chain reaction
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PRNT	Plak Redüksiyon Nötralizasyon Testi
RAMP	The Rapid Analyte Measurement Platform
RNA	Ribonucleik asit
SLEV	St. Louis Ensefaliti Virusu
USUV	Usutu Virus
VEE	Venezüella At Ensefalit
WEE	Batı At Ensefaliti
YAOV	Yaounde Virus

## **ŞEKİLLER DİZİNİ**

<b>Şekil 2.1</b> Sivrisineklerin yaşam döngüsü	5
<b>Şekil 2.2</b> 2015 yılına kadar Avrupa ve Orta Doğu'da insanlardan bildirilen BNV vakaları	14
<b>Şekil 2.3</b> Köken 1 ve Köken 2 BNV'lerinin filogenetik ağacı	16
<b>Şekil 2.4</b> BNV'nin yaşam döngü	25
<b>Şekil 4.1</b> 2013 yılında Kars Platosu'ndan toplanan sivrisineklerin aylara göre dağılımı	53
<b>Şekil 4.2</b> 2013 yılında Aras Havzası'ndan toplanan sivrisineklerin aylara göre dağılımı	54
<b>Şekil 4.3</b> 2014 yılında Kars Platosu'ndan toplanan sivrisineklerin aylara göre dağılımı	55
<b>Şekil 4.4</b> 2014 yılında Aras Havzası'ndan toplanan sivrisineklerin aylara göre dağılımı	56
<b>Şekil 4.5</b> 2013 yılı sivrisineklerin aylık dağılımının bölgelere göre gösterimi	56
<b>Şekil 4.6</b> 2014 yılı sivrisineklerin aylık dağılımının bölgelere göre gösterimi	57
<b>Şekil 4.7</b> RNA izolasyon sonuçlarının agaroz jelden görüntüsü	58
<b>Şekil 4.8</b> 2013 yılı örneklerinden BNV pozitif olanlara ait cDNA'nın PZR sonuçlarının agaroz jelden görüntüsü	59
<b>Şekil 4.9</b> 2014 yılı örneklerinden BNV pozitif olanlara ait cDNA'nın PZR sonuçlarının agaroz jelden görüntüsü	60
<b>Şekil 4.10</b> Bölgelere göre toplanan sivrisinek sayıları	65
<b>Şekil 4.11</b> Merkezlerdeki enfeksiyon oranları	67
<b>Şekil 4.12</b> Bölgelere göre türlerin MLE enfeksiyon oranları	69
<b>Şekil 4.13</b> Bölge ve türlere göre enfeksiyon oranları	70

<b>Şekil 4.14</b> Dizi analizine alınan pozitif örnekler	72
<b>Şekil 4.15</b> NCBI veri tabanında dizinin karşılaştırılması sonucu elde edilen benzer diziler	75
<b>Şekil 4.16</b> NCBI veri tabanında dizinin karşılaştırılması sonucu elde edilen en çok benzerlik gösteren diziler	76
<b>Şekil 4.17</b> Kars Platosu ve Iğdır Ovası'nda bulduğumuz virusun filogenetik ağaçtaki yeri	77



## RESİMLER DİZİNİ

**Resim 3.1** Sivrisinek örneklemede tuzakların kurulumu

46

## **ÇİZELGELER DİZİNİ**

<b>Çizelge 2.1</b> BNV'nin tarihçesi	13
<b>Çizelge 2.2</b> BNV serokompleksinin dağılımı	15
<b>Çizelge 2.3</b> BNV kökenlerinin genom dizilimleri ve patojenliklerindeki farklılıklar	17
<b>Çizelge 2.4</b> Batı Nil Virusu'nun tespit edildiği sivrisinek türleri	23
<b>Çizelge 2.5</b> Türkiye'de insan ve diğer bazı memelir türlerinde BNV çalışmaları	37
<b>Çizelge 2.6</b> Vektör ve rezervuar çalışmaları	38
<b>Çizelge 3.1</b> Kars Platosu'nun 2013-2014 yıllarına ait sıcaklık ortalamaları	43
<b>Çizelge 3.2</b> Aras Havzası'nın 2013-2014 yıllarına ait sıcaklık ortalamaları	44
<b>Çizelge 3.3</b> Araştırma alanı için seçilen köyler, bölge numarası ve koordinatları	45
<b>Çizelge 3.4</b> Çalışmada kullanılan Batı Nil Virusu spesifik primerler	48
<b>Çizelge 3.5</b> Ürünler için kullanılan PZR programı	49
<b>Çizelge 4.1</b> 2013 yılı Kars Platosu'ndan toplanan sivrisinek türleri ve sayıları	52
<b>Çizelge 4.2</b> 2013 yılı Aras Havzası'ndan toplanan sivrisinek türleri ve sayıları	53
<b>Çizelge 4.3</b> 2014 yılı Kars Platosu'ndan toplanan sivrisinek türleri ve sayıları	54
<b>Çizelge 4.4</b> 2014 yılı Aras Havzası'ndan toplanan sivrisinek türleri ve sayıları	55
<b>Çizelge 4.5</b> 2013-2014 yıllarında bölgelerde oluşturulan toplam havuz sayısı	58
<b>Çizelge 4.6</b> Kars Platosu'nda bulunan sivrisinek türleri, havuz sayıları ve pozitif havuz sayıları	61
<b>Çizelge 4.7</b> Aras Havzası'nda bulunan sivrisinek türleri, havuz sayıları ve pozitif havuz sayıları	62
<b>Çizelge 4.8</b> Kars Platosu'nda aylara göre pozitif örnek sayısı	63
<b>Çizelge 4.9</b> Aras Havzası'nda aylara göre pozitif örnek sayısı	63

<b>Çizelge 4.10</b> Örneklem merkezlerinde bulunan enfeksiyon oranları	66
<b>Çizelge 4.11</b> Bölgelere göre enfeksiyon oranları	67
<b>Çizelge 4.12</b> Kars Platosu ve Aras Havzası'nda BNV nükleik asidi bulunan türlerin enfeksiyon oranları	68
<b>Çizelge 4.13</b> Kars Platosu ve Aras Havzası'nın enfeksiyon oranları	69
<b>Çizelge 4.14</b> 2013 ve 2014 yılları enfeksiyon oranları	70
<b>Çizelge 4.15</b> Kars Platosu 2013-2014 yılları enfeksiyon oranları	71
<b>Çizelge 4.16</b> Kars Platosu BNV nükleik asitlerinin bulunduğu türlerin enfeksiyon oranları	71
<b>Çizelge 4.17</b> Aras Havzası 2013-2014 yılları enfeksiyon oranları	71
<b>Çizelge 4.18</b> Aras Havzası'nda BNV nükleik asitlerinin bulunduğu sivrisinek türlerinin enfeksiyon oranları	72
<b>Çizelge 4.19</b> Dizi analizi sonucu elde edilen dizinin gen bankasında NCBI veri tabanında BLAST programı kullanarak değerlendirilmesi	72

## 1. GİRİŞ

Günümüze kadar sistematikte yer edinmiş canlıların %80'ini arthropoda (eklembacaklılar) şubesi oluşturmaktadır. %50'den fazla bir oran ile insectler (böcekler) bu şubenin en büyük sınıfını oluşturur ve bu sınıfa ait yaklaşık 900.000 tür olduğu tahmin edilmektedir[1]. Yeryüzünde, kan emerek beslenen 24.000'den fazla arthropod türünün varlığı bilinmektedir[2].

Sistematikteki en büyük şube olması ile arthropodlar sayısız hastalığın taşıyıcılığını yapmaktadır. Arboviruslar: sivrisinekler, tatarcıklar ve keneler gibi kan emen arthropodlarla taşınan viruslardır. Bugüne kadar tanımlanmış 550'den fazla arbovirusun varlığı bilinmektedir ve bunların 130'undan fazlası omurgalı konaklarda çeşitli hastalıklara neden olmaktadır[3]. Dünya'da bilinen enfeksiyon hastalıklarının yaklaşık 1/3'i kan emen sinekler ve keneler gibi vektörler tarafından taşınmaktadır[4]. Arboviruslar geniş bir virus familyasını temsil eder ki, bu viruslar; *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Bunyaviridae*, *Reoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Orthomyxoviridae* ve *Asfarviridae*' dir[5].

Halk sağlığını etkileyen çevresel faktörler sıcaklık, yağış, bağıl nem, rüzgâr, güneş, radyasyon gibi atmosferik parametreler ya da topografyanın tatlı su göletleri, nehirler, göller, ana konaklar (memeliler, sürüngenler, kuşlar), doğal yırtıcılar, parazitler, vektörler, patojenler ve bitki örtüsü gibi karasal parametreler ile ilişkilidir[6]. İklim değişikliğinin ekolojik süreç üzerinde iki farklı etkisi mevcuttur. Birincisi; virus, konak ve vektörler üzerindeki direk etkileri[7,8] ikincisi ise, habitatlar, ekosistem ve organizmalar arasındaki ilişkiler üzerine olan indirek etkilerdir[9]. Batı Nil Virusu gibi sivrisinek kaynaklı etkenlerin, hem iklimsel hem de çevresel varyasyonlar tarafından etkilenebileceği yüksek olasılıkla kabul edilmektedir[10]. Virusun yayılımı, çevresel faktörlerden etkilenen hem omurgalı hem de omurgasız konak ya da vektörlerin dağılımı ile kontrol edilir. Bu nedenle çevresel faktörler, vektör kaynaklı hastalıkların dinamikleri ya da dağılımlarında kritik bir rol oynamaktadır[8,10].

Vektör organizmalardan Diptera takımı Nematocera alttakımı üyesi olan sivrisinekler, *Culicidae* familyası içerisinde yer almaktadır[11]. *Culicidae* familyası *Anophelinae*,

Culicinae ve Toxorhynchitinae olmak üzere üç alt familyaya ayrılır. İnsan sağlığı açısından en önemli gruplar Anophelinae ve Culicinae içerisinde bulunmaktadır[12]. Dünyada Culicinae alt familyasına ait 108 cins ve 3045 türün varlığı tespit edilmiştir[13]. Türkiye’de ise 50’nin üzerinde tür tespit edilmiş ve bunların arasında *Aedes/Ochleratatus*, *Uranotaenia*, *Culiseta*, *Culex*, *Coquillettida*, *Orthopodomyia* ve *Anopheles* cinslerinin bulunduğu bildirilmiştir[14]. Sivrisinekler; *Flavivirus*, *Phlebovirus* ve *Alphavirus* cinslerine ait çok sayıda arbovirusu taşımaktadır. Flaviviruslar, sivrisineklerle taşınan viruslar, kenelerle taşınan viruslar, vektörü bilinmeyen viruslar ve bazı belirli böceklere özgü viruslar olarak 4 ana gruba ayrılmaktadır. Sivrisinek ve kenelerle taşınan grup, omurgalı konaklar ve özellikle kan emen eklembacaklılar arasındaki doğal bir taşınma döngüsünü sürdürür. 3. grup olan vektörü bilinmeyen viruslar, yayılım için bilinen bir eklembacaklı olmaksızın yarasalar ve kemirgen konaklar ile sınırlıdır. 4. Grup ise ağırlıklı olarak *Aedes* ve *Culex* cinsi sivrisinekler tarafından yayılmaktadır[15]. Flaviviruslar insan patojenlerini de içeren Batı Nil Virus (BNV), Deng Virus (DENV) ve Japon Ensefalit Virus (JEV) gibi 70’den fazla virus türünü içermektedir[16].

Batı Nil virusu (BNV) ilk kez 1937 yılında Afrika ülkesi olan Uganda’da enfekte bir kadından izole edilmiştir. BNV Flaviviridae familyasının *Flavivirus* cinsinde yer almakta olup, yaklaşık olarak 50 nm çapında, zarflı, ikozahedral nükleokapsidli, tek zincirli pozitif polariteli RNA genomu içeren bir arbovirustur. Serolojik olarak Japon ensefaliti virusu (JEV) antijenik kompleksi içerisinde yer almaktadır. RNA genomu 3 adet yapısal; kapsid (C), membran (prM/M), zarf (E) proteini ve 7 adet de yapısal olmayan (Non-structural); NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5 proteini kodlamaktadır[17]. BNV, diğer flavivirüslere kıyasla dünya genelinde daha yaygın görülmektedir[18]. Hastalığın asıl döngüsü göçmen kuşlar ve sivrisinekler arasında olduğundan, göçmen kuşlar bu yaygınlıktan birinci derecede sorumlu tutulmaktadır[19]. BNV’nin replikasyon döngüsü Culicinae sivrisineklerini, nadiren de olsa akarları, keneleri ve çok çeşitli kuşları kapsamaktadır. İnsanlar ve atlar gibi diğer bazı memeli türleri BNV hastalığının klinik semptomlarını gösteren son konaklarıdır[20].

Türkiye biyoçeşitlilik bakımından zenginliği, sınır komşuları ile ilişkileri, vektör aktiviteleri ve coğrafik konumu ile BNV için uygun bir ülkedir. Bugüne kadar yapılan

BNV çalışmalarından elde edilen verilere göre, virusun ülkemizde varlığı tespit edilmiş ve insanları enfekte ettiği gösterilmiştir[21].

Türkiye'nin Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan ve gerek iklimsel gerekse coğrafi olarak birbirinden farklı özellikler gösteren Aras Havzası ve Kars Platosu çok çeşitli sulak alanlarıyla sivrisinek larvalarına uygun habitatlar sağlamakta ve yoğun hayvancılık faaliyetlerinden dolayı ergin bireylerin beslenebileceği değişik konak türlerini de beraberinde bulundurmaktadır. Bu yöreler ayrıca, milyonlarca kuşun göç yolu üzerinde bulunduğundan biyolojik açıdan oldukça önemli coğrafik bölgelerdir. Alanların, barındırdığı tüm şartlar göz önüne alındığında, BNV gibi birçok arboviral hastalık için riskli bölgeler olduğu söylenebilir.

Ülkemizde BNV varlığının bilinmesine karşın, Aras Havzası'nda virusa yönelik herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Kars Platosu'nda yapılan bir çalışma ördeklere anti- BNV antikorlarının varlığını ortaya koymuştur[22]. Ancak vektör sivrisinekler için herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı, Aras Havzası ve Kars Platosu'nda hem göçmen kuşların varlığı hem vektör sivrisinek türlerinin varlığı, hem de bu gölgelerde ördek ve kaz gibi kümes hayvanlarının varlığından dolayı potansiyel bir vektör olan sivrisineklerde BNV nükleik asitlerinin varlığının moleküler yöntemlerle tespit edilmesi, virusun hangi aylarda hangi sivrisinek türlerinde bulunduğu belirlenmesi, farklı coğrafik ve iklimsel özellik gösteren bu iki bölgede virus mevcudiyetindeki farklılıkları ortaya çıkarabilmek ve gelecekteki çalışmalara yol gösterebilmektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

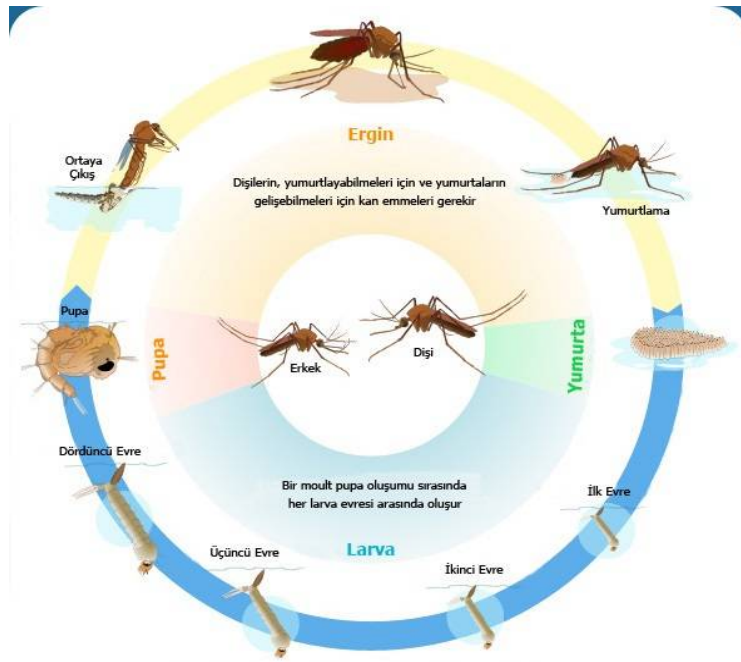
### 2.1 Sivrisineklerin Biyo-Ekolojik Özellikleri

Sivrisinekler Diptera takımı, Culicidae familyası içerisinde yer almakta olup, tropikal, subtropikal ve ılıman iklim kuşaklarında geniş bir yayılım göstermektedirler. Ancak okyanuslar, yüksek dağlar ve geniş çöller gibi coğrafik bariyerler sivrisineklerin yayılımında sınırlayıcı rol oynamaktadır[23]. Sivrisinekler tam başkalaşım (holometabol) gösteren canlılardır. Hayat döngüleri yumurta, larva, pupa ve ergin olarak 4 evrenden oluşmaktadır[24]. Sivrisineklerin yumurtalarını bıraktığı, larva ve pupaların yaşayıp geliştiği, doğal olabildiği gibi yapay da olabilen, büyük ve küçük her türlü su birikintisine jüt, yani üreme alanı denmektedir. Her çeşit göl, gölet, bataklık, havuz, doğal çukurlar, taş oyukları, ağaç kovukları, çayır ve ormanlarda birikmiş kar, yağmur ve sulama suları, kanallar, terk edilmiş kuyular, çeltik tarlaları, çeşme yalakları, fosseptikler, bataklık kıyısındaki hayvan ayak izleri, fabrika atık suları vb. yerlerdeki sular, sivrisineklerin üreme alanlarındandır[23, 25-29].

Yumurtadan çıkan larvaların erişkin evreye kadar olan gelişme süresi iklimsel koşullara, suyun fizikokimyasal özelliklerine ve mevsimler gibi faktörlere bağlıdır[26]. Sivrisinek larva ve pupaları suda yaşar. Larvalar oldukça hareketlidir ve larva gelişim süresi, bir haftadan birkaç aya kadar değişebilir. Sivrisinek larvalarının gelişmesi için uygun sıcaklık aralığı 22 °C ile 25 °C arasında değişmektedir. Optimum koşullarda larva süresi ortalama 7-10 gündür. Yumurtanın açılma zamanı geldiğinde larva, başındaki çok ince ve keskin olan küçük çıkıntıyla yumurta kabuğunu keser ve dışarı çıkar[24,26]. Sivrisinek pupası virgül şeklinde ve hareketsizdir. Pupa beslenmez ve su yüzeyine çıkarak solunum deliği ile havadan oksijen alır. Erginleşme sırasında, pupanın abdomeni su yüzeyine paralel bir konum alır ve hava yutarak çıkma işi kolaylaştırılır. Bu dönem ortalama olarak iki gündür. Pupadan çıkan ergin, kanatlarını ve bacaklarını kurutarak sudan çıkar[23]. Sivrisinek erginleri, larva ve pupa evrelerinden farklı olarak karada yaşarlar. Ergin sivrisinekler konakçı tercihi, barınak seçimi ve üreme davranışları bakımından farklılıklar göstermektedir. Ekzofilik (açık alanda faal olan) türler daha çok ağaç kovukları, mağaralar, pamuk tarlaları ve orman içlerinde yaşar, gün

boyunca insan ve hayvanlardan kan emerler. Endofilik (kapalı alanlarda faal olan) türler ise ahır, ev, boş depo gibi daha çok korunaklı yerleri tercih ederler[23].

Sivrisineklerin dinlenme için yer seçimini sıcaklık, nem, güneş ışığı ve rüzgâr gibi faktörler belirler. Beslenme koşulları uygun ise sivrisinekler üreme alanlarından fazla uzaklaşmadan kan emebilirler. Sivrisinek popülasyonundaki hareketler sıcaklık, nem, üreme alanı, konakçı, sivrisineğin fizyolojik durumu gibi faktörlere bağlıdır. Biyotik ve abiyotik koşullar uygun olduğu zaman ergin dişi sivrisinekler, ortalama 15 gün ile 6 ay arasında değişen bir ömür uzunluğuna sahiptir. Erkek bireylerin ömrü dişilere göre daha kısadır[23]. Sivrisineklerin yalnızca dişileri kan emmektedir[30]. Erkek sivrisinekler ise gerekli enerjiyi bitki öz sularından alır[31, 32]. Kan, genellikle memeli hayvanlar ve kuşlardan emilir; fakat birkaç sivrisinek türü düzenli olarak kurbağa ya da sürüngenler üzerinden beslenir (batrokofil). Bazı türler de hem kuşlardan (ornitofil) hem de memeli hayvanlardan kan emmektedir[23, 24].



**Şekil 2.1** Sivrisineklerin yaşam döngüsü[33]

## 2.2. Sivrisineklerin Sistematığı

Sivrisinekler, Diptera takımı Culicidae familyası içerisinde yer almakta olup Anophelinae, Culicinae ve Toxorhynchitinae olmak üzere 3 alt familyaya ayrılmaktadır.



Anophelinae ve Culicinae alt familyalarına bağlı 112 cinsi temsil eden en az 3531 türün varlığı tespit edilmiştir[34].

Son yapılan değişiklikler ile culicidae familyasının sistematiği g¼ncellenmiřtir. Bu sistematiğe g¼re[35];

Aile: Culicidae

1.Alt aile: Anophelinae

1.Cins: *Anopheles*

Alt cinsler: *Anopheles*, *Cellia*, *Kerteszia*, *Nyssorhynchus*

2.Cins: *Chagasia*

2.Alt aile: Culicinae

1.Tribus: Aedeomyiini

Cins: *Aedomyia*

Alt cinsler: *Aedeomyia*, *Lepiothauma*

2.Tribus: Aedini

1.Cins: *Aedes*

Alt cinsler: *Aedes*, *Aedimorphus*, *Alanstonea*, *Albuginosus*, *Belkinus*, *Bothaella*, *Canraedes*, *Christophersiomyia*, *Diceromyia*, *Edwardsaedes*, *Fredwardsius*, *Huaedes*, *Indusius*, *Isoaedes*, *Leptosomatomyia*, *Lorrainea*, *Neomelaniconion*, *Paraedes*, *Pseudarmigeres*, *Scutomyia*, *Skusea*, *Stegomyia*

2.Cins: *Armigeres*

Alt cinsler: *Armigeres*, *Leicesteria*

3.Cins: *Ayurakitia*

4.Cins: *Eretmapodites*

5.Cins: *Haemagogus*

Alt cinsler: *Conopostegus, Haemagogus*

6.Cins: *Heizmannia*

Alt cinsler: *Heizmannia, Mattinglyia*

7.Cins: *Ochlerotatus*

1.Seksiyon Alt Cinsler: *Chaetocruimyia, Finlaya, Geoskusea, Halaedes, Kenknightia, Levua, Macleaya, Molpemyia, Mucidus, Nothoskusea, Ochlerotatus, Protomacleaya, Pseudoskusea, Rhinoskusea, Rusticoidus, Zavortinkius*

2.Seksiyon Alt Cinsler: *Abraedes, Aztecaedes, Gymnometopa, Howardina, Kompia*

8.Cins: *Opifex*

9.Cins: *Psorophora*

Alt cinsler: *Grabhamia, Janthinosoma, Psorophora*

10. Cins: *Udaya*

11.Cins: *Verrallina*

Alt cinsler: *Harbachius, Neomacleaya, Verrallina*

12.Cins: *Zeugomyia*

3.Tribus: Culicini

1.Cins: *Culex*

Alt cinsler: *Acalleoemyia, Acallyntrum, Aedinus, Afroculex, Allimanta, Anoedioparpa, Barraudius, Belkinomyia, Carrollia, Culex, Culiciomyia,*

*Deinocerites, Eumelanomyia, Kitzmilleria, Lasiosiphon, Lophoceraomyia, Lutzia, Maillotia, Melanoconion, Micraedes, Microculex, Neoculex, Phenacomyia, Thaiomyia, Tinolestes*

2.Cins: *Galindomyia*

4.Tribus: Culisetini

Cins: *Culiseta*

Alt cinsler: *Allotheobaldia, Austrotheobaldia, Climacura, Culicella, Culiseta, Neotheobaldia, Theomyia*

5.Tribus: Ficalbiini

1.Cins: *Ficalbia*

2.Cins: *Mimomyia*

Alt cinsler: *Etorleptiomyia, Ingramia, Mimomyia*

6.Tribus: Hodgesiini

Cins: *Hodgesia*

7.Tribus: Mansoniini

1.Cins: *Coquillettidia*

Alt cinsler: *Austromansonia, Coquillettidia, Rhynchotaenia*

2.Cins: *Mansonia*

Alt cinsler: *Mansonia, Mansonioides*

8. Tribus: Orthopodomyiini

Cins: *Orthopodomyia*

9.Tribus: Sabethini

1.Cins: *Isostomyia*

2.Cins: *Johnbelkinia*

3.Cins: *Limatus*

4.Cins: *Malaya*

5.Cins: *Maorigoeldia*

6.Cins: *Onirion*

7.Cins: *Runchomyia*

Alt cinsler: *Ctenogoeldia*, *Runchomyia*

8.Cins: *Sabethes*

Alt cinsler: *Davismyia*, *Peytonulus*, *Sabethes*, *Sabethinus*, *Sabethoides*

9.Cins: *Shannoniana*

10.Cins: *Topomyia*

Alt cinsler: *Suaymyia*, *Topomyia*

11.Cins: *Trichoprosopon*

12.Cins: *Tripteroidea*

Alt cinsler: *Polylepidomyia*, *Rachionotomyia*, *Rachisoura*, *Tricholeptomyia*, *Tripteroidea*

13.Cins: *Wyeomyia*

Alt cinsler: *Antunesmyia*, *Caenomyiella*, *Cruzmyia*, *Decamyia*, *Dendromyia*, *Dodecamyia*, *Exallomyia*, *Menolepis*, *Nunezia*, *Phoniomyia*, *Prosopolepis*, *Wyeomyia*, *Zinzala*

#### 10.Tribus: Uranotaeniini

Cins: *Uranotaenia*

Alt cinsler: *Pseudoficalbia*, *Uranotaenia*

#### 11.Tribus: Toxorhynchitini

Cins: *Toxorhynchites*

Alt cinsler: *Afrorhynchus*, *Ankylorhynchus*, *Lynchiella*, *Toxorhynchites*

Türkiye sivrisineklerinin sistematigi üzerine yapılan ilk çalışmaya göre, ülkemizde 7 cinse bağlı 55 türün (*Anopheles* 13, *Aedes* 19, *Culex* 16, *Culiseta* 4, *Mansonia*, *Orthopodomyia* 1 ve *Uranotaenia* 1) varlığı bildirilmiştir[36]. Ancak eski çalışmalarda Türkiye’de varlığı bildirilmiş 6 tür (*An. melanoon*, *An. multicolor*, *An. sergentii*, *An. stephensi*, *Ae. aegypti* ve *Cx. adairi*) şüpheli veya hatalı kayıtlar olduğu gerekçesi ile yeni listeye alınmamıştır ve düzenlenen Türkiye sivrisinek türleri listesinde 8 cinse ait 48 türün (*Anopheles* (*An.*) 10, *Aedes* (*Ae.*) 3, *Ochlerotatus* (*Oc.*) 15, *Culex* (*Cx.*) 13, *Culiseta* (*Cs.*) 4, *Coquillettia* (*Coq.*) 1, *Orthopodomyia* (*Or.*) 1 ve *Uranotaenia* (*Ur.*) 1) varlığı bildirilmiştir[14, 37].

Bununla birlikte Türkiye’de son yıllarda yapılan çalışmalar ile 8 yeni türün daha (*Cs. alaskaensis*, *Oc. cataphylla*, *Oc. pullatus*, *Oc. punctator*, *Oc. Leucomelas*, *Oc. Cyprius*, *Cs. Subochrea* ve *Ae. Albopictus*) varlığı belirlenmiştir ve tür sayısı 56 olarak güncellenmiştir[38-40].

### 2.3. Sivrisineklerin Hastalık Geçişindeki Rolü

Günümüzde hastalıkların tekrar ortaya çıkmasını ve yayılmasını sağlayan sosyal, ekolojik ve küresel düzeyde değişiklikleri içeren bir çok faktör vardır[41]. Antibiyotik gibi tıbbi ilaçlar ve böcek ilaçlarının aşırı kullanımı, ekonomik eşitsizlikler, habitatların

kaybı, iklim değişiklikleri, tropik bölgelerden ılıman bölgelere edilen seyahatlar, eklem bacaklı vektörlerin artması, nüfus sayısındaki artış ve kentleşme, doğal çevrenin bozulması ve uluslararası ticaret gibi birçok faktör hastalıkların ortaya çıkmasına, yayılmasına ve patojenlerin direnç kazanmasına katkıda bulunmuştur. Özellikle modern ulaşım araçları ile insan, hayvan, bitki ve eşya hareketliliğinin hızlanması birçok patojenin yayılmasını kolaylaştırmıştır. Hemen hemen dünyanın her yerinde, enfekte insanlar hastalık belirtilerini göstermeye başlamadan, yani hastalık etkeni henüz kuluçka dönemindeyken başka ülkelere seyahat edebilmekte ve gittikleri ülkelerde hastalığın yayılmasına neden olmaktadır[41, 42]. Küresel iklim değişikliği ile birlikte vektör canlıların insanlarla olan temaslarının artması, endemik hastalıkların sıklaşması ve coğrafik yayılımlarının artmasının yanı sıra yeni vektör kaynaklı hastalıkların ortaya çıkmasına da neden olduğu düşünülmektedir[43].

Dişi sivrisineklerin hastalık etkenlerini nakledebilmesi için en az bir yumurtlama döngüsünün tamamlanması ve tekrar kan emmesi şarttır[30]. Kan, genellikle memeli hayvanlar ve kuşlardan emilir; fakat birkaç sivrisinek türü düzenli olarak kurbağa ya da sürüngenler üzerinden beslenir. Bazı türler de hem kuşlardan hem de memeli hayvanlardan kan emmektedir[23, 24]. Kan emme özelliği ile sivrisineklerin dünyada her yıl yaklaşık 70 milyondan fazla insana hastalık ajanlarını bulaştırdığı tahmin edilmektedir. Bundan dolayı sivrisinekler dünyada büyük bir halk sağlığı problemi oluşturmaktadır[44].

Sivrisinekler tarafından bulaştırılan hastalık etkenleri; viruslar, protozoonlar ve filarial nematodlar olarak genellikle 3 kategoriye ayrılmaktadır. Sivrisinekler, yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden ve çoğunlukla ciddi sosyal ve ekonomik kayıplara yol açan Sıtma, Japon Ensefaliti, La Crosse Ensefaliti, St. Louis Ensefaliti, Batı Nil Virusu, Batı At Ensefaliti, Deng Virusu, Rift Vadisi Ateşi, Sarı Humma, Murray Vadisi Ensefaliti, O'Nyong-nyong, Ross Nehri Virusu, Çikunguya, Sindbis ve Filariasis gibi tehlikeli hastalıkların geçişinde önemli bir vektör olarak işlev görmektedirler[11, 45]. Ayrıca sivrisineklerin *Francisella tularensis* (tularemi etkeni) ve *Bacillus anthracis* (şarbon etkeni)'i de neklettiği bildirilmiştir[46].

Uluslararası arbovirus katalogunda kayıtlı 520'den fazla arbovirus varlığı bilinmektedir. Bu arbovirusların yarısından daha azının sivrisineklerle bağlantısı vardır ve yaklaşık 100 tanesi insanları enfekte etmektedir[47]. Arbovirusların karmaşık döngüsü genel olarak bir omurgalı konak ile (insan hariç) bu konak üzerinden beslenen eklembacaklılar arasındadır. İnsanlar ve evcil hayvanlar eklembacaklılar aracılığı ile bu arbovirusları alsalar bile hastalığın taşınmasına yetecek kadar viremi geliştiremezler[48]. Birçok arbovirus, omurgalı konaklarda ensefalit ve ensefalomiyelit'e sebep olduğundan insanlarla bağlantılı salgınlarda çok fazla belirgin olabilmektedir[49]. Aynı şekilde evcil hayvanların ensefalit enfeksiyonları da yerel hayvancılık işletmeleri üzerinde ciddi ekonomik baskı kurabilmektedir[50, 51].

Hem insan hem de diğer omurgalı canlılarda çeşitli hastalıklara neden olan arboviruslar 1)Togaviridae (*Alphavirus*), 2) Flaviviridae (*Flavivirus*), 3) Bunyaviridae (*Bunyavirus*ve *Phlebovirus*) olarak 3 familyaya ayrılır. *Alphavirus*'lar, Doğu At Ensefaliti (EEE), Batı At Ensefalit (WEE), Venezüella At Ensefalit (VEE) ve Ross Nehri Virusu etkenlerini içerir. *Flavivirus*'lar, Deng Humması, Sarı Humma, Japon Ensefaliti ve St. Louis Ensefalit (SLE) etkenlerini içerir. *Bunyavirus*'lar, Kaliforniya Ensefalit, Jamestown Kanyon Virusu, La Crosse Ensefalitini ve Rift Vadisi Ateşi etkenlerini içermektedir[52].

Türkiye'de ise yapılan çalışmalar birçok önemli arbovirusun varlığını ortaya çıkarmıştır. Yapılan bazı vektör araştırmaları sonucu Türkiye'de Batı Nil Ateşi, Deng Humması ve Sarı Humma gibi sivrisinek kaynaklı arboviral hastalıkların serolojik olarak var olduğu düşünülmektedir[21]. Ayrıca henüz Türkiye'de varlıkları tespit edilmemiş olsa da vektör ve konak türlerin varlığından, uygun iklimsel koşullardan ve sınır ülkelerde görülmelerinden dolayı da Chikungunya ve Rift Vadisi Ateşi de Türkiye için risk oluşturan hastalıklar arasında sayılmaktadır[23, 53, 54].

## **2.4. Batı Nil Virusu**

### **2.4.1. Batı Nil Virusunun Tarihçesi**

BNV ilk defa 1937 yılında bir Afrika ülkesi olan Uganda'nın Batı Nil bölgesinde hasta bir kadının kanından izole edilmiştir[54]. 1937 yılından günümüze kadar olan bazı önemli çalışmalar çizelge'de gösterildiği gibidir.

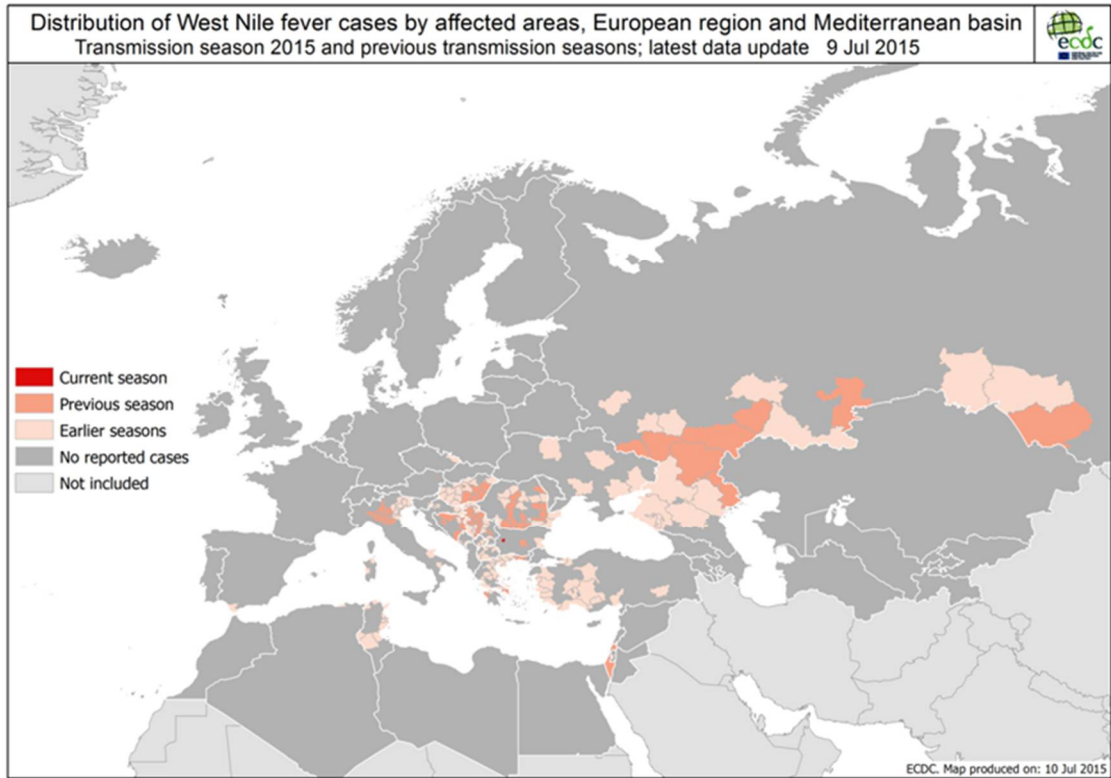
**Çizelge 2.1** BNV'nin tarihçesi

Yıl	Önemi	Kaynak
1937	İlk defa Uganda'da Batı Nil bölgesinde bir kadından izole edildi	54
1942	BNV'nin JEV ile antijenik yakınlığı olduğu anlaşılmıştır	55
1943	Virusun sivrisinekler tarafından nakledildiği laboratuvar ortamında ispatlandı	56
1950	Virus Orta Doğu ve Kuzey Afrika'da Batı Nil ateşi olarak bilinmeye başlamıştır	57
1950'li yılların başı	Mısır'da yapılan çalışmalarla BNV'nin sivrisinek, kuş ve insanlarda varlığı bildirilmiştir.	58
1950'li yılların başı	İsrail'deki salgınlardan oluşturulan çeşitli kayıtlarla, ilk defa bu hastalığın klinik karakteristik özellikleri tespit edilmiştir	59
1957	İlk kez BNV ve Merkezi Sinir Sistemi (MSS) hastalığı arasında bir bağlantı olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca yine bu yıllarda hastalığın şiddeti ile hastaların yaşı arasında bir korelasyon kurulmuştur	59-61
1960'lı yılların başı	Atlarda oluşan ensefalite ilk kez BNV'nin de sebep olduğu anlaşılmıştır	62
1970	Türkiye' de ilk defa insan ve koyunlarda BNV bulunmuştur	63
1996-2003	Romanya (1996), Fas (1996/2003), İtalya (1998), Rusya (1999) ve İsrail (1998-2000)'de ciddi salgınlar meydana gelmiştir	64, 65-67
1999	İlk defa Batı Yarımküre'de görülmüştür ve diğer bölgelere de yayılmıştır.	68
1999	Kuzey Amerika'da BNV'nin ilk defa New York 1999 (NY99) suşu elde edilmiştir. Aynı yıl İsrail'de de BNV salgını olup enfekte bir kazdan izole ettikleri virusun NY99 suşu ile aynı genomik yakınlığa sahip olduğu görülmüştür.	69
2010	Yunanistan'daki salgında 33 kişinin hayatını kaybettiği toplam 262, Romanya'da 413, Türkiye' de 35 olası ve 12 teyit edilmiş olarak toplam 47, Rusya'da 413, Portekiz 1, İspanya 1 ve Macaristan'da 19 olgu teyit edilmiştir	70, 71
2010	2010 yılında Köken 1'den farklı olarak Yunanistan ve Rusya'da Köken 2 suşu bulunmuş ve sağlık açısından önemi vurgulanmıştır	72, 73
2011	Yunanistan'da 69, Romanya'da 14, İtalya'da 10, Arnavutluk'ta 2, Makedonya'da 4, İsrail'de 33, Rusya Federasyonu'nda 136, Tunus ve Türkiye'de 3, Ukrayna'da ise 8 insan vakası bildirilmiştir	70, 74



Böylece 21. yüzyılda BNV enfeksiyonları; sivrisineklerin uygun yaşam alanları ile yabani kuşların göç yollarının üzerinde bulunduğu, dünyanın birçok ülkesinde geniş bir coğrafyaya yayılmıştır.

Türkiye’de BNV vakaları incelendiğinde; 1964’den günümüze, insanlarda ve hayvanlarda seropozitiflik çalışmaları yapılmakla birlikte, 2010 yılına kadar akut seyirli bir salgına rastlanmamış, 2010 yılında Manisa’da BNV’den dolayı 3 kişinin hayatını kaybetmesi ile Türkiye’de BNV çalışmaları hız kazanmıştır[75]. Seroprevalans çalışmalarında farklı oranlarda (% 0,6-57) sonuçlar elde edilmiştir ve özellikle İç Anadolu bölgesinde virüsün sporadik olarak seyrettiği tespit edilmiştir[75, 76]. Ağustos-Ekim 2010 tarihleri arasında Ege, Marmara, İç Anadolu, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu’dan toplam 44 olguda BNV enfeksiyonu doğrulanmıştır[77]. Güncel veriler ülkemizin hemen hemen her bölgesinde BNV aktivitesinin sürdürdüğünü göstermektedir[21, 22].



**Şekil 2.2** 2015 yılına kadar Avrupa ve Orta Doğu’da insanlardan bildirilen BNV vakaları [78]

#### 2.4.2. Batı Nil Virusunun Sınıflandırılması

BNV, Flaviviridae familyası, *flavivirus* cinsinde yer almaktadır. BNV, JEV serokompleksi içinde yer almakta olup bu serokompleks içinde, JEV, St. Louis Ensefaliti Virus (SLEV), Cacipacore Virus (CPCV), Koutango Virus (KOUV), Murray Valley Ensefaliti Virus (MVEV), Alfuy Virus (ALFV), Usutu Virus (USUV), Yaounde Virus (YAOV), Kunjin Virus ve BNV bulunmaktadır. Bütün *flavivirus*lar birbirlerine yakın antijenik yapıya sahiptirler. Özellikle Kunjin virusu, BNV'nin alt tipi olarak tanımlanmaktadır[79].

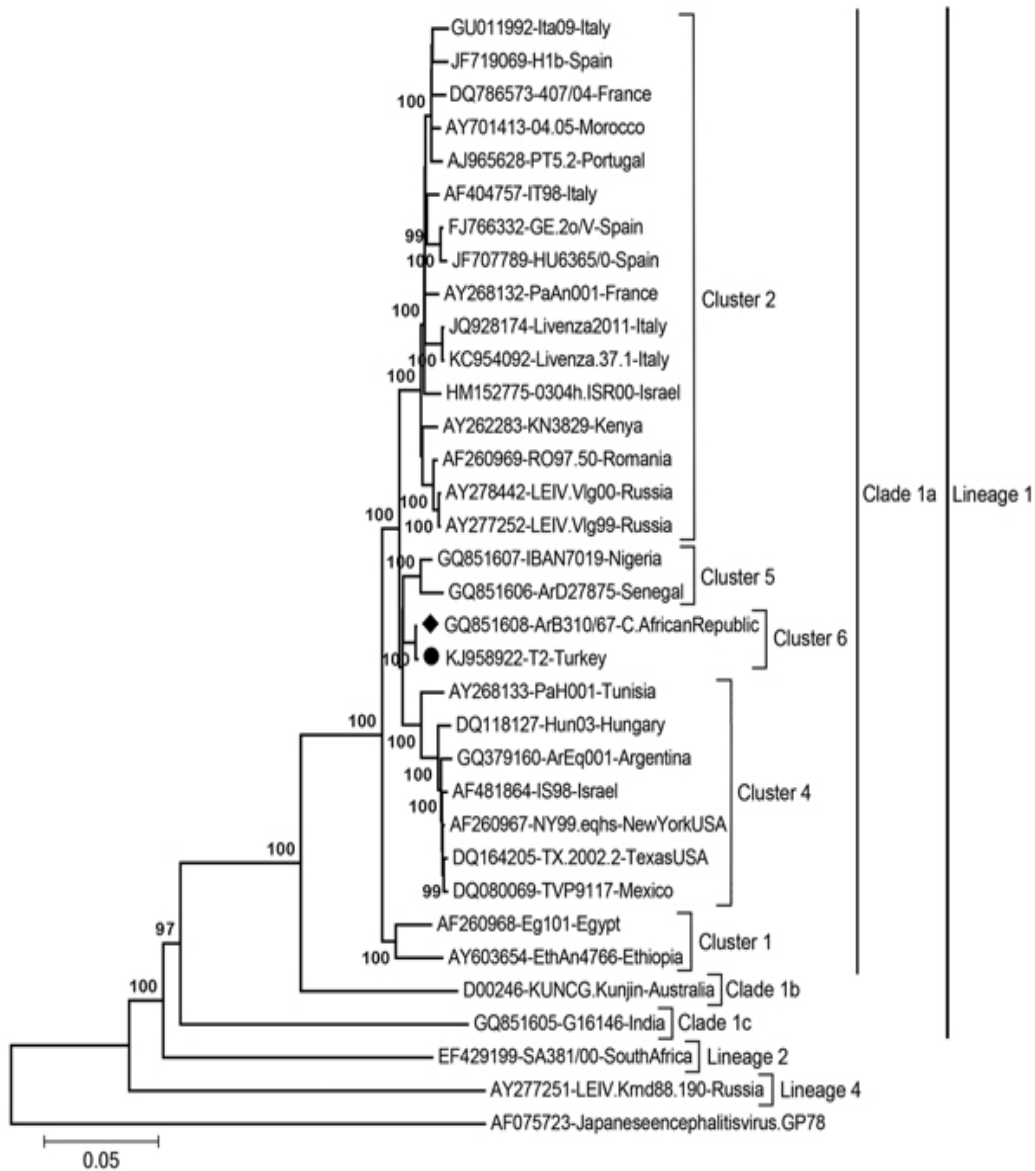
**Çizelge 2.2** BNV serokompleksinin dağılımı[80].

Cacipacore	Kuzey Amerika
Koutango	Afrika
Japon Ensefaliti	Asya, Okyanusya, Avustralya
Murray Vadisi Ensefaliti	Avustralya
Alfuy	Avustralya
St. Louis Ensefaliti	Kuzey Amerika, Güney Amerika
Batı Nil Virus	Asya, Avrupa, Afrika, Kuzey Amerika
Kunjin	Avustralya
Yaounde	Afrika

BNV genetik olarak en az 5 ana kökene ayrılrsa da en yaygın olanları Köken 1 ve Köken 2'dir. Köken 1 virusun üyeleri genellikle insan ensefaliti ile ilişkilidir ve Afrika, Hindistan, Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'dan izole edilmiştir[81, 82]

Köken 2 virus ise Güney Afrika ve Madagaskar'dan izole edilmiş olup enzootik döngülerde yer almaktadır. İnsanlarda klinik ensefalite neden olmadığı düşünülse de, son yıllarda Yunanistan ve İtalya'da insanlardan izole edilen virusun Köken 2 suşundan olduğu görülmektedir. Ayrıca Köken 2 suşunun, Macaristan ve Güney Afrika'da atlarda nörolojik bozukluğa neden olduğu da gösterilmiştir[83-87].

Köken 3 virus 1997 yılında Çek Cumhuriyetinde *Cx. pipiens*'den izole edilmiş olup insanlardaki patojenliği bilinmemektedir[88]. Köken 4 virus 1998 yılında Rusya' da *Dermacentor marginatus* türü keneden izole edilmiş olup son olarak da İspanya'dan bildirilmiştir[89,90]. Köken 5 virus Hindistan'dan izole edilmiştir. Önceden alt küme olarak Köken 1 içerisinde yerleştirilse de genom dizi analizleri ile Köken 5 olarak sınıflandırılmasının uygun olacağı kanaatine varılmıştır[91].



Şekil 2.3 Köken 1 ve Köken 2 BNV'lerinin filogenetik ağacı[92].

**Çizelge 2.3** BNV kökenlerinin genom dizilimleri ve patojenliklerindeki farklılıklar[93]

BNV	Yayılm Alanı	İnsanlarda Oluşturduğu Hastalık Belirtileri	Etkilediği Hayvanlar	İzole Canlılar	Edildiği
Köken 1(Clade 1a)	Dünya Çapında	Ateş, Menenjit, Akut Ensefalit, Flassid Paralisis	Kuş, Sürüngen, Memeliler	İnsan, Kuş, Sürüngen	Sivrisinek, Memeli,
Köken 1(Clade 1b)	Avusturalya (Kunjin)	Ateş, Menenjit, Ensefalit	Kuşlar	Sivrisinek, İnsan	
Köken 2	Kuzey ve Merkezi Afrika, Madagaskar, Avrupa	Ateş, Menenjit, Ensefalit	Kuşlar, Atlar	Sivrisinek, Kuş, At, İnsan	
Köken 3	Avusturya	Bilinmiyor	Bilinmiyor	<i>Culex pipiens</i>	
Köken 4	Rusya	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Dermacentor Marginatus	
Köken 5(Köken 1, Clade 1c)	Hindistan	Ateş, Menenjit, Ensefalit	Meyve Yarasaları	Sivrisinek, Yarasa	Kuş,

#### 2.4.3 Batı Nil Virusü'nün Yapısı ve Genomu

BNV 40-60 nm büyüklüğünde olup, ikosahedral simetrik bir nükleokapside sahiptir. Virusun genomu tek zincirli RNA yapısında ve pozitif polariteli olup, 11000–12000 nükleotitten oluşmaktadır. Bu genom, üçü yapısal (C, M ve E) ve yedisi yapısal olmayan (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b ve NS5) 10 önemli protein kodlamaktadır. Nükleokapsidi çevreleyen konakçı kaynaklı çift kat lipit membrana sahiptir ve 20 ile 53 kDa büyüklüğünde iki önemli integral protein (E ve PrM) içerir[80, 94]. Bu proteinler; konak yelpazesi, doku tropizmi, replikasyon, immün cevap için B ve T hücrelerinin uyarımı gibi virusa ait önemli özelliklerden sorumludurlar[17].

### 2.4.3.1 Yapısal Proteinler

**Kapsid (C) proteini:** C proteini viral RNA'yı çevreleyen ve viral nükleokapsidlerde bulunan, temel aminoasitlerce zengin yaklaşık 11 kDa büyüklüğündedir. C ana kapsid proteindir ve genomik RNA'yı bağlamaktadır. Premembran proteininin endoplazmik retikulum translokasyonu için sinyal bir peptid olarak hizmet eder[95].

**Premembran (PrM):** PrM, 26 kDa'lık öncü bir viral membran proteindir (M). PrM'nın Pr segmenti E proteinini dengeler ve füzyojenik form içerisinde erken füzyonun oluşmasını engelleyerek yeniden düzenler[96,97].

**E-Proteini:** Virionun en büyük yüzey proteini yaklaşık olarak 53 kDa'lık boyutu ile E glikoproteindir. İmmunolojik önem taşıyan ve virulans faktörü olarak bilinen viral hemaglutininlerdendir. Virus bu proteini sayesinde konak hücreye bağlanarak nöroinvasif bir özellik kazanır. Bu glikoprotein ayrıca, reseptör tanıma özelliği, virusun konak hücre içerisine girişi esnasında füzyon ve bağlanmaya aracılık, kırmızı kan hücrelerinin aglütasyonu gibi özellikleri de vardır[80, 98,99].

### 2.4.3.2 Yapısal Olmayan Proteinler

**NS1 Proteini:** Yapısal olmayan protein 1 (NS1), virus replikasyonunun erken aşamalarında rol oynadığı düşünülen membran-bağılantılı yaklaşık olarak 46 kDa büyüklüğünde bir glikoproteindir[100]. Memeli hücreleri tarafından salgılanır ve hücre yüzeyinde bulunmaktadır[96, 100].

**NS2A ve NS2B Proteini:** NS2A proteini yaklaşık 22 kDa ile orta büyüklükte bir hidrofobik proteindir[101]. İnterferon (IFN) yanıtını engeller ve viral ünitelerin bir araya toplanması sırasında rol oynar. Ayrıca, RNA'nın paketlenmesinden replikasyonuna geçişinin ayarlanmasıyla alakalı olduğu da düşünülmektedir[101-103].

NS2B proteini 14 kDa'lık zara bağlanmış olan küçük bir proteindir. Viral NS3 proteazı için zorunlu kofaktör olduğundan dolayı NS3 proteini ile bir kompleks oluşturmaktadır. [104, 105]. Bu proteinin aynı zamanda enfeksiyon sırasında zar geçirgenliğinin değişimi ile de alakalı olabileceği düşünülmektedir[106].

**NS3 Proteini:** Yaklaşık 70 kDa büyüklüğü ile ikinci en büyük viral proteindir. Serin proteaz, helikaz, nükleosit trifosfat (NTPase) ve RNA trifosfadaz (RTPase) aktiviteleri gibi fonksiyonel özelliklere sahiptir[96, 100].

**NS4A ve NS4B Proteinleri:** NS4A yaklaşık 16 kDa büyüklüğündedir. Bu proteinin replikasyon kompleks stabilizasyonunda rol oynadığı öne sürülmektedir. NS4B ise 27 kDa büyüklüğünde olup fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Ancak bu proteinlerin, polimeraz kompleksinin lokalizasyonu ve aktivitesi için gerekli olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca interferon sinyalizasyonunu modifiye etmektedir[100, 107].

**NS5 Proteini:** 103 kDa büyüklüğü ile en büyük viral proteindir. RNA bağımlı RNA polimeraz enzimi ve metil transferazı kodladığı bilinmektedir ve replikasyon için zorunludur[96, 108].

#### **2.4.4 Batı Nil Virusu'nun Replikasyonu**

Flaviviral RNA sentezi, konservativ ve asimetriktir[97]. Replikasyon döngüsündeki ilk adım, viral yüzey glikoprotein ve hücresele reseptörler arasındaki etkileşimler yoluyla giriş noktasındaki hücrelere flavivirus parçacıklarının bağlanmasıdır[96, 100, 109]. Virus yüzeyindeki E proteini aracılığıyla konakçı hücre yüzeyindeki bir reseptöre bağlanarak hücre içerisine girer[110]. BNV viryonları, klattrin aracılı endositoz yolu ile hücreye girerek[111] endoplazmik retikuluma doğru taşınmaktadır[112]. Viral membran ile konak hücre membranının düşük pH ile füzyona uğraması sonucu nükleokapsid sitoplazma içerisinde serbest kalır[113, 114]. Serbest kalan RNA replikaz enzimi ile negatif polariteli RNA'yı sentezler. Sentezlenen negatif polariteli RNA, pozitif polariteli bir RNA'nın oluşturulması için bir kalıp olarak kullanılmaktadır. Ayrıca sentezlenen pozitif polariteli yeni RNA'lar ya viral protein sentezini devam ettirir ya da kapsid içerisinde paketlenir. Virus parçacık düzeneci endoplazmik retikulum içerisinde tomurcuklanma yoluyla olmaktadır. Endoplazmik retikulum içerisinde yeni RNA'lar ve olgunlaşmamış PrM proteini bulunmaktadır. PrM proteini hücre zarına geçişi sırasında parçalanarak olgun M proteini içeren enfektif virion oluşur ve olgun virus ekzositoz yolu ile hücreyi terk eder[96, 97, 100, 115-117].

#### **2.4.5 Batı Nil Virusu'nun Rezervuar ve Vektörleri**

BNV'nin rezervuarı ve ana konağı yabani kuşlar, biyolojik vektörü ise sivrisineklerdir. İnsan, at ve diğer bazı memeliler ise virusun rastlantısal konaklarıdır. Bu memeli konaklar vücutlarında taşınma siklusunu devam ettirecek kadar viremi oluşturmamışlarından son konak olarak kabul edilmektedirler[118]. Virusun replikasyon döngüsünde ikincil vektör olarak keneler ve nadiren de akarlar rol almaktadır. Ancak kene ve akarların sivrisinekler kadar etkili olmadıkları belirlenmiştir[17, 58, 119]. Vektör aracılığı olmadan son konakçılarda kendi aralarında hastalık geçişinin olmadığı bildirilse de[20, 68] kuşlarda BNV'nin vektör olmadan bulaşabileceği kanıtlanmıştır. Yapılan bir çalışmada kaz sürülerinde vektör aracılığı olmadan salgının yayıldığı tespit edilmiştir[120]. Başka çalışmalarda da kuşların BNV'yi oral yolla alabileceği, enfekte sineklerle beslenen kuşların Batı Nil hastalığına yakalandıkları gösterilmiştir[121]. BNV'nin sığır, dağ keçisi, koyun, eşek, katır, geyik, ren geyiği, evcil kedi ve köpek, kurt, dağ leoparı, evcil tavşan, babun, fil, timsah, gri sincap, doğu sincabı, gri kurt, büyük kahverengi yarasası ve gergedan gibi birçok canlıda varlığı bildirilmiştir[122, 123]. Sürüngenlerin uzun süreli viremi oluşturarak virusun kış aylarında hayatta kalmasını sağlayarak amplifikasyona katkıda bulunduğu düşünülmese rağmen[124, 125], Kuzey Amerika'da yapılan bir çalışmada 3 sürüngen (çizgili yılan, yeşil iguana ve kızıl yanaklı su kaplumbağası) ve 1 kurbağa (bullfrog kurbağası) türünde viremi oluşturmadığı ve hiçbir şekilde BNV belirtileri göstermediği belirtilmiştir[20, 124].

Yapılan bazı çalışmalarla virusun vektör aracılığı olmadan insanlarda, organ transfüzyonu, kan ve kan ürünleri transplantasyonu, anne sütü ve hamilelikte bebeğe geçtiği kesinlik kazanmıştır[126-131].

##### **2.4.5.1 Kuşlarda Batı Nil Virusu**

Yabani kuşlar, göç rotaları boyunca konakladıkları bölgelerde eklem bacaklılar tarafından istilaya uğrayabilirler. Böylece enfekte eklem bacaklılardan virüsü alabilir ya da virüsü eklem bacaklılara nakledebilirler. Kuşların, kanlarında yüksek düzeyde viremi oluşturduklarından virüsün en önemli ve en geniş konakları oldukları varsayılmıştır[80,

132]. BNV'nin özellikle Passeriformes takımı Corvidae familyasında çok yüksek viremi oluşturduğu hem saha hem de laboratuvar koşullarında tespit edilmiştir. Passeriformes takımı haricinde, Charadriiformes, Strigiformes, Falconiformes takımlarında da yüksek viremi oluşturduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur[121, 133]. BNV göçmen kuşlar haricinde yerli kanatlılarda da yüksek viremi oluşturmaktadır. Özellikle kırlangıç, kazlar ve kargalar virusun en sık rastlandığı kanatlılardır[134]. Virusun kuşlardan ilk izolasyonu 1950'li yılların başlarında Mısır'da gerçekleşmiştir[135]. Göçmen kuşlar ve BNV'nin ilişkisi Afrika'da kışlayan kuşların kışlama sırasında virusu aldıklarına ve kuzey yönünde gerçekleştirdikleri ilkbahar göçü sırasında bu virusu Avrupa'ya doğru taşıdıkları hipotezine dayanmaktadır[136]. Virusun yayılımında özellikle göçmen kuşların çok büyük etkisi olduğuna yönelik çeşitli çalışmalar yapılmış, bu çalışmalarla virusun Avrupa ve Akdeniz Havzası'na göçmen kuşlarla girdiği kanıtlanmıştır[137-144]. Okyanuslar gibi büyük bariyerlerden BNV göçmen kuşlar sayesinde geçmektedir. Göçmen olmayan kuşlardan olan kargalar BNV bakımından yüksek viremi gösterip, hem kentsel hem de kırsal alanlarda büyük popülasyonlar halinde görülebilmektedir. Bu büyük popülasyonlar insan ve diğer canlılar için hem BNV hem de diğer arboviruslar bakımından tehdit oluşturmaktadır[134, 145].

BNV salgınları özellikle göçmen kuşların uğradığı ve vektörlerinin bulunduğu sulak ve kentsel alanlarda görülmektedir. Örneğin; Afrika'da kışlayan kuşlar, nisan ve mayıs ayında kuzey yönüne doğru başlayan ilkbahar kuş göçü ile Avrupa'ya girerek virusun bu bölgeye girmesine neden olur. Temmuz ayından ekim ayına kadar da virus, yerel kuş popülasyonları ve bunun sonucunda da insan ve atlara geçmektedir[146].

#### **2.4.5.2 Sivrisineklerde Batı Nil Virusu**

BNV'nin doğadaki döngüsü kuşlar ve sivrisinekler arasında olduğundan sivrisineklerin BNV'nin ana vektörü olduğu düşünülmektedir[145]. Beslenme davranışa göre çoğunlukla kuşlardan, nadiren de memelilerden beslenen *Culex* cinsi sivrisineklerin Kuzey Amerika'da BNV'nin temel vektörü olduğu tespit edilmiştir. *Culex* cinsi sivrisineklerin çoğunun yapılan testlerle BNV'nin vektörü olduğu savunulmaktadır[147]. 1952-1954 yıllarında Mısır'da saha çalışmaları ile birlikte yapılan deneysel çalışmalarla sivrisineklerin BNV'nin vektörü olduğu kesinlik



kazanmıştır. Bu çalışmada izolatlar *Cx. antennatus*, *Cx. univittatus* ve *Cx. pipiens*'den elde edilmiştir[57, 148].

Yapılan çalışmalar ile Afrika ve Orta Doğu'da virusun ana vektörünün *Cx. univittatus* olduğu (belli alanlarda her ne kadar *Cx. poicilipes*, *Cx. neavei*, *Cx. decens*, *Ae. albocephalus* ya da *mimomyia* olsa da), Avrupa'da *Cx. pipiens*, *Cx. modestus* ve *Coquillettidia richiardii* olduğu, Asya'da *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. tritaeniorhynchus* ve *Cx. vishnui* olduğu tespit edilmiştir[149, 150]. Ayrıca Asya, Avrupa ve Orta Doğu'da yapılan çalışmalarla virusun *Cx. pipiens s.s.*, *Cx. theileri*, *Cx. modestus s.s.*, *Cx. univittatus*, *Oc. caspius* ve *An. maculipennis s.l.* türlerinde de bulunduğu ve bu türlerin virusun bulaşmasında etkili oldukları görülmüştür[136]. *Ae. vexans*, *Cx. salinarius*, *Oc. japonicus*, *Oc. triseriatus* gibi bazı türler de enfekte kuşlardan beslendikten sonra bazı duyarlı omurgalılara virüsü taşıyarak köprü vektör görevi yapmaktadır[151].

*Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. univittatus complex*, *Cx. pipiens*, *Ae. aegypti* ve *Ae. albopictus*'da yapılan çalışmalarla sivrisineklerde virusun vertikal geçişinin olduğu kanıtlanmıştır[149, 150, 152, 153].

**Çizelge 2.4** Batı Nil Virusu'nun tespit edildiği sivrisinek türleri[154, 155]

<i>Aedes aegypti</i>	<i>Aedes albopictus</i>	<i>Aedes atlanticus/tormentor</i>	<i>Aedes atropalpus</i>
<i>Ochlerotatus (Aedes) caballus</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) canadensis</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) cantator</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) caspius</i>
<i>Aedes cinereus</i>	<i>Aedes circumluteoulus</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) condolecens</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) dorsalis</i>
<i>Ochlerotatus (Aedes) dupreei</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) fitchii</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) fulvus</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) grossbecki</i>
<i>Ochlerotatus (Aedes) infirmatus</i>	<i>Aedes japonicus</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) melanimon</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) nigromaculis</i>
<i>Ochlerotatus (Aedes) provocans</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) sollicitans</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) squamiger</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) sticticus</i>
<i>Ochlerotatus (Aedes) stimulans</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) taeniorhynchus</i>	<i>Aedes triseriatus</i>	<i>Ochlerotatus (Aedes) trivittatus</i>
<i>Aedes vexans</i>	<i>Anopheles atropos</i>	<i>Anopheles barberi</i>	<i>Anopheles crucians/bradleyi</i>
<i>Anopheles franciscanus</i>	<i>Anopheles freeborni</i>	<i>Anopheles hyrcanus</i>	<i>Anopheles maculipennis</i>
<i>Anopheles punctipennis</i>	<i>Anopheles quadrimaculatus</i>	<i>Anopheles walkeri</i>	<i>Coquilletidi spp.</i>
<i>Coquillettidia perturbans</i>	<i>Coquillettidia richiardii</i>	<i>Culex apicalis</i>	<i>Culex bitaeniorhynchus</i>
<i>Culex coronator</i>	<i>Culex decens</i>	<i>Culex erraticus</i>	<i>Culex erythrothorax</i>
<i>Culex modestus</i>	<i>Culex neavei</i>	<i>Culex nigripalpus</i>	<i>Culex pipiens</i>
<i>Culex poicilipes,</i>	<i>Culex quinquefasciatus</i>	<i>Culex restuans</i>	<i>Culex salinarius</i>
<i>Culex stigmatosoma</i>	<i>Culex tarsalis</i>	<i>Culex territans</i>	<i>Culex theileri</i>
<i>Culex thriambus</i>	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	<i>Culex Univittatus</i>	<i>Culex Vishnui</i>
<i>Culiseta impatiens</i>	<i>Culiseta Inornata</i>	<i>Culiseta incidens</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>
<i>Culiseta melanura</i>	<i>Culiseta morsitans</i>	<i>Deinocerites cancer</i>	<i>Mansonia tittilans</i>
<i>Orthopodomyia signifera</i>	<i>Psorophora ciliata</i>	<i>Psorophora columbiae</i>	<i>Psorophora ferox</i>
<i>Psorophora howardii</i>	<i>Uranotaenia sapphirina</i>		

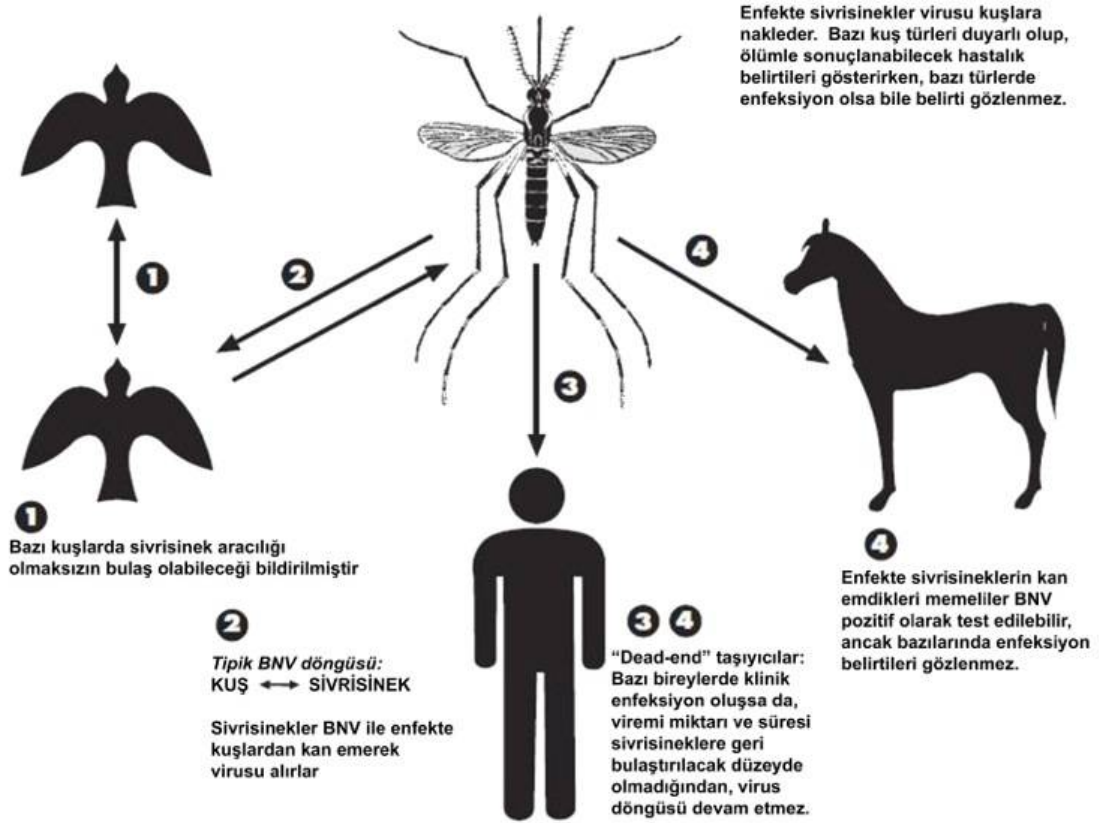
#### 2.4.6 BNV'nin Bulaşma Döngüsü

1952-1954 yıllarında Mısır'da yapılan BNV çalışmaları, virusun yayılma döngüsüne yönelik yapılan ilk kayıtları içermektedir[156]. Virusun doğadaki döngüsü dışı sivrisineğin enfekte bir kuştan kan emmesi ile başlar. Sivrisineğin beslenmesi esnasında virus, enfekte kan ile birlikte sivrisineğin bağırsağına geçerek bağırsak epitel hücrelerinde çoğalmaya başlar. Virus buradan sivrisineğin dolaşımına katılarak tükürük bezlerine taşınır ve burada çok yüksek miktarda çoğalır. Sivrisineklerin virüsü aldıktan sonra başka bir canlıya nakletme süreleri 10 gün ile 2 hafta arasında değişmektedir[157-159].

Sivrisineklerde populasyon yoğunluğu, beslenme davranışı, ömür uzunluğu ve herbir türün mevsimsel aktivitesi sivrisineğin vektörel öneminin belirlenmesinde dikkate alınacak unsurlardır[160]. Sivrisineğin metabolizması ve biyolojisi sıcaklık gibi çevresel şartlardan büyük ölçüde etkilenmektedir. Buna bağlı olarak virusun sineğin vücudunda çoğalmasında sıcaklığın etkisi oldukça fazladır. Sıcaklık artışı sivrisineklerin taşıdığı virus miktarını ve böylece de virusun başka canlılara geçme ve virusun yayılım oranını artırmaktadır[161]. Virusun sivrisinekteki amplifikasyonu için en uygun sıcaklığın 22 °C olduğu düşünülmektedir. Sivrisinek populasyonları, yumurta üretim süresinin kısalması ve yumurta miktarındaki artış ile artmaktadır. Bunda da sıcaklığın etkisi oldukça fazladır. Konak üzerinden kan emerek beslenme ve yumurtlamanın sıklığı vektör-konak temaslarını arttırmaktadır. Böylece patojenler daha hızlı gelişip, daha sık iletilmektedir[162].

Sivrisinekler beslenme ile virüsü alabilecekleri gibi transovaryal olarak da virüsü nakledebilirler. Yapılan çalışmalar ile bazı *Culex* ve *Aedes* cinsi sivrisineklerin virüsü vertikal ve horizontal olarak larvalarına geçirdikleri tespit edilmiştir[149,150, 152, 153]. Vertikal geçiş, enfekte dişi bireylerdeki virüsün, bireyin F1 döllerine geçmesi olarak tanımlanmaktadır[163]. Erkek bireyler vertikal olarak virüsü alabilir ve çiftleşme ile dişiye virüsü nakledebilir. Bu cinsel iletim doğada vertikal geçişin etkisini artırabilmektedir[164]. Yinede, BNV'deki vertikal geçiş oranı diğer flaviviruslara göre daha düşüktür[165].

Beslenme sonrası virüsü tükürük bezlerinde tutan enfekte sinek, beslenme amaçlı soktuğu konağa (at, insan, kanatlı ve sürüngenler gibi son konaklar) tükürük bezlerindeki virüsü iletir[158,159].



**Şekil 2.4** Batı Nil Virüsü'nün yaşam döngüsü[166].

Özellikle kuşlar olmak üzere kanatlılar BNV'nin en önemli konaklarıdır. Kuşlarda viremi yüksek düzeyde olup 7-8 gün sürmektedir[64-66]. Epidemik BNV salgınlarının olduğu çoğu bölgede virustan etkilenen kuşlarda (özellikle karga) ölümlerin gözlenmesi, kuşların virusa olan duyarlılığını göstermektedir[141, 167]. Virüsün farklı kıtalar, bölgeler ve coğrafyalara yayılmasında göçmen kuşların önemi çok büyüktür. Enfekte bir göçmen kuş, göç zamanı gittiği güzergâhlara virüsü taşır ve o bölgede virüsün yayılmasını sağlar. Ya da sağlıklı olsalar bile gittikleri bölgede enfekte bir sinek ile virüsü alıp başka bir bölgeye virüsün girmesini sağlarlar. Göçmen kuşlar haricinde

yerli kuş ve diğer kanatlıların da yaşadıkları bölgede virusun yayılımında rol oynadıkları düşünülmektedir[64, 168]. Ayrıca, kuşların enfekte sineklerle beslenerek virüsü oral yolla da alabileceği kanıtlanmıştır[133].

BNV birçok memeli ve nadir sürüngen türlerinde bulunsa da, çoğunlukla at ve insanlarda gösterilmiştir[81]. BNV'nin son konağı olarak görülen at ve insanlarda viremi düşük düzeyde ve yaklaşık 3 gün sürmektedir. Vireminin düşük düzeyde ve kısa süreli olmasından dolayı virusun yayılımında bu konakların çok etkin olmadıkları düşünülmektedir[64-66]. Virus insan ve atlarda asemptomatik seyretmekle birlikte hafif klinik belirtiler göstermektedir. Semptomlar genellikle enfeksiyon sonrası genellikle 2-15 gün sonra ortaya çıkmaktadır[17].

Virusun vektör aracılığı olmadan taşındığı durumlar ise; organ nakli, kan transfüzyonu, diyaliz, intrauterin veya anne sütü, perkütan ve aerosol yollardır[126-131].

#### **2.4.7 Patogenez ve Patoloji**

Enfekte konaktan kan emen sivrisineğin vücuduna giren virus, bağırsak epitelyum hücrelerine yerleşip çoğalır ve oradan da tükürük bezlerine geçerek çoğalır ve sivrisinekte herhangi bir patolojik değişiklik oluşturmaz. Omurgalı konak üzerinden beslenen enfekte sivrisinek tükürük bezlerindeki virüsü konağa iletir[158-159].

Konakta deri altına enjekte edilen virüs keratinositler ve langerhans dentritik hücreleri içinde çoğalmaktadır[169]. Enfekte dentritik hücreler veya keratinositler bölgesel lenf düğümlerine göç eder ve bu dokularda ilk replikasyon başlar. Replikasyon ile birlikte düşük seviyeli ve geçici viremi meydana gelir ve bu viremi 1 hafta kadar sürebilir[170]. Düşük seviyeli vireminin oluşumundan birkaç gün sonra anti-BNV IgM antikoru üretilir ve böylece BNV kandan büyük ölçüde temizlenir. BNV kandan büyük ölçüde temizlense de virus immun sistemden kaçıp MMS'ye yerleşebilmektedir. Viremi ardından virus kan dolaşımı ile başta dalak, karaciğer ve böbrek olmak üzere birçok organa yayılarak enfeksiyona duyarlı endotel hücreleri, monosit ve makrofajları enfekte eder ve ikinci replikasyon meydana gelir ve çoğu zaman burada kalır[110, 171,172].

BNV özellikle yaşlılar ve bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde MMS boyunca hücreden hücreye yayılabilir. Virus MMS'de nöronlar, glial hücreler, bazal ganglionlar, beyin sapı ve omuriliği enfekte eder ve burada bozukluklar meydana getirir[173]. Virusun kan-beyin bariyerini aşarak MSS'ne nasıl ulaştığı henüz tam olarak bilinmemektedir. Fare üzerinde yapılan bazı deneylerin gözlemleri sonucunda, doğal bağışıklık aktivasyonu ve patojeni tanıma gibi görevleri olan toll-like reseptör 3'ü (TLR3) eksik olan farelerin normal farelere oranla ölümcül BNV'ye karşı daha dirençli oldukları gözlenmiştir[174, 175]. BNV'li ölümlerin patolojik bulguları; beyinde yaygın bir yangı, perivasküler inflamasyon, mikrogliyal nodüller, değişken nekroz ve nöronların kaybıdır. Derin gri çekirdek, beyin sapı ve omurilik virusten en fazla etkilenen bölgeler olarak görünmektedir[173, 176, 177]. Bu bölgeler haricinde ayrıca deri, yağ, kas, tendon ve kemik iliğinden de BNV izole edilmiştir[178].

#### **2.4.8 Klinik**

İnsanlarda BNV enfeksiyonlarının çoğu asemptomatiktir. Ancak enfekte kişilerin yaklaşık %20'si klinik belirtiler göstermektedir. Bu kişilerin de %1'inden daha azında ciddi nörolojik semptomlar gelişmektedir. BNV hastalık belirtileri yorgunluk, ateş, baş ağrısı, kas ağrısı, halsizlik, döküntü, ve boyun ağrısı gibi birçok spesifik olmayan grip benzeri semptomlardır. Semptomlar genellikle enfeksiyon sonrası 2 ile 15 gün arasında ortaya çıksa da, ortalama süresi 2 ile 5 gündür[17]. Bazı durumlarda, birçok hastada BNV şiddetli titreme ve parkinsonizmin de dahil olduğu hareket bozukluklarına neden olabilir[20, 68, 179]. Nöroinvaziv BNV hastalığın klinik belirtileri değişken olup ensefalit, aseptik menenjit, çocuk felci ve benzeri sendromları içerir. Nöroinvaziv BNV enfeksiyonu olan hastaların %35-40'ında menenjit, %55-60'ında ensefalit ve sadece %5-10'unda akut flaks paraliz (AFP) gelişebileceği bildirilmiştir[180, 181].

Nöroinvaziv hastalıklar ileri yaşlarla ilişkilendirilse de gençlerde ve çocuklarda da bildirilmiştir[17]. Batı Nil hastalığı için hipertansiyon ve diyabetin ciddi bir potansiyel risk faktörü olduğu ileri sürülmüştür. Ancak en önemli faktörün virusun, yaşlı insanlara nakledilmesi ve immun sistemi yeterince gelişmemiş ya da immun yetmezliği olan kişilere bulaşmasıdır[17].

İnsanlarda olduğu gibi atların çoğunda da klinik bir belirti olmamaktadır. BNV enfeksiyonu geçiren hayvanların yalnızca %10'unda klinik semptomlar oluşmaktadır[182]. Atlarda ateş, ataksi, ayaklarda zayıflık, diş gıcırdatma, yüzde ve kaslarda seğirme, tremor, körlük gibi semptomlar tespit edilmiştir. Hastalık genellikle 3 hafta sürer. BNV enfeksiyonundan etkilenen ve semptomları gösteren atlarda ölüm oranları %25-45'dir. Atlarda oluşan lezyonlar polioensefalomyelit ve diğer ciddi vakalarda olduğu gibi MSS ile sınırlıdır[183].

Kuşlardaki tipik klinik belirtilerden nörolojik olanları ataksi, felç gibi nörolojik olmayanları ise depresyon, uyuşukluk, tüylerde dökülme, kilo kaybı, kalp kası yangısıdır. BNV enfeksiyonu kuşlarda beyin, böbrek, kalp, akciğerler, karaciğer, gonadlar, dalak, bağırsaklar, yemek borusu ve deri gibi birden fazla organda hasara neden olmaktadır[121]. Kargalar ve mavi alakargalar BNV enfeksiyonuna karşı oldukça hassastırlar. Bu nedenle kargaların ölüm oranlarındaki artış insanların salgından etkilenme riskini artıracaktır. Amerika'da karga ölümleri BNV'nin aktivitesini öngörmek için epidemiyolojik bir gösterge olarak kabul edilmiştir[184, 185].

#### **2.4.9 İmmunite**

BNV'ye karşı hem doğal hem de sonradan kazanılan immün yanıtlar enfeksiyonun kontrolü için büyük önem taşımaktadır. Tip 1 interferon (alfa ve beta) virus seviyesini sınırlandırma, nöron kaybını azaltma ve hayatta kalma oranını artırmak için oldukça önemlidir[186]. Sonradan kazanılmış bağışık yanıt enfeksiyonun kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır. BNV ile enfekte edilmiş fareler üzerinde yapılan çalışmalarla enfeksiyonun kontrolü için hem T hem de B hücrelerinin önemli olduğu tespit edilmiştir[187-192]. CXCL10 gibi kemokinler ve bu kemokinlerin ligantları CXCR3 ve CCR5, CD4+ ve CD8+ T lenfositleri virusun merkezi sinir sisteminden temizlenmesini sağladığı ve farelerin yaşam sürelerini uzattığı gözlenmiştir[189, 193]. BNV spesifik IgM salgılayan B hücreleri enfeksiyon sonrası 7. günde tespit edilebilmektedir[194]. IgM erken dönemde BNV enfeksiyonunu saptamak için kritik önem taşımaktadır. BNV spesifik IgM'lerin pasif transferi yetersiz IgM'de ölümcül BNV enfeksiyonuna karşı fareleri koruyabilmektedir. Hastalarda BNV spesifik IgM tespit edildikten yaklaşık 3-4 gün sonra Anti-BNV IgG titreleri ölçülebilmektedir[193]. IgG'nin büyük olasılıkla

tekrar eden BNV enfeksiyonuna karşı uzun süreli bağışıklık kazandırıcı baskın antikor olduğu düşünülmektedir. Henüz yeterli veri olmamasına rağmen iyileşmekte olan hastalarda BNV'ye karşı oluşan bağışıklığın ömür boyu sürdüğü tahmin edilmektedir[196].

#### **2.4.10 Tanı**

İnsanlarda hastalığın tanısını koymada hastanın klinik geçmişi büyük öneme sahiptir. Özellikle sivrisineklerin etkin olduğu yaz aylarında ortaya çıkan yorgunluk, ateş, baş ağrısı, kas ağrısı ve halsizlik gibi grip benzeri belirtilerin olması BNV vakasından şüphe edilmesini gerektirir. Çoğu zaman BNV ile enfekte olmuş kişilerde herhangi bir hastalık belirtisi görülmemektedir[17]. Bu belirtiler gözlemlendiği zaman ilk olarak tam kan sayımı, beyin omurilik sıvısında hücre sayımı, glukoz ve protein düzeyi tetkikleri ve nörolojik görüntüleme yöntemleri gibi rutin klinik testler yapılmalıdır[197].

Aynı şekil çoğu atlarda da BNV asemptomatiktir ve herhangi bir klinik belirti göstermeyebilir. Klinik belirti gösteren atlarda ise MSS etkilenmiştir ve diğer ensefalitlerle ortak olan halsizlik, bacaklarda titreme, ateş, yüz ve kaslarda seğirme gibi belirtileri göstermektedir[183].

BNV kanatlılarda da herhangi bir belirti göstermeyeceği gibi, burunda akıntı, halsizlik, tüylerde dökülme, ateş ve depresyonlar gibi belirtiler de gösterebilmektedir. Bu belirtilerin gözlenmesi halinde BNV hastalığından şüphelenilebilmektedir[121].

Tüm bu belirtiler BNV için bir gösterge olsa da gribal enfeksiyonlar ve diğer ensefalitlerle de benzerlik göstermektedir ve kesin bir kanı için yetersiz kalmaktadır. Bu durumda Batı Nil hastalığı teşhisini net olarak koyabilmek için aşağıdaki yöntemler kullanılmalıdır.

##### **2.4.10.1 Serolojik Yöntemler**

İnsanlarda BNV enfeksiyonu tanısında hala en yaygın yöntem olarak serolojik yöntemler kullanılmaktadır. Serolojik yöntemler arasında;

- ✓ Enzyme- linked immunosorbent assay (ELISA)



- ✓ İndirekt immunofluoresan antikor testi (IFAT),
- ✓ Plak redüksiyon nötralizasyon testi (PRNT)
- ✓ Hemaglutinasyon-inhibisyon testi (HIA)
- ✓ Koplement fiksasyon testi (CFT)

gibi teknikler bulunmaktadır.

Enzyme- linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi antijen veya antikorunu doğrudan bağlama prensibi ile çalışmaktadır. ELISA, serum içerisinde antikora özgü antijen varsa, doğrudan antikorun antijene bağlanmasını sağlar. Seruma eklenen enzimin antijen-antikor kompleksine bağlanması ile renk değişimi gözlenir[198].

BNV enfeksiyonundan sonra konağın vücudunda IgM ve IgG antikorları üretilmeye başlar. Enfeksiyondan 4-7 gün sonra IgM antikorları tespit edilebilir. IgM antikorları bazı olgularda birkaç hafta ya da ay içinde kaybolursa da 1 yıl kadar vücutta kalabilmektedir[199]. Yaklaşık 8 gün sonrasında da IgG antikorları tespit edilebilir ve çok uzun yıllar vücutta kalabilmektedir[200]. ELISA testleri serumdan, plazmadan ve beyin omirilik sıvısından (BOS) alınan örneklerle uygulanabilir. ELISA yönteminden en iyi sonucu alabilmek için en iyi yol, hastalığın belirtilerinin başlamasından 8-14 gün içerisinde serum, plazma ya da BOS örneklerinden IgM antibody-capture enzyme-linked immunosorbent (MAC-ELISA) testi ile IgM antikorlarının saptanmasıdır. Bu yöntem %95'lik duyarlılığa sahipliliği ve hızlı uygulanabilmesi gibi avantajlara sahiptir[201].

ELISA yönteminin tekniksel bir varyantı olan Epitope Blocking (EIA) yöntemi IgG'nin tanımlanması için kullanılmaktadır. Bu yöntem, BNV antijenlerine bağlanmak için BNV'ye özgü MAb'lerin ve test edilen serumun arasındaki rekabete dayanmaktadır[202]. Bu yöntem başlangıçta hayvanlarda BNV tanısını yapmak için geliştirilse de son zamanlarda insanlarda da kullanılmaktadır. Bu yöntem de diğer flaviviruslarla çapraz reaksiyon vermektedir[203].

İndirekt IgG EIA yöntemi ise enfeksiyon şüphesinde ve sağlıklı asemptomatik grupların taranmasında MAC-ELISA ile birlikte kullanılmaktadır. Kan, serum veya BOS'da IgG antikorları saptanır. Geliştirilen kitler sayesinde enfeksiyonun geçirilme zamanı da belirlenebilmektedir [204].

İndirekt immunofluoresan antikor testi (IFAT) yöntemi de enfekte konağın serum, bosa ya da plazmasından antikorunu saptamak amaçlı kullanılan yöntemdir. ELISA'dan farkı duyarlılık ve özgünlüğüdür[204].

Plak redüksiyon nötralizasyon testi (PRNT), sivrisineklerde virus tespiti için en spesifik test olarak kabul edilmektedir. Virusun hücre kültürlerinde oluşturduğu sitopatik etkinin önlenmesi esasına dayalı bir doğrulama testidir ve antikor özgüllüğünün belirlenmesinde kullanılmaktadır[205,206]. Bu yöntem diğer serolojik yöntemlerle çalışılarak diğer flaviviruslarla oluşan çapraz reaksiyonu ayırt etmeye yardımcı olur. ELISA ve IFAT yöntemi hızlı, tekrarlanabilir ve diğer yöntemlere göre daha ucuz olma avantajına sahip olsa da diğer flaviviruslarla çapraz reaksiyon verebilmektedir. Bu nedenle çalışmanın güvenilirliği açısından plak redüksiyon nötralizasyon testi ile de teyit edilmelidir[206].

Hemaglutinasyon-inhibisyon (HIA) ve komplement fiksasyon (CFT) testleri enfekte konağın virusa verdiği immun yanıtın gösterilmesine yönelik yöntemlerdir. Bu testler flavivirusun konağa girmesini takiben enfekte konakta oluşan bağışıklık tepkisini tespit etmek için kullanılmaktadır[67, 207].

HIA, spesifik olmayan inhibitörlerin çıkarıldığı her bir serumun işlemine yöneliktir. Bu testten verimli bir sonuç alabilmek için alınan numunenin hemen çalışılması gerekmektedir. Ayrıca bu yöntem çok geniş biçimde çapraz reaksiyon vermektedir. CFT hem analitik aşamada hem de okuma aşamasında fazlasıyla yoğun iş gücü gerektirmektedir. Ayrıca testin özgünlüğü ve duyarlılığı yeterince güvenilir değildir[67, 207]. Her iki test de enfeksiyonun erken döneminde uygulanması, diğer testlere göre duyarlılığının iyi olmayışı, zahmetli, zor ve zaman alan teknikler olması nedeniyle BNV'nin tanısı için tercih edilmezler[204].

#### **2.4.10.2 Moleküler Yöntemler**

BNV'nin tanısı için kullanılan moleküler yöntemler deneysel ve biyoinformatik yöntemler olarak ikiye ayrılır.

BNV tanısı için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar;

- ✓ Geri Transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR)
- ✓ Nested PZR
- ✓ Real time polimeraz zincir reaksiyonu (rRT-PZR)
- ✓ Taqman assay ve nükleik asit temelli amplifikasyon metodu (NASBA) modifiye RT-PZR'lardır.

**Reverse transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR):** Bu yöntemlerden bir tanesi de RNA sekanslarının kullanıldığı Reverse transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR) yöntemidir. RT-PZR yöntemi artropod, memeli ve kanatlıların serum, doku ve plazmalarında BNV tanı ve taraması yapmak için sıklıkla kullanılmaktadır. 5'-3' eksonükleaz aktivitesi ile hedef primerlere bağlı olarak çalışmaktadır[208]. Viral gen dizisinin olduğu cDNA amplifiye edilir ve amplifiye edilmiş üründen virusun gen dizisini tespit eder[209]. RT-PZR, floresan boya ile işaretlenmiş problemlerin duyarlılığı artırmasıyla diğer tekniklere göre önemli bir avantaja sahiptir.

**Nested PZR:** Birbirini takip eden iki polimeraz zincir reaksiyonundan oluşur. Yöntemde istenilen amplifiye dizilerin iç bölgesinin çoğaltılması ile dizayn edilen ikinci bir PZR yöntemi uygulanmaktadır. Uygulanan ilk amplifikasyonda, hedef DNA dizisinin dış bölgesine özgü iki dış primer kullanılarak uzun bir bölgenin çoğaltılması gerçekleştirilmektedir. İkinci amplifikasyon mekanizmasında, ilk amplifikasyondan gelen bölgenin iç bölgesine bağlanan iki iç primer kullanılarak küçük alanın çoğaltılması sağlanmaktadır. Nested RT-PZR tekniği BNV tanı duyarlılığını 10 kata kadar artırabilmektedir. Fakat yöntem uzun sürmesi ile birlikte kontaminasyonlara daha yatkındır[209-211].

**Real time zincir reaksiyonu (rRT-PZR):** Real Time polimeraz zincir reaksiyonu (rRT-PZR) yöntemlerinin uygulandığı örnekler büyük çeşitlilik gösterse de genellikle sivrisinek gibi hayvan dokularında BNV'nin saptanması bakımından hızlı ve güvenilirdir. Son 10 yıldır yapılan modifikasyonlarla farklı teknikler ileri sürülmüştür[212].

**Taqman assay ve Nükleik asit temmelli amplifikasyon metodu (NASBA):** Bu yöntemler modifiye RT-PZR'lardır. Her iki teknik de duyarlılıkları ile ön planda olmaktadır. NASBA, özellikle BOS ve sivrisinek havuzlarında oldukça hassas ve güvenilir sonuçlar vermektedir. NASBA yöntemi 3 enzimin (geri transkriptaz, T7 RNA polimeraz ve RNasaz H) kullanımı ve elektrokemiluminesans tekniğinin de olduğu bir algılama sistemi içermektedir. Amplifiye edilmiş RNA ürünü, amplifikasyon reaksiyonu içerisinde yer alan moleküler işaretli probların kullanımıyla tespit edilir[212]. Bu yöntemin en büyük avantajı 1 saatten daha kısa bir sürede sonuç vermesidir. Son yıllarda geliştirilen SYBR Green testi ise taqman kadar duyarlı fakat daha az spesifiktir[213].

### **Biyoinformatik Yöntemler**

- ✓ The National Center of Biotechnology Information(NCBI), elde edilen diziler, bu veri tabanında bulunan BLAST analizi ile hangi türler benzerlik gösterdiği belirlenmektedir. Ayrıca bu alanda yapılan farklı çalışmalara yine bu veri tabanında bulunan PubMed ile ulaşılmaktadır.
- ✓ GeneTool (Versiyon 1.0), gene ait restriksiyon analizi, primer tasarımı gerçekleştirilmesi gereken nokta mutasyonlarının belirlenmesi, yatay ve dikey hizalamalarda bu program kullanılmaktadır.
- ✓ ClustalW(1.83), dikey hizalama ve ağaç analizlerinin oluşturulacağı programlara veri hazırlanmasında kullanılmaktadır.
- ✓ MEGA programı ile filogenetik ağaçlar oluşturulmaktadır.

### **2.4.10.3 Antijen testleri**

VecTest ve RAMP testleri viral antijeni belirlemek amacıyla geliştirilmiş ticari testlerdir.

VecTest BNV'yi algılamak için Tıbbi Analiz Systems, Inc. tarafından tasarlanmış[214] ve özellikle sivrisinek havuzlarında çalışmak için geliştirilmiştir[215]. Ancak sivrisineklerin yanında kanatlılarda da kullanılması gibi avantaja sahiptir[216]. Test BNV ve SLE antijenlerine karşı tip-spesifik monoklonal antikorlar kullanır[215]. Bu testin uygulanması için test çubukları içinde sivrisineklerin olduğu test tüpünün içine

yerleştirilir. Eğer BNV varsa, antijenler çubuk üzerindeki antikörlara bağlanır ve kırmızı-mor bir renk alır. Testin sivrisineklerdeki duyarlılığı RT-PZR'a göre daha azdır. Bu testin avantajı 20 dakikadan kısa sürede sonuç vermesidir[215-217].

The Rapid Analyte Measurement Platform (RAMP) testi antijeni tespit etmek için VecTest testi ile aynı yöntemi içerir. Hızlı, kolay ve güvenilir tanı sağlamak üzere tasarlanmıştır. Rampa deney şeridi, deney ve kontrol dalga bölgelerinde yayılan floresan arasındaki oranı hesaplar ve okuyucu içine yerleştirilir. Sonuçlar RAMP birimleri olarak gösterilir. Bu tekniğin VecTest tekniğinden daha duyarlı olma avantajı vardır. Bu iki methodun farkı, farklı etiketlere bağlanan antikörları kullanmasıdır[218].

#### **2.4.10.4 İmmunohistokimya**

Ölümcül ensefalit vakalarından elde edilen dokulardan histokimyasal protokolleri kullanarak BNV antijen tespiti yıllardır tanı amaçlı kullanılmıştır. Günümüzde bu prosedür nadiren kullanılsa da, laboratuvar verilerinin az olduğu vakalarda kesin klinik tanıyı geliştirmek için kullanılmaktadır. Çoğu durumlarda duyarlılığı düşük olmakla birlikte araştırılan dokunun kalitesi ve dokudaki virus miktarına bağlı olarak da değişebilmektedir[204].

#### **2.4.11 Tedavi, Kontrol ve Korunma**

Batı Nil hastalığına yönelik herhangi bir spesifik tedavi yöntemi bulunmamakla birlikte hastalığa karşı mevcut tedavi seçenekleri çoğunlukla destekleyicidir[219]. İnsanlarda hafif seyirli olgularda hastanın baş ve kas ağrısının giderilmesi, ateşin düşürülmesi ve bulantının önlenmesi için analjezik, antipiretik ve antiemetik ilaçlar kullanılabilir. Şiddetli olgularda hastaneye yatırılan hastalarda solunum desteği, sıvı kaybının olduğu durumlarda ise rehidratasyon gibi tedaviler uygulanır. Bu tür tedavilerle birlikte hasta gözetim altında tutulmalıdır[66, 220].

İnsanlara yönelik geliştirilmiş herhangi bir aşı veya ilaç bulunmamaktadır. Ancak yıllardır bu yönde yapılan birçok çalışma mevcuttur. Özellikle ribavirin ve interferon- $\alpha$ 2b'nin insanlarda BNV hastalığı tedavisinde kullanılabileceği düşünülmektedir [221]. 2005 yılında DNA plazmid tabanlı geliştirilen aşı ile hayvan deneylerinde E16

(MGAWN1) olarak bilinen BNV'ye özgü monoklonal antikorun MSS'nde nötralize edici antikorlar ürettiği gözlenmiştir[222]. 17D sarıhumma aşısı suşunun kullanıldığı PrM ve E proteinlerine dayalı ChimeriVax BNV düşsel bir aşısı ile de umut verici sonuçlar gözlenmiştir[223].

Atlarda, BNV enfeksiyonu görüldüğü durumlarda kliniğe yatırılıp MSS'de oluşan tahribatlar tedavi edilmelidir. Hastalığın şiddetli olmadığı zamanlarda analjezikler ve antipiretikler kullanılabilir[223-225]. Atları korumak için kullanılan 4 adet lisanslı aşısı bulunmaktadır. Bunlar inaktif aşılardır, DNA aşılardır, canlı attenüe aşılardır ve genetiği değiştirilmiş canlı virus aşılardır[183]. Özellikle 6 ayın üstündeki atlarda bu aşılardan kullanılabilir[225].

BNV'den korunabilmek için dikkat edilmesi gereken birçok unsur vardır. Atlarda lisanslı aşılardan mevcut olduğundan, 6 ayın üstündeki atların aşısı olması hastalıklardan korunmak için ideal bir yöntemdir. Ancak insanlarda BNV'ye karşı bir aşısı henüz geliştirilemediğinden kontrole yönelik korunma yöntemleri uygulanmalıdır[219].

Çeşitli kurum ve kuruluşlar virusun yayılmasını kontrol etmek ve izlemek için vektör sivrisineklerin oranını, ölü kuşları (özellikle kargalar), yabani kanatlılarda seroprevalansı, virusa duyarlı hayvanları, insan ve diğer memelilerdeki hastalık teşhislerini takip edebilecek sistemler geliştirilmelidir[157].

Virus organ nakilleri ve kan nakli ile bulaşabildiğinden tüm kan ve organ bağışları BNV enfeksiyonu için taramalıdır[225].

Sivrisinekler virusun yayılımında ve bulaşmasında büyük rol oynadıklarından korunma ve kontrolün sivrisineklere yönelik olması çok önemli bir noktadır[226]. Bunun için çeşitli kamu kuruluşları bu alanda uzmanlaşmış kişilerin de yardımı ile sivrisineklerin temel özellikleri ve yaşam döngülerini bilmeli ve halkı bilinçlendirmelidir. Bu kuruluşlar bölgedeki sivrisinek türleri ve sivrisinek larvalarının yaşam alanlarını tespit edip, ergin ve larva mücadelesi yapmalıdır

Kamu Kuruluşlarının çalışmaları dışında sivrisineklerden kişisel olarak da korunmak çok önemlidir. Ev ve ahırlarımıza sivrisineklerin girmemesi için pencere ve kapılara

sineklikler takılmalı ve gerekirse sinek öldürücüler kullanılmalıdır. Büyük ya da küçük her türlü su birikintisinde sivrisinekler üreyebileceğinden, bahçelerde ya da yaşam alanlarının çevresinde su birikmemesine özen gösterilmelidir.

Sivrisineklerin en aktif olduğu saatler sabah ve akşam alacakaranlıklarıdır. Özellikle bu saatlerde dışarı çıkmamaya özen gösterilmelidir. Çıkılsa dahi kapalı giysiler giyinmeli ve vücudun açık kısmına sivrisinek kovucular sıkılmalıdır.

#### **2.4.12 Türkiye’de Batı Nil Virusu’nun Epidemiyolojisi**

Türkiye, coğrafi konumu ve iklimsel yapısı itibarı ile çeşitli hastalıklara neden olan virus ve parazitlerin vektörlüğünü yapan sivrisinek türlerini barındırmakta ve kuş göç yolları üzerinde bulunmaktadır. Hem göçmen kuşların hem de BNV’nin vektörlüğünü yapan sivrisinek türlerinin yaygınlığı Türkiye’yi BNV açısından riskli kılmaktadır[227]. Ülkemizde 1964 yılından bugüne kadar yapılan çalışmalar çizelgede gösterilmiştir.

**Çizelge 2.5** Türkiye’de insan ve diğer bazı memeli türlerinde BNV çalışmaları

Yıl	BÖlgeler	Çalışılan Canlılar	Teknik	Kaynak
1964 <sup>a</sup>	İzmir, Diyarbakır, Adana ve Erzurum	İnsan (%1-%57)	Hemaglutinasyon İnhibisyon	228
1966	İzmir ve Çevresi	İnsan	Klinik ve laboratuvar kanıtları	229
1971	Ankara ve Hatay	Çeşitli Evcil Hayvanlar (koyunlarda bulunmuş)	Virüs nötralizasyon testi	230
1971	İzmir, İstanbul, Ankara ve Konya	İnsan ve Koyun		231
1977 <sup>b</sup>	Güneydoğu Anadolu Bölgesi	İnsan (%38-%47.8)	Hemaglutinasyon İnhibisyon	232
1980	Ege Bölgesi	İnsan (%29.1)	Hemaglutinasyon İnhibisyon ve Nötralizasyon testi	233
2005	Adana, Ankara, Antalya, Bursa, Hatay, İzmir, Muğla, Şanlıurfa	Sığır (%4), At(%13.5), Katır(%2.5), Köpek(%37.7), Koyun(%1) ve İnsan(%20.4)	Virüs nötralizasyon testi	63
2007 <sup>c</sup>	Şanlıurfa	İnsan (%16)	İndirektimmunfloresans ve plak redüksiyon nötralizasyon testi	234
2009 <sup>d</sup>	Ankara	İnsan	RT-PZR	235
2010	Ankara	İnsan (Serloji ile %3.4-9.2, RT-PZR ile negatif)	RT- PZR ve serolojik yöntemler	236
2010	İç Anadolu	İnsan (%0.99)	PRNT	76
2010 <sup>e</sup>	Manisa	İnsan (BNV teşhisi kesinleşen 7 hastanın 3’ü hayatını kaybetmiştir)	Serolojik ve PRNT	237,238
2010	Ankara, Eskişehir	İnsan ve At (Köken 1 virüs)	Nested ve real-time reverse transcription PCR, ELISA/IFA testleri	239-241
2012	Ankara	İnsan (Köken 1 virüs)	ELISA, immünofloresans ve plak redüksiyon nötralizasyon testleri	242



- a. Türkiye’de insanlar için arbovirus enfeksiyonlarına yönelik ilk çalışmadır ve seropozitifliğin yaşı ilerlemesiyle arttığı tespit edilmiştir.
- b. Bu bölgede insanlarda seropozitifliğin oldukça yüksek olduğu görülmüştür.
- c. Ülkemizde vektör aktivitesiyle doğru orantılı olarak insanlarda olası BNV enfeksiyonlarının varlığı gösterilmiştir.
- d. Ülkemizde semptomatik olarak kayıtlara geçen ilk çalışma
- e. İlk klinik BNV olgusu

Ülkemizde BNV’nin vektör ve rezervuarlarına yönelik az sayıda çalışma yapılmıştır. yapılan literatür taramalarında vektör ve rezervuarlara yönelik yapılan çalışmalar çizelge’de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.6** Vektör ve rezervuar çalışmaları

YIL	BÖLGELER	ÇALIŞILAN CANLILAR	TEKNİK	KAYNAK
2006	İstanbul	Sivrisinek (Negatif Sonuç)	VectestVirus Antijen Testi	243
2007	Şanlıurfa	Sivrisinek (Negatif Sonuç)	Real Time PZR, Vectest ve VeroHücre Kültürü	4
2010	Kızılırmak Deltası	Yabani kuşlar (Negatif Sonuç)	Taqman real time RT-PCR	244
2010	Karadeniz Bölgesi	Sert keneler (Negatif Sonuç)	TaqMan real-time RT-PCR, nested RT-PCR	245
2011-2013 <sup>a</sup>	Adana, Ankara, Artvin, Bursa, Edirne, Mersin, Muğla, Kars, Kırklareli, Kuzey Kıbrıs, Sakarya, Samsun, Sinop, Şanlıurfa, Tekirdağ, Van	Ördek (%9.9), At (% 4.9-30.6), Koyun (%1.9), İnsan (%12.1) ve Sivrisinek ( <i>Oc. caspius</i> , <i>Cx. pipiens</i> )	Real Time RT-PZR PRNT	22
2012	Edirne	Sivrisinek (%15.6 <i>Oc. caspius</i> , %36.3 <i>Cx. pipiens</i> )	NestedVe Real-Time ReversTranskriptaz PZR	239
2013	Ankara	Sivrisinek (Negatif Sonuç)	NestedPZR	246

a. Kars ilinde yapılan ilk BNV çalışması

Ayrıca, 2014 yılı Ağustos-Ekim ayları arasında kan donörlerinden yapılan çalışmada BNV ile Toscana virusunun ortak enfeksiyon oluşturduğu tespit edilmiştir[247].

Ülkemizde BNV varlığının bilinmesine karşın, Aras Havzası'nda virusa yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Kars Platosu'nda yapılan bir çalışmada anti-BNV antikorlarının varlığını ortaya koymuştur[22]. Ancak vektör sivrisinekler için herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı, Aras Havzası ve Kars Platosu'nda hem göçmen kuşların varlığı hem de vektör sivrisinek türlerinin varlığından dolayı potansiyel bir vektör olan sivrisineklerde BNV nükleik asitlerinin varlığının moleküler yöntemlerle tespit edilmesi, virusun hangi aylarda hangi sivrisinek türlerinde bulunduğu belirlenmesi, farklı coğrafik ve iklimsel özellik gösteren bu iki bölgede virüs mevcudiyetindeki farklılıkları ortaya çıkarabilmek ve gelecekteki çalışmalara yol gösterebilmektir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 Çalışma Alanlarının Özellikleri

Çalışmada kullanılacak olan sivrisinekler 2013-2014 yılı Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında Kars Platosu ve Aras Havzası'ndan toplandı. Hem Kars Platosu hem de Aras Havzası'nda özellikle göçmen kuşların dinlenmek için konakladığı alanlar seçilmeye çalışıldı. Örnekleme için toplam 13 yerleşim biriminin bulunduğu 5 bölge çalışıldı. İlk 3 bölge Kars Platosu'na, 4. ve 5. bölgeler de Aras Havzasına aittir. Bölgeler 2013 yılı için Aras Havzası'nda Ağabey ve Yukarı Çıyıklı Köyü'dür. Kars Platosu'nda ise Çamçavuş Köyü, Kuyucuk Köyü, Büyükçatma Köyü, Kümbetli köyü ve Selim Merkez seçildi. 2014 yılında örnekleme noktaları biraz daha geniş tutuldu ve Aras Havzası'nda Ağabey Köyü, Yukarı Çıyıklı Köyü, Tuzluca Merkez, Yeniköy Köyü ve Çalpala Köyü, Kars Platosu'nda ise Kars Merkez, Kuyucuk Köyü, Karahamza Köyü, Alisofu Köyü ve Kümbetli Köyü seçildi. Küresel konumlama sistemi (GPS) ile örnekleme yapılan yerleşim birimlerinin koordinatları kayıt altına alındı. Aras Havzası ve Kars Platosu hem coğrafik hem de iklimsel olarak farklı özellikler göstermektedir.

Kars Platosu içerisinde yer alan ve arazi çalışmalarımızın yapıldığı ülkemizin Ermenistan ile sınırını oluşturan Kars ilinin komşu illeri, Ardahan, Ağrı, Erzurum ve Iğdır illeridir. Çalışmanın yapıldığı Kars ili topraklarının yarısından fazlası platolarla diğer kısımları ise dağlar ve tepelik alanlarla kaplıdır. Kars'ın Sarıkamış ilçesinde başlayan platolar, Başgedikler düzlüğüne kadar uzanmaktadır. Kars Platosu'nun genel yükseltisi 1500-2000 m arasında olup, platonun Sarıkamış tarafı ormanlık alanlardan oluşmaktadır. Platonun doğu ve kuzeydoğu kesiminde yükselti hızla artarken Aras Vadisi'ne doğru alçalmaktadır. Kars ili topraklarının tamamı Hazar Denizi ana havzasında yer almaktadır. İlin en önemli akarsuları Aras Nehri, Arpaçay ve Kars Çayı'dır. Kars ilinden çıkan sular Aras Nehri'ne karışarak Hazar Denizi'ne dökülür. Akarsulardan Arpaçay, Kars ilinin Ermenistan ile sınırını oluşturmaktadır.

Platodaki yükselti ve yağış farklılıklarından dolayı, yüksek kesimler ağaç yetiştiriciliğine, alçak kesimler ise step türlerinin yetişmesine uygun hale gelmiştir. Ancak yinede Kars ilinin genel görünümü step niteliğindedir. Bölgede ormanlar 1500

m'den başlar ve 2800 m'ye kadar çıkabilir. Ormanlık alanlar Sarıkamış ilçesinde yoğunlaşmıştır. Soğuk bozkır alanlarında 5-6 ay sürekli kar vardır. Karın erimesinin ayı ortalarından itibaren başlar ve özellikle yüksek kesimlerde haziran ayı sonlarına kadar sürer. Mayıs ayının ortalarında platoda çoğu yerde çayır ve otlaklar görülmeye başlar. Bu çayır ve otlaklar besi materyalini oluşturarak hayvancılık açısından önemli bir imkân sağlamaktadır.

İklim ve coğrafik özelliklerinden dolayı tarım, hayvancılık ve kısmen de ormancılık Kars ilinin ekonomisini oluşturmaktadır. Nüfusun yaklaşık %85'i bu sektörlerde çalışmaktadır. İklim şartlarından dolayı sebze ve meyve yetiştiriciliği çok fazla gelişmemiştir. Daha çok arpa, buğday gibi tahıllar yetiştirilmektedir. Kars ilinde hayvan yetiştiriciliği tarımdan önce gelmektedir. Kars ilinde bitki örtüsü oldukça zengindir. Bitki örtüsünün zenginliği, çayır ve mera alanlarının geniş olması bu yörede hayvancılığın gelişmesini sağlamıştır. Bu özelliklerinden dolayı Kars Türkiye'de büyük baş hayvan yetiştiriciliğinin en çok olduğu il olup, hayvan ticaretinin merkezi halini almıştır[248].

Başta Çıldır Gölü, Aygır Gölü, Kuyucuk Gölü ve Turna Gölü olmak üzere Kars ilinde irili ufaklı birçok göl bulunmaktadır. Bu göllerden Kuyucuk Gölü'nde Türkiye'nin en önemli Kuş Halkalama İstasyonlarından biri olan Kuyucuk Gölü Kuş Halkalama İstasyonu bulunmaktadır. Kuyucuk Gölü Uluslararası Önemli Doğa Alanı (Key Biodiversity Area) ve Yaban Hayatı Geliştirme Sahası statüsüne sahiptir. Göl şehir merkezinin yaklaşık 30 km kuzeydoğusunda yer almakta olup 219 hektarlık bir alanı kaplamaktadır. Gölün yaklaşık 1 km ötesinde de Kuyucuk Köyü bulunmaktadır. Göl etrafında ağaç bulunmadığından dolayı bozkırla çevrelenmiştir. Göl kıyısında bitki örtüsü fakir olup etrafında hayvan otlatılmaktadır. Göl özellikle Angıt (*Tadorna ferruginea*) ördekleri ve zengin kuş topluluklarından dolayı doğa turizmi potansiyeline sahiptir ve önemli bir göl niteliğini taşımaktadır.

Kuyucuk Gölü kuşlar açısından Kars ilindeki en önemli alandır ve en az 207 türden on binlerce kuşu barındırmaktadır[249]. Bu türlerin 136 tanesi ilk kez göldeki Kars-Iğdır Doğal Zenginlik Projesi kapsamında (2004-2007 yılları arasında) belirlenmiştir[250]. İstasyonda halkalama çalışmaları ilkbahar dönemi, genellikle mayıs ayının ortalarında

başlayıp, haziran ayının sonlarına kadar devam eder. Sonbahar dönemi halkalama çalışmaları ise genellikle, ağustos ayının ilk haftası başlayıp, ekim ayının ortalarına kadar devam etmektedir. Göçmen kuşlar Kars Platosu'nda mayıs ayının ortalarından, ekim ayının ortalarına kadar bulunmaktadır.

Aras Havzası'nın ana akarsuyu Aras Nehri'dir. Aras Nehri Kars iline bağlı Kağızman ilçesindeki vadilerden ve vadi tabanındaki oviden geçerek Iğdır iline bağlı Aşağı Çıgırlıklı köyünün doğusunda, kuzeyden gelen Arpaçay nehri ile birleşerek Ermenistan sınırına ulaşır. Aras Nehri Iğdır Ovası'nı geçerek ülke sınırlarına çıkar ve Kura Nehri ile birleşerek Hazar Denizi'ne dökülür. Iğdır Ovası'nın büyük çoğunluğu havzanın ana akarsuyu olan Aras Nehri tarafından sulanmaktadır. Iğdır ilinin batı ve güney kısmı dağlık, doğu ve kuzey kısmı ise ovalıktır. İl topraklarının büyük bir kısmını Iğdır Ovası teşkil eder. Iğdır ili Ermenistan, Nahçıvan ve İran ile sınır olduğundan önemli bir stratejik konuma sahiptir. Bölgenin güneyinde Ağrı, batısında ise Kars ili yer almaktadır.

Iğdır Ovası'nın genişliği yaklaşık olarak 750 km<sup>2</sup> civarında, yüksekliği ise 850 m civarındadır. Iğdır Ovası'nın geniş bir bölümü tarım alanı olarak kullanılmaktadır. Iğdır ilinde geçim kaynağı çoğunlukla tarım ve hayvancılıktır. Ovada turuncgiller ve zeytin dışında hemen hemen bütün meyve ve sebzeler yetiştirilmektedir. Aras Nehri'nin suladığı ovada iklim koşullarının da uygun olması ile özellikle kavun, karpuzdan, seftali ve kayısıya kadar çeşitli sebze ve meyve yetiştiriciliği yapılmaktadır. Tarım kadar hayvancılık da Iğdır ilinde önemli geçim kaynağıdır. Koyun yetiştiriciliği fazla olup canlı hayvan ticareti yapılmaktadır. Iğdır ilinde sanayi ve turizm fazla gelişmemiştir. Iğdır iline bağlı Tuzluca ilçesinde tuz mağaraları vardır ve buralarda tuz işletmeciliği yapılmaktadır[251].

Ovadaki çukurlar ve kalıcı drenaj kanalları ile birlikte, drenaj suyu ve su taşkınlarından kalan geçici su birikintileri sivrisinek üreme alanları için uygundur. Bununla birlikte ülkemizin üç düzenli kuş halkalama istasyonlarından birisi olan Aras Kuş Halkalama İstasyonu, Iğdır Ovası Aras Havzası'nda bulunmaktadır. Farklı özelliklerde sulak alanlarıyla çok çeşitli sivrisinek türlerini barındıran Aras Vadisi, yine bu sulak alanların varlığından dolayı göç eden kuşlar için göç sırasında dinlenecekleri ve üreyebilecekleri

uygun habitatları da beraberinde barındırmaktadır. Alan bu özelliği ile döngüsünü kuşlar ve sivrisinekler arasında sürdüren BNV için ciddi risk taşımaktadır. Alan üzerinden göç eden kuşları halkalamak amacıyla 2007 yılında Iğdır ili Tuzluca ilçesi Aras Nehri kıyısında kurulan Aras Kuş Araştırma ve Eğitim Merkezi'nde şimdiye kadar toplam 166 türden 40.000 kuş halkalanmışken alanda ki gözlem kayıtları ile birlikte toplam 240 kuş türü kaydedilmiştir[252]. Alanda kuş halkalama çalışmaları ilkbahar döneminde genel olarak mart ayının ortalarına doğru başlayıp haziran ayı sonuna kadar devam etmektedir. Sonbahar dönemi halkalama çalışmaları ise genellikle, ağustosun ilk haftası başlayıp, ekim ayının ortalarına kadar sürmektedir. Göçmen kuşlar Iğdır Ovası'nda mart ayından ekim ayına kadar bulunmaktadır.

### 3.2 Araştırma Alanının İklimi

Kars Platosu Doğu Anadolu Bölgesi'nin en soğuk yerlerindedir. Bölgenin etrafı yüksek sıra dağlarla çevrilidir. Kışların oldukça soğuk ve sert, yazların ise kısa ve ılıman geçtiği karasal iklim hâkimiyet göstermektedir. Merkez ilçede yapılan son 49 yılın ölçümlerine göre yıllık ortalama sıcaklık 4.8 °C dir. İl genelinde kış dönemi ekim ayı ortalarında başlamakta ve mayıs ayının ortalarına kadar sürmektedir. Aylık ortalama sıcaklık en düşük ocak ayında -15.9 °C, en yüksek 26.1 °C ile ağustos ayında ölçülmüştür. Kars ilinin en soğuk ayları aralık ve ocak, en sıcak ayları ise temmuz ve ağustos'tur. Merkez ilçede yapılan ölçümlere göre ortalama yıllık yağış miktarı 527.7 mm'dir. Merkez ilçeye en az yağış aralık ve ocak aylarında, en çok yağış ise mayıs ve haziran aylarında düşmektedir[253].

**Çizelge 3.1** Kars Platosu'nun 2013-2014 yıllarına ait sıcaklık ortalamaları[254].

	HAZİRAN	TEMMUZ	AĞUSTOS	Genel ortalama
2013	13 °C	17 °C	17 °C	15,6 °C
2014	14 °C	18 °C	20 °C	17,3 °C

Türkiye ve Doğu Anadolu Bölgesi'nde kendine özgü iklim özellikleriyle Aras Havzası ve çevresi “mikro klima” alanı içine girmektedir. Iğdır Ovası iklim özellikleri olarak

karasal iklim gösterse de Doğu Anadolu'daki diğer illere göre daha alçakta bulunduğundan şiddetli karasal iklimden fazla etkilenmez. Iğdır Ovası'nda kışlar daha ılıman, yaz ayları oldukça sıcak ve kuraktır. Iğdır Rasat İstasyonunun 59 yıllık ölçümlerine göre, yıllık sıcaklık ortalaması 12.3 °C, yıllık ortalama sıcaklık farkı ise 29.2 °C kadardır. Iğdır ilinde en yüksek sıcaklık 42 °C ile ağustos ayında, en düşük sıcaklık ise -30.2°C ile aralık ayında ölçülmüştür. Yıllık ortalama yağış miktarı 257.6 mm. kadar olup, yağışların yarıdan fazlası 154.6 mm. ile ilkbahar ve yaz mevsimlerinde düşmektedir. En az yağış ise 47.8 mm ile kış mevsiminde düşmektedir. Bölgede havanın yıllık ortalama bağıl nem değeri ise %63'ü bulmaktadır[255].

**Çizelge 3.2** Aras Havzası'nın 2013-2014 yıllarına ait sıcaklık ortalamaları[254].

	HAZİRAN	TEMMUZ	AĞUSTOS	Genel Ortalama
2013	31 °C	28 °C	27 °C	28,6 °C
2014	26 °C	29 °C	30 °C	28,3 °C

### 3.3 Arazi Çalışmaları

2013-2014 yılları Haziran-Ağustos aylarında Aras Havzası ve Kars Platosu'ndan ayda bir kez olacak şekilde sivrisinek örnekleri toplandı. Kars Platosu'ndan 3, Aras Havzası'ndan 2 olmak üzere 5 bölge oluşturuldu. Toplam 13 örneklem merkezinin bulunduğu bu bölgelerden Alisofu, Karahamza köyleri ve Selim Merkez 1. bölge, Çamçavuş, Kümbetli köyleri ve Kars Merkez 2. bölge, Büyükçatma, ve Kuyucuk köyleri 3. bölge, Ağabey, ve Yukarı Çıyıklı köyleri 4. bölge, Tuzluca Merkez, Çalpala ve Yeniköy köyleri de 5 bölge olarak seçildi.

Ergin sivrisinekler 2013 yılında Aras Havzası'nda 2 (Ağabey Köyü ve Yukarı Çıyıklı Köyü), Kars Platosu'nda 4 (Çamçavuş Köyü, Kuyucuk Köyü, Büyükçatma Köyü ve Selim Merkez) merkezden toplandı. 2014 yılında ise; Aras Havzası'nda 5 (Ağabey Köyü, Yukarı Çıyıklı Köyü, Tuzluca Merkez, Yeniköy Köyü ve Çalpala Köyü), Kars Platosu'nda 5 (Kars Merkez, Kuyucuk Köyü, Karahamza Köyü, Alisofu Köyü ve Kümbetli Köyü) merkezden toplandı. Toplamda Aras Havzası'ndan 5, Kars

Platosu'ndan 8 farklı merkezden sivrisinek toplandı. Örnekleme noktaları, çeşitli makaleler ve daha önceki çalışmaları da değerlendirilerek kuş göç yolu üzerinde olması, evcil kanatlılar, büyük ve küçükbaşlar ve sivrisinek habitatlarını içermesine önem verilerek seçildi. Kars Platosu'ndan Kuyucuk Köyü, göçmen kuşların dinlendiği ve ürettiği alan olan Kuyucuk Gölü'nün yanında bulunmaktadır ve burada Kuyucuk Kuş Halkalama ve Araştırma İstasyonu bulunmaktadır. Aynı şekilde Aras Havzası'nda Yukarı Çıyıklı Köyü de göçmen kuşların uğradığı alandır ve burada da Aras Kuş Halkalama ve Araştırma İstasyonu bulunmaktadır.

**Çizelge 3.3** Araştırma alanı için seçilen köyler, bölge numarası ve koordinatları

	<b>KÖYLER</b>	<b>BÖLGE NUMARASI</b>	<b>X KOORDİNATI</b>	<b>Y KOORDİNATI</b>	<b>YÜKSEKLİK (m)</b>
1	Alisofu	1	42,682282	40,344394	2067
2	Karahamza	1	42,747343	40,435403	1878
3	Selim	1	42,786978	40,464689	1857
4	Çamçavuş	2	43,158363	40,729899	1696
5	Kümbetli	2	42,999497	40,538666	1762
6	Kars Merkez	2	43,1204	40,5946	1760
7	Büyükçatma	3	43,400805	40,75056	1640
8	Kuyucuk	3	43,426376	40,737733	1641
9	Ağabey	4	43,516603	40,112781	1016
10	Yukarıcıyıklı	4	43,584717	40,122822	979
11	Tuzluca	5	43,660634	40,044694	1105
12	Çalpala	5	43,875743	40,02452	900
13	Yeniköy	5	43,760304	40,047517	1060

BNV araştırması yalnızca ergin sivrisinekler üzerine yapıldı. Ergin sivrisinekler her ay 7 adet New Jersey ışık tuzakları ve ağız aspiratörleri ile toplandı. Işık tuzakları, ergin sivrisineklerin uzaktan bile dikkati çekebilme ve daha fazla birey örnekleme imkânı vermektedir. Ağız aspiratörleri, özellikle beslenme sonrası dinlenmekte olan ve ışık tuzaklarına yakalanmayan ergin sivrisinekleri toplamak için kullanıldı. Işık tuzakları kapalı/yarı açık ahır, bahçe ve kümeslerde yerden yaklaşık 1,5 metre yükseklikte olacak şekilde yerleştirildi ve sivrisineklerin aktif olduğu zaman dilimleri olan akşam



alacakaranlığından (18:00) sabah saatlerine (09:00) kadar çalıştırıldı. Toplama işlemi bittikten sonra örnekler canlı olarak laboratuvara getirildi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim dalına canlı olarak getirilen örnekler, toplandıkları örmeklem merkezi, yer ve tarihlere göre gruplandırıldı. Buz üzerinde Schaffner ve ark. (2001)[256] teşhis anahtarına göre tür tayinleri yapıldı, 2-50'şerlik gruplar olacak şekilde ependorf tüplere alındı ve laboratuvar çalışmalarının başlamasına kadar -80 °C'de saklandı.



**Resim 3.1** Sivrisinek örneklemesinde tuzakların kurulumu

### **3.4. Moleküler Çalışmalar**

Tüm moleküler çalışmalar Kafkas Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Biyomühendislik Bölümünde yapıldı.

#### **3.4.1. RNA İzolasyonu ve Saflaştırılması**

##### **3.4.1.1. Sivrisineklerden Total RNA İzolasyonu**

Sivrisinekler arazi çalışmasının ardından -80 °C'de muhafaza edildi. Muhafaza edilen örneklerden TRI reagent kullanılarak (Sigma) total RNA izolasyonu gerçekleştirildi.

TRİ solüsyonu ile total RNA izolasyonu (Tri Reagent),,

Ependorf tüpler içerisinde bulunan sivrisineklerin üzerine 1ml TRI eklendi ve kürdan yardımı ile ezilerek homojenat elde edildi. Elde edilen homojenat 5 dk. oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra, TRI'nin her 1 ml'si için homojenata 200 µl kloroform eklenip 15 sn. güçlü bir şekilde çalkalandı. Çalkalanan karışım 10 dk. oda sıcaklığında bırakıldı. Daha sonra 13.000 rpm'de 15 dk. 4 °C santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüp içerisindeki renksiz olan üst sıvı dikkatli bir şekilde orta faza dokunmadan otomatik pipet yardımı ile alınıp diğer basamaklar için yeni tüpe aktarıldı. Yeni tüpe alınan üst faza ilk kullanıldığımız TRI'nin her ml'si için 0,5 ml izopropanol ilave edilip, elde edilen numuneler oda sıcaklığında 5-10 dk. bekletildi. Örnek 4 °C'de, 8 dk. ve 13.000 rpm'de santrifüj edildi ve RNA çökeltisinin tüpün dip kısmında jelimsi ya da beyaz bir pelet halinde oluştuğu gözlemlendi. Süpernatant uzaklaştırılıp, RNA peleti ilk kullanılan TRI'nin her ml'si için en az 1 ml, %75'lik etanol ilave edilip vortekslenerek yıkandı. Yıkanan örnekler, 4 °C'de, 5 dk. 8.000 rpm'de santrifüj edildi. Daha sonra etanol uzaklaştırılıp, pelet çeker ocakta 15-20 dk. kurutuldu. Kuruyan pelet (yani RNA), 80 µl ddH<sub>2</sub>O ile çözüldü[257]. Elde edilen total RNA sırasıyla nano spektrofotometrik olarak ölçüldü ve % 0.8'lik agaroz jelde analiz edildi[258].

#### **3.4.1.2. RNA'ların Spektrofotometre'de Ölçümü, Miktar ve Kalite Tayini**

RNA örnekleri nanodrop'ta 280 nm (nanometre) dalga boylarında ölçümü yapıldı. Bu ölçümlerde RNA örneklerinin peletleri hangi tampon ile çözülmüş ise o tampon kör olarak kullanıldı. Nanodropta okunan değerler not alındı.

#### **3.4.1.3. Toplam RNA'dan Geri Transkripsiyon (RT) Reaksiyonu ile cDNA'nın Üretilmesi**

Geri transkripsiyon mRNA'dan cDNA'nın elde edilmesi işlemidir. Bu işlem *Moloney Murine Leukemia Virus* tarafından kodlanan M-MLV ve *Avian myeloblastosis virus* tarafından kodlanan AMV enzimleri tarafından gerçekleştirilir. Bu enzimler RNA bağımlı DNA polimerazlardır ve bir primerin hibridize olduğu tek iplikli kalıp RNA'ya karşılık gelen cDNA'nın ilk ipliğini sentezlerler. Bu iki enzimde aynı reaksiyonları katalizlemelerine karşı MMLV enzimi AMV enzimine göre daha fazla kullanılmaktadır. Bunun iki nedeni vardır. İlki enzimlerin RNaz H aktivitesi arasındaki farklılıktır. Çünkü

AMV enzimi daha yüksek RNaz H aktivitesi gösterir. Bu da normalde sentezlenecek olan toplam ürün DNA'nın boyunu kısaltmaktadır. İkinci ise; M-MLV enziminin daha yüksek sıcaklıklarda çalışmasıdır[259, 260].

RT reaksiyonu için Fermentas Revert Aid First Strand cDNA synthesis Kit ( # 1622) kullanılıp, tüm basamaklar kit prosedürüne göre yapıldı.

İlk olarak RNA izolasyonundan elde edilen RNA örneğinden reaksiyona 5 µg girecek şekilde 0.5'lik PZR tüplerine buz içine alınıp ve 1µl oligo dT18 eklenerek son hacim steril distile su ile 12 µl'ye tamamlandı. Reaksiyon tüpü 70 °C'de 5 dk. tutulduktan sonra buza bırakıldı. Buz içerisinde reaksiyon tüpüne sırasıyla; 4µl 5x Reaksiyon tamponu, 1µl Ribolock Ribonukleaz inhibitör ve 2 µl 10 mM dNTP mix eklenip, 37 °C'de 5 dk. inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 1µl M-MuLV revers transkriptaz enzimi eklendi. Hazırlanan karışımın olduğu tüp önce 42 °C'de 60 dk. bekletildi. İnkübasyon sonunda enzimi inhibe etmek için reaksiyon tüpü 70 °C'de 10 dk. inkübe edildi. Süre sonunda reaksiyon tüpü buza alındı ve reaksiyon çalışmalarında kullanılmak üzere -20 °C'de muhafaza edildi.

#### 3.4.1.4. BNV Spesifik Primerlerin Tasarlanması

Yapılan literatür araştırmaları sonucu, BNV spesifik primerlerin daha önceden sentezlendiği ve bu çalışma kapsamında kullanılabilceği belirlendi[212].Çalışmada kullandığımız primerler Çizelge 3.4'de gösterildi.

**Çizelge 3.4** Çalışmada kullanılan Batı Nil Virusu spesifik primerler

WN233	İleri 233–257	TTGTGTTGGCTCTCTTGGCGTTCTT	408
WN640c	Geri 640–616	CAGCCGACAGCACTGGACATTCATA	

### 3.4.1.5 PZR Reaksiyon Koşulları:

#### 3.4.1.5.1 cDNA Kopyasının Üretimi:

PZR reaksiyonunda kaynak DNA olarak daha önceden RT reaksiyonu sonucu elde edilen cDNA kullanıldı. PZR reaksiyonu BNV spesifik (F ve R) primerlerle kurulup; 2.5 µl 10X tampon, 2.5 µl 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 2 µl 2.5 µM dNTP karışımı, 2.5 µl F (ileri primer), 2.5 µl R (geri primer), 0.5 µl cDNA kalıbı (1:10 oranında seyreltilmiş), 0.2 µl Taq DNA Polimeraz enzimi (5u/µl) üzerine son hacmi 25 µl olacak biçimde 12.3 µl ddH<sub>2</sub>O eklendi.

**Çizelge 3.5** Ürünler için kullanılan PZR programı

94 °C	3 dk.	
94 °C	30 sn.	30 Döngü
50 °C	45 sn.	
72 °C	2 dk.	
72 °C	10 dk.	
4 °C		∞

#### 3.4.1.5.2 Agaroz Jel Analizi ve Jel Görüntüleme İşlemi

Agaroz jelde yürütülen DNA parçaları UVP transilluminator cihazında kontrol edildi ve UV-Photometer jel dökümantasyon cihazı (UviTec) ile veriler kaydedildi.

#### 3.4.1.5.3 PZR Ürünlerinin Jelden Saflaştırılması

RT-PZR sonucu elde edilen ürün ya da ürünlerin agaroz jelde oluşturduğu bantlaşmalara ait baz büyüklüğü uygun marker'lar (genellikle λ DNA EcoRI/HindIII)

kullanılarak tespit edildi. Beklenen büyüklüğe (408 bp) uygun olan bantlar jelden kesilerek alındı ve QIAquick Gel Extraction Kit ve protokolü kullanılarak saflaştırılması kit kullanım kılavuzuna göre gerçekleştirildi.

Burada amacımız BNV spesifik gen bölgesinin PZR reaksiyonunda kullanılan maddelere ait kirliliği içermemesi ve diğer bantların ortamdaki uzaklaştırılmasıdır. Jelden saflaştırma işleminde ilk olarak kesilen jellerin ağırlığı belirlendi ve hesaplandı. Saflaştırılan ürünlere dizi analizi Anadolu Üniversitesi, Biyoloji Bölümü ekibi tarafından yapıldı.

### **3.5 Bulguların Değerlendirilmesi**

BNV nükleik asitlerinin bulunduğu havuzların dizi analizi sonucunda elde edilen veriler biyoinformatik analizlerle değerlendirildi ve enfeksiyon oranları hesaplandı.

**Biyoinformatik analiz:** Dizi analizi sonucunda elde edilen dizilerin NCBI veri tabanında Blast analizi yapıldı[261, 262].

Elde edilen dizilerin NCBI veri tabanında Blast analizi yapıldı. Yapılan analiz sonucunda da elde edilen verinin Köken 1 olduğu belirlendi. Köken 1 olarak belirlenmiş türlerin daha önce gen bankasında kayıtlı türlerle karşılaştırmalı analizi CLUSTALW2, GeneTool, PepTool ve İnterproscan programı ile dikey olarak karşılaştırıldı. Ayrıca bu karşılaştırılan diziler kullanılarak MEGA 6 programı ile filogenetik ağaçlar oluşturuldu.

**Enfeksiyon oranlarının hesaplanması:** 2013-2014 yıllarında Kars Platosu ve Aras Havzası'ndan topladığımız sivrisinek örneklerinin MLE (maximum likelihood estimation) ve MIR (Minimum infection rate) enfeksiyon oranları hesaplandı. MLE hesaplamaları Microsoft Office Excel üzerinde PooledInfRate, version 4.0 programı ile 1000 birey tabanı üzerinden yapıldı[263]. MIR hesaplaması ise (Pozitif havuz sayısı / Test edilen toplam sivrisinek sayısı) x 1000 formülü ile hesaplandı[264]. Bölgeler ve bölgelerdeki sivrisinek ve enfeksiyon oranları Arc GIS 10.2 (ESRI Inc.) programı ile harita üzerinde gösterildi. PooledInfRate, version 4.0 program ile,

1. Sivrisinek örneklerinin toplandığı istasyonlardaki enfeksiyon oranları
2. Bölgeler arasındaki enfeksiyon oranları

3. BNV nükleik asitlerinin bulunduğu sivrisineklerdeki enfeksiyon oranı
4. 2013 ve 2014 yıllarının enfeksiyon oranları
5. Kars Platosu'nda 2013 ve 2014 yıllarının enfeksiyon oranları
6. Kars Platosu'nda BNV nükleik asitlerinin bulunduğu sivrisineklerdeki enfeksiyon oranı
7. Aras Havzası'nda 2013 ve 2014 yıllarının enfeksiyon oranları
8. Aras Havzası'nda BNV nükleik asitlerinin bulunduğu sivrisineklerdeki enfeksiyon oranı hesaplandı.

## 4.BULGULAR

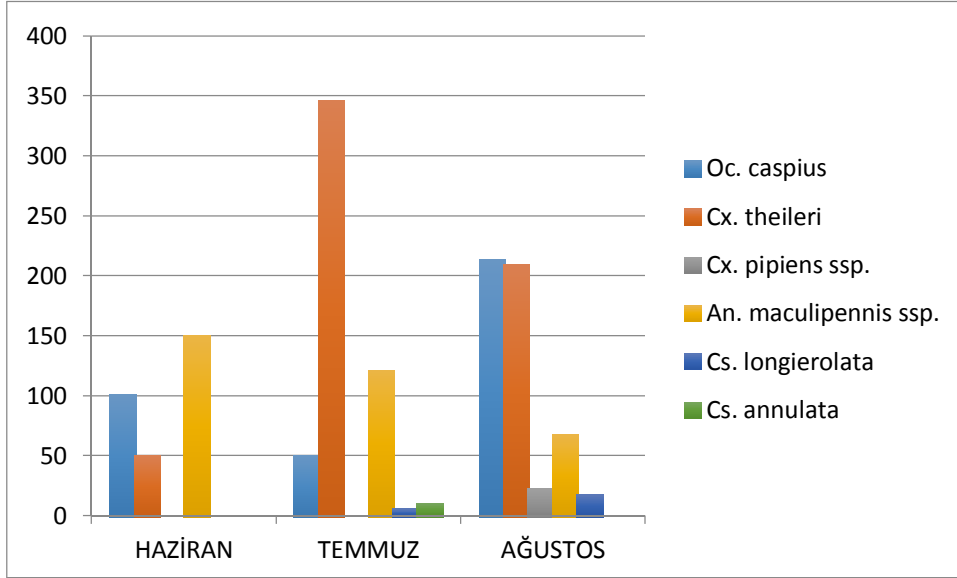
### 4.1 Sivrisinek Örneklerinin Sayı Ve Dağılımı

2013-2014 yıllarında Kars Platosu'ndan 3355 ve Aras Havzası'nda 11.932 olmak üzere toplam 15.287 sivrisinek toplandı ve çalışıldı.

2013 yılında Haziran–Ağustos aylarında Kars Platosu'ndan toplam 1360 adet sivrisinek toplandı. Toplanan sivrisineklerin 4 cinse ait, 6 farklı türde (*Oc. caspius*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.*, *An. maculipennis* kompleks, *Cs. longierolata*, *Cs. annulata*) olduğu belirlendi. Platoda örneklenen en fazla türün *Cx. theileri* (605), ikinci en yoğun türün ise *Oc. caspius* olduğu belirlendi (Şekil 4.1). En fazla sivrisinek Temmuz ayından toplanmış olup, Haziran ayından 300, Temmuz ayından 532, Ağustos ayından da 428 adet sivrisinek toplandı (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1** 2013 yılı Kars Platosu'ndan toplanan sivrisinek türleri ve sayıları

TÜRLER	HAZİRAN	TEMMUZ	AĞUSTOS	TOPLAM
<i>Oc. caspius</i>	100	50	213	363
<i>Cx. theileri</i>	50	346	209	605
<i>Cx. pipiens</i>	—	—	22	22
<i>An. maculipennis</i>	150	121	67	338
<i>Cs. longierolata</i>	—	5	17	22
<i>Cs. annulata</i>	—	10	—	10
<b>TOPLAM</b>	300	532	528	1360



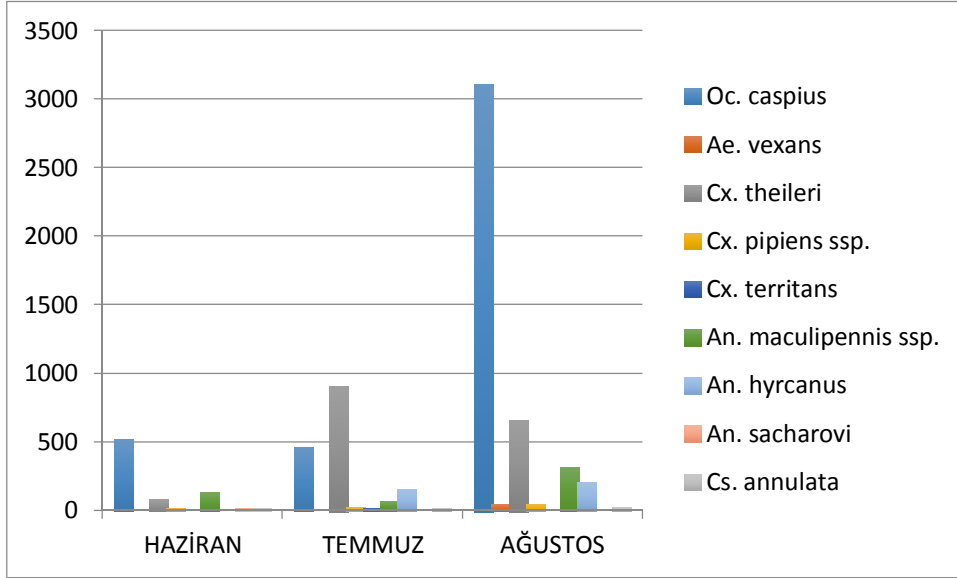
**Şekil 4.1** 2013 yılında Kars Platosu'ndan toplanan sivrisineklerin aylara göre dağılımı

Aras Havzası'nda 5 cins ve 9 türe ait (*Oc. caspius*, *Ae. vexans*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.*, *Cx. territans*, *An. maculipennis* kompleks, *An. hyrcanus*, *An. sacharovi*, *Cs. annulata*) 6669 dişi sivrisinek toplandı. Havzadan en fazla toplanan türün *Oc. caspius* (4062), ikinci yoğun türünde *Cx. theileri* (1627) olduğu belirlendi (Şekil 4.2). En fazla sivrisinek Ağustos ayında toplanmış olup, Haziran ayında 722, Temmuz ayında 1590, Ağustos ayından da 4357 sivrisinek toplandı (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.2** 2013 yılı Aras Havzası'ndan toplanan sivrisinek türleri ve sayıları

TÜRLER	HAZİRAN	TEMMUZ	AĞUSTOS	TOPLAM
<i>Oc. caspius</i>	509	453	3100	4062
<i>Ae. vexans</i>	—	—	40	40
<i>Cx. theileri</i>	77	900	650	1627
<i>Cx. pipiens</i>	5	23	41	69
<i>Cx. territans</i>	—	1	—	1
<i>An. maculipennis</i>	123	62	306	491
<i>An. hyrcanus</i>	—	145	205	350
<i>An. sacharovi</i>	4	—	—	4
<i>Cs. annulata</i>	4	6	15	25
<b>TOPLAM</b>	<b>722</b>	<b>1590</b>	<b>4357</b>	<b>6669</b>



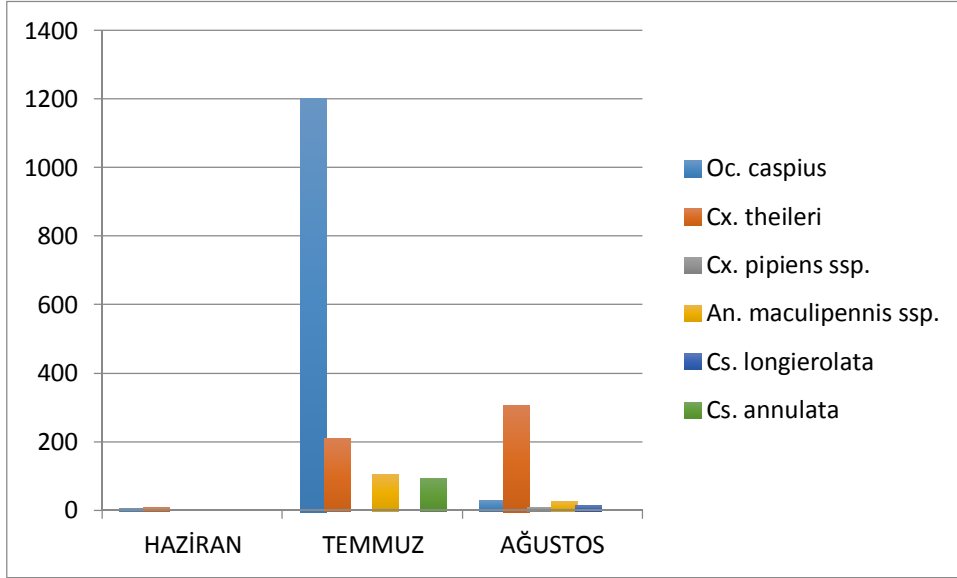


**Şekil 4.2** 2013 yılında Aras Havzası'ndan toplanan sivrisineklerin aylara göre dağılımı

2014 yılında Haziran–Ağustos aylarında Kars platosu'ndan toplam 1995 adet sivrisinek toplandı. Toplanan sivrisineklerin 4 cinse ait, 6 farklı türde (*Oc. caspius*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.*, *An. maculipennis* kompleks, *Cs. longierolata*, *Cs. annulata*) olduğu belirlendi. Platoda örneklenen en fazla türün *Oc. caspius* (1233), ikinci en yoğun türün ise *Cx. theileri* (521) olduğu belirlendi (Şekil 4.3). En fazla sivrisinek Temmuz ayından toplanmış olup, Haziran ayından 11, Temmuz ayından 1605, Ağustos ayından da 379 adet sivrisinek toplandı ( Çizelge 4.3).

**Çizelge 4.3** 2014 yılı Kars Platosu'ndan toplanan sivrisinek türleri ve sayıları

TÜRLER	HAZİRAN	TEMMUZ	AĞUSTOS	TOPLAM
<i>Oc. caspius</i>	5	1200	28	1233
<i>Cx. theileri</i>	6	209	306	521
<i>Cx. pipiens</i>	—	—	9	9
<i>An. maculipennis</i>	—	104	23	127
<i>Cs. longierolata</i>	—	—	13	13
<i>Cs. annulata</i>	—	92	—	92
<b>TOPLAM</b>	11	1605	379	1995

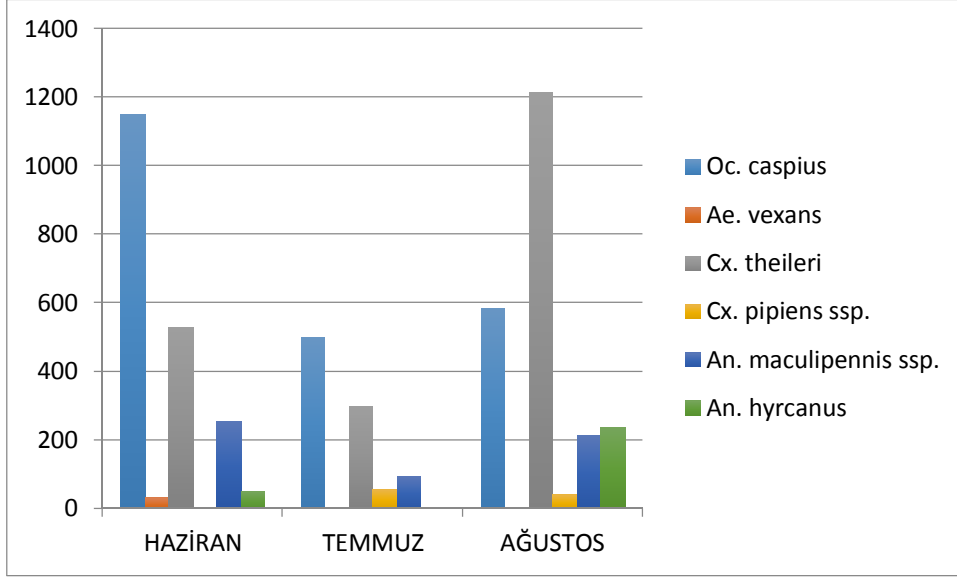


**Şekil 4.3** 2014 yılında Kars Platosu'ndan toplanan sivrisineklerin aylara göre dağılımları

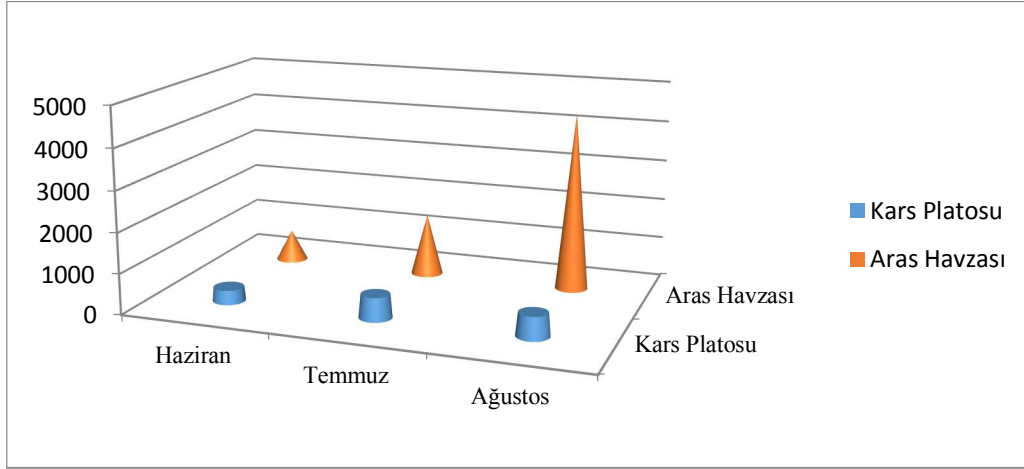
Aras Havzası'nda 4 cins, 6 türe ait (*Oc. caspius*, *Ae. vexans*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.*, *An. maculipennis* kompleks, *An. hyrcanus*) 5263 dişi sivrisinek toplandı. Aras Havzası'ndan en fazla toplanan türün *Oc. caspius* (2235), ikinci yoğun türünde *Cx. theileri* (2043) olduğu belirlendi (Şekil 4.4). En fazla sivrisinek Ağustos ayında toplanmış olup, Haziran ayında 2016, Temmuz ayında 952, Ağustos ayından da 2295 sivrisinek toplandı (Çizelge 4.4).

**Çizelge 4.4** 2014 yılı Aras Havzası'ndan toplanan sivrisinek türleri ve sayıları

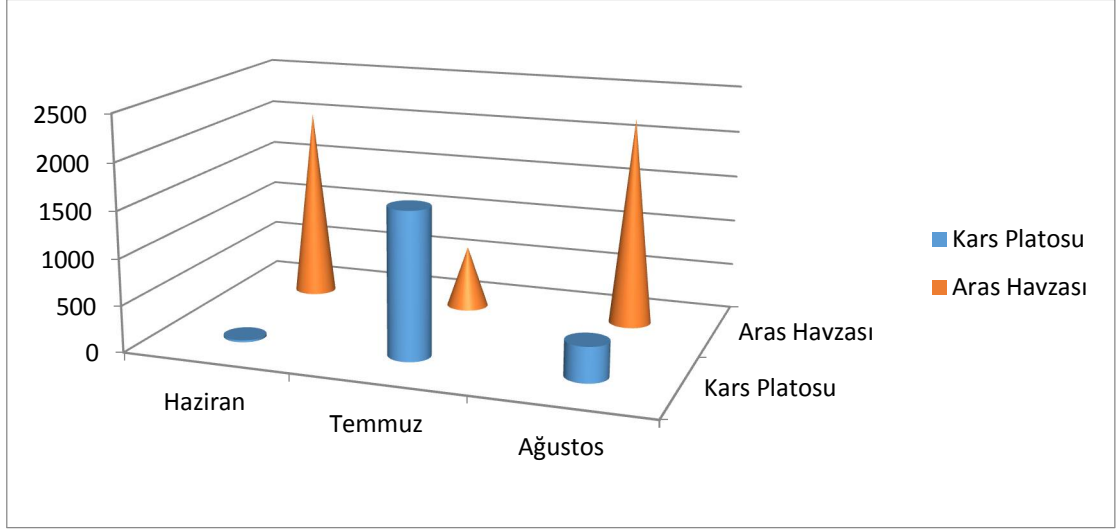
TÜRLER	HAZİRAN	TEMMUZ	AĞUSTOS	TOPLAM
<i>Oc. caspius</i>	1150	500	585	2235
<i>Ae. vexans</i>	32	—	3	35
<i>Cx. theileri</i>	529	300	1214	2043
<i>Cx. pipiens</i>	—	57	40	97
<i>An. maculipennis</i>	255	95	214	564
<i>An. hyrcanus</i>	50	—	239	289
<b>TOPLAM</b>	<b>2016</b>	<b>952</b>	<b>2295</b>	<b>5263</b>



**Şekil 4.4** 2014 yılında Aras Havzası'ndan toplanan sivrisineklerin aylara göre dağılımı



**Şekil 4.5** 2013 yılına ait sivrisineklerin aylık dağılımının bölgelere göre gösterimi



**Şekil 4.6** 2014 yılına ait sivrisineklerin aylık dağılımının bölgelere göre gösterimi

#### 4.2 Sivrisinek Örneklerinde Virus İncelemeleri

2013-2014 yıllarında Aras Havzası ve Kars Platosu'ndan toplanan sivrisinekler tür teşhisi yapıp tarih ve yerleşim birimlerine göre ayrıldıktan sonra içerisinde en fazla 50 adet sivrisinek olacak şekilde ependorf tüplerde havuzlar oluşturuldu. 2013 ve 2014 yıllarına ait Kars Platosu ve Aras Havzası'ndan toplam 376 (Kars Platosu 89, Aras Havzası 287) sivrisinek havuzu oluşturuldu.

2013 yılında 36'sı Kars Platosu, 159'ı Aras Havzası olmak üzere toplam 195 adet havuz oluşturuldu. En fazla havuz Aras Havza'sında *Oc. caspius*'tan (83), Kars Platosu'nda *Cx. theileri*'den (14) oluşturuldu.

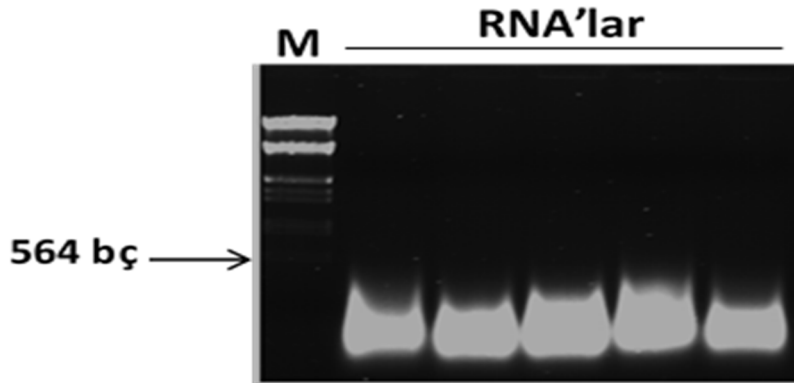
2014 yılında 128'i Aras Havzası, 53'ü Kars Platosu olmak üzere toplamda 181 adet havuz oluşturuldu. Her iki ilde de en fazla havuzlama yapılan tür *Oc. caspius* olup (Aras Havzası 48, Kars Platosu 28), bunu *Cx. theileri* (Aras Havzası 46, Kars Platosu 13) ve *An. maculipennis* kompleks'nin (Aras Havzası 16, Kars Platosu 6) izlediği belirlendi.

**Çizelge 4.5** 2013-2014 yıllarında bölgelerde oluşturulan toplam havuz sayısı

TÜRLER	Havuz Sayısı			
	Kars Platosu		Aras Platosu	
	2013	2014	2013	2014
<i>Oc. caspius</i>	8	28	83	48
<i>Ae. vexans</i>	–	–	2	3
<i>An. hyrcanus</i>	–	–	9	8
<i>An. maculipennis</i>	8	6	16	16
<i>An. sacharovi</i>	–	–	1	–
<i>Cs. annulata</i>	2	2	4	1
<i>Cs. longierolata</i>	2	3	–	–
<i>Cx. theileri</i>	14	13	35	46
<i>Cx. territans</i>	–	–	1	–
<i>Cx. pipiens</i>	2	1	8	7
<b>Toplam</b>	<b>36</b>	<b>53</b>	<b>159</b>	<b>128</b>

#### 4.2.1 Sivrisinek RNA'larının İzolasyonu ve cDNA'nın Klonlanması

TRI reagent kullanılarak elde edilen total RNA izolasyonu ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü Şekil 4.7'de gösterildiği gibi çıktı.

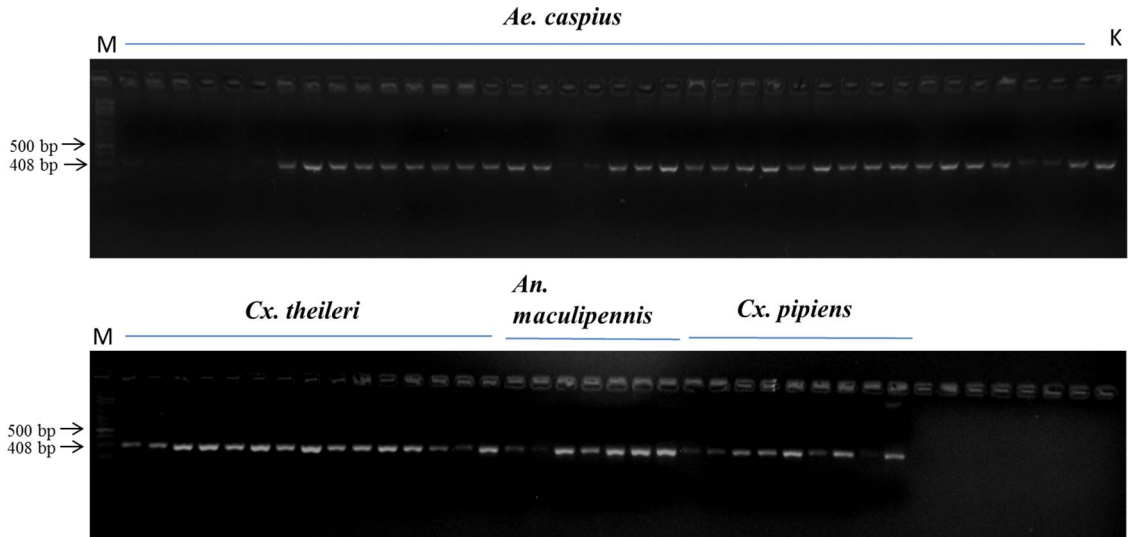


**Şekil 4.7** RNA izolasyon sonuçlarının agaroz jelden görüntüsü. M) lambdaDNA EcoRI/Hind III Marker 1, 2,3,4 ve 5) RNA sonuçlarının agaroz jelden görüntüsü (% 0.8' lik agaroz jel'e 3µl lambdaDNA EcoRI/Hind III marker ile birlikte yüklenip ve 90 V'de 50dk. yürütüldü).

Elde edilen cDNA'lar kullanılarak PZR reaksiyonları kurulup, BNV nükleik asitlerinin sivrisineklerdeki varlığı belirlendi. Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'de görüldüğü gibi BNV için beklenen büyüklük olan 408 bp boyutundaki bantlar belli örneklerde elde edildi.

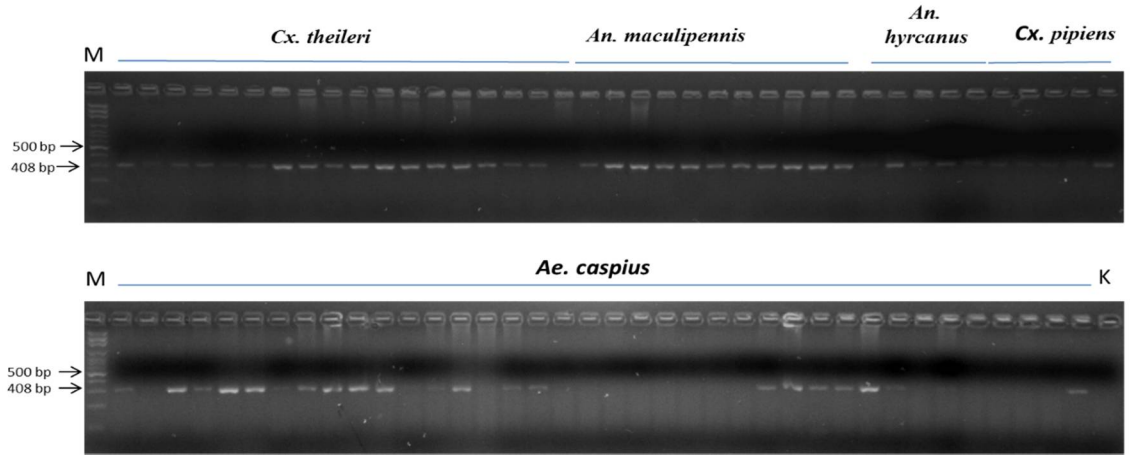
Yapılan PZR sonucunda, 2013 ve 2014 yıllarında Kars Platosu ve Aras Havzası'ndan oluşturulan 376 havuzdan *Oc. caspius*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp*, *An. maculipennis* kompleks ve *An. hyrcanus* türlerine ait toplam 128 havuzda BNV nükleik asitlerinin varlığı tespit edildi. Toplanan *Ae. vexans*, *An. sacharovi*, *Cs. annulata*, *Cs. longierolata* ve *Cx. territans* türlerinde BNV nükleik asitleri tespit edilemedi.

2013 yılında oluşturulan 195 havuzdan 68'unda BNV nükleik asidi bulundu. 68 havuzun *Oc. caspius* (38), *An. maculipennis* kompleks (7), *Cx. theileri* (15) ve *Cx. pipiens ssp.* (8) türlerine ait oldukları saptandı (Şekil 4.8).



**Şekil 4.8** 2013 yılı örneklerinden BNV pozitif çıkan örneklerine ait cDNA'nın PZR sonuçlarının agaroz jelden görüntüsü. M)  $\lambda$ DNA EcoRI/Hind III Marker, cDNA'nın PZR sonuçlarının agaroz jelden görüntüsü, K) pozitif kontrol (%0.8' lik agaroz jel'e 3 $\mu$ l  $\lambda$ DNA EcoRI/Hind III marker ile birlikte yüklenip ve 90 V'de 50 dk. yürütüldü).

2014 yılında ise, oluşturulan 181 havuzdan 60 havuzda BNV nükleik asidi bulundu. 60 havuzun *Oc. caspius* (24), *An. hyrcanus* (4), *An. maculipennis* kompleks (11), *Cx. pipiens ssp.* (5) ve *Cx. theileri* (16) türlerine ait olduğu saptandı (Şekil 4.9).



**Şekil 4.9** 2014 yılı örneklerinden BNV pozitif çıkan örneklerine ait cDNA'nın PZR sonuçlarının agaroz jelden görüntüsü. M)  $\lambda$ DNA EcoRI/Hind III Marker, cDNA'nın PZR sonuçlarının agaroz jelden görüntüsü, K) pozitif kontrol (%0.8' lik agaroz jel'e 3 $\mu$ l  $\lambda$ DNA EcoRI/Hind III marker ile birlikte yüklenip ve 90V'de 50 dk. yürütüldü).

Kars Platosu'nda 2013-2014 yıllarında *Oc. caspius*, *Cs. annulata*, *Cs. longierolata*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.* ve *An. maculipennis* kompleks olmak üzere 6 tür toplandı ve havuzlandı. İki yılda toplam 22 havuzda BNV nükleik asit varlığı tespit edildi. 2013 yılında 2 türe ait (*Oc. caspius*, *Cx. theileri*) 5 havuzda, 2014 yılında 4 türe ait (*Oc. caspius*, *An. maculipennis* kompleks, *Cx. pipiens ssp.*, *Cx. theileri*) 17 havuzda BNV nükleik asit varlığı tespit edildi.

**Çizelge 4.6** Kars Platosu'nda bulunan sivrisinek türleri, havuz sayıları ve pozitif havuz sayıları

TÜRLER	Toplanan örnek sayısı		Havuz sayısı		Pozitif havuz sayısı	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014
<i>Oc. caspius</i>	363	1233	8	28	4	6
<i>An. maculipennis</i>	338	128	8	6	–	4
<i>Cx. theileri</i>	605	521	14	13	1	6
<i>Cx. pipiens</i>	22	9	2	1	–	1
<i>Cs. annulata</i>	10	92	2	2	–	–
<i>Cs. longierolata</i>	22	13	2	3	–	–

Aras Havzası'nda *Oc. caspius*, *Ae. vexans*, *An. hyrcanus*, *An. maculipennis* kompleks, *An. sacharovi*, *Cs. annulata*, *Cx. pipiens ssp.*, *Cx. theileri* ve *Cx. territans* olmak üzere 9 türe ait örnekler toplandı ve havuzlandı. İki yılda toplam 106 havuzda BNV nükleik asit varlığı tespit edildi. 2013 yılında oluşturulan 4 türe ait (*Oc. caspius*, *An. maculipennis* kompleks, *Cx. pipiens ssp.*, *Cx. theileri*) 63 havuz, 2014 yılında 5 türe ait (*Oc. caspius*, *An. hyrcanus*, *An. maculipennis* kompleks, *Cx. pipiens ssp.*, *Cx. theileri*) 43 havuzda BNV nükleik asidi bulundu.



**Çizelge 4.7** Aras Havzası'nda bulunan sivrisinek türleri, havuz sayıları ve pozitif havuz sayıları

TÜRLER	Toplanılan örnek sayısı		Havuz sayısı		Pozitif havuz sayısı	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014
<i>Oc. caspius</i>	4062	2235	83	48	34	18
<i>Ae. vexans</i>	40	35	2	3	–	–
<i>An. hyrcanus</i>	350	289	9	8	–	4
<i>An. maculipennis</i>	491	565	16	16	7	7
<i>An. sacharovi</i>	4	–	1	–	–	–
<i>Cs. annulata</i>	24	1	4	–	–	–
<i>Cx. theileri</i>	1627	2046	35	46	14	10
<i>Cx. territans</i>	1	–	1	–	–	–
<i>Cx. pipiens</i>	69	97	8	7	8	4

Her iki bölgede de en fazla pozitif havuzun *Oc. caspius* türlerine ait havuzlarda olduğu (Aras Havzası 52, Kars Platosu 10), *Cx. theileri* havuzlarının her iki bölgede de pozitif *Oc. caspius* havuzlarından sonra geldiği (Aras Havzası 24, Kars Platosu 7) görüldü.

Kars Platosu'nda BNV nükleik asitleri 2013 yılında Haziran ve Ağustos aylarına ait havuzlarda bulundu. Temmuz ayında oluşturulan havuzlarda BNV nükleik asitleri saptanamadı. 2014 yılında tüm aylarda virus nükleik asidi tespit edildi ve BNV nükleik asitlerinin bulunduğu havuz sayısının Temmuz ayında arttığı görüldü. 2013 yılına göre 2014 yılında Kars Platosu'nda BNV nükleik asidi tespit edilen havuz sayısında artış gözlemlendi.

**Çizelge 4.8** Kars Platosu'nda aylara göre pozitif örnek sayısı

TÜRLER	Haziran		Temmuz		Ağustos		Toplam	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014	2013	2014
<i>Oc. caspius</i>	1	1	–	5	3	–	4	5
<i>An. maculipennis</i>	–	–	–	3	–	1	–	5
<i>Cx. theileri</i>	–	1	–	3	1	2	1	6
<i>Cx. pipiens</i>	–	–	–	–	–	1	–	1
<b>Toplam</b>	1	2	–	11	4	4	5	17

Aras Havzası'nda her iki senede de tüm aylarda BNV nükleik asitleri bulundu. Her iki yılda da BNV nükleik asitleri en fazla Ağustos ayında tespit edildi. *Oc. caspius*, *Cx. theileri* ve *Cx. pipiens* türlerinde BNV nükleik asitleri her ayda bulunurken, *An. maculipennis* kompleks türünde yalnızca 2013 yılı Temmuz ayına ait havuzlarda BNV nükleik asitleri saptanamadı. *An. hyrcanus* türünde ise, 2013 yılında oluşturulan havuzların hiçbirinde BNV nükleik asitleri saptanamazken, 2014 yılında Haziran ve Ağustos aylarına ait havuzlarda BNV nükleik asitleri tespit edildi.

**Çizelge 4.9** Aras Havzası'nda aylara göre pozitif örnek sayısı

TÜRLER	Haziran		Temmuz		Ağustos		Toplam	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014	2013	2014
<i>Oc. caspius</i>	4	6	4	5	26	7	34	18
<i>An. hyrcanus</i>	–	1	–	–	–	3	–	4
<i>An. maculipennis</i>	5	3	–	1	2	3	7	7
<i>Cx. theileri</i>	1	4	8	1	5	5	14	10
<i>Cx. pipiens</i>	2	–	4	2	2	2	8	4
<b>Toplam</b>	12	13	16	9	35	21	63	43

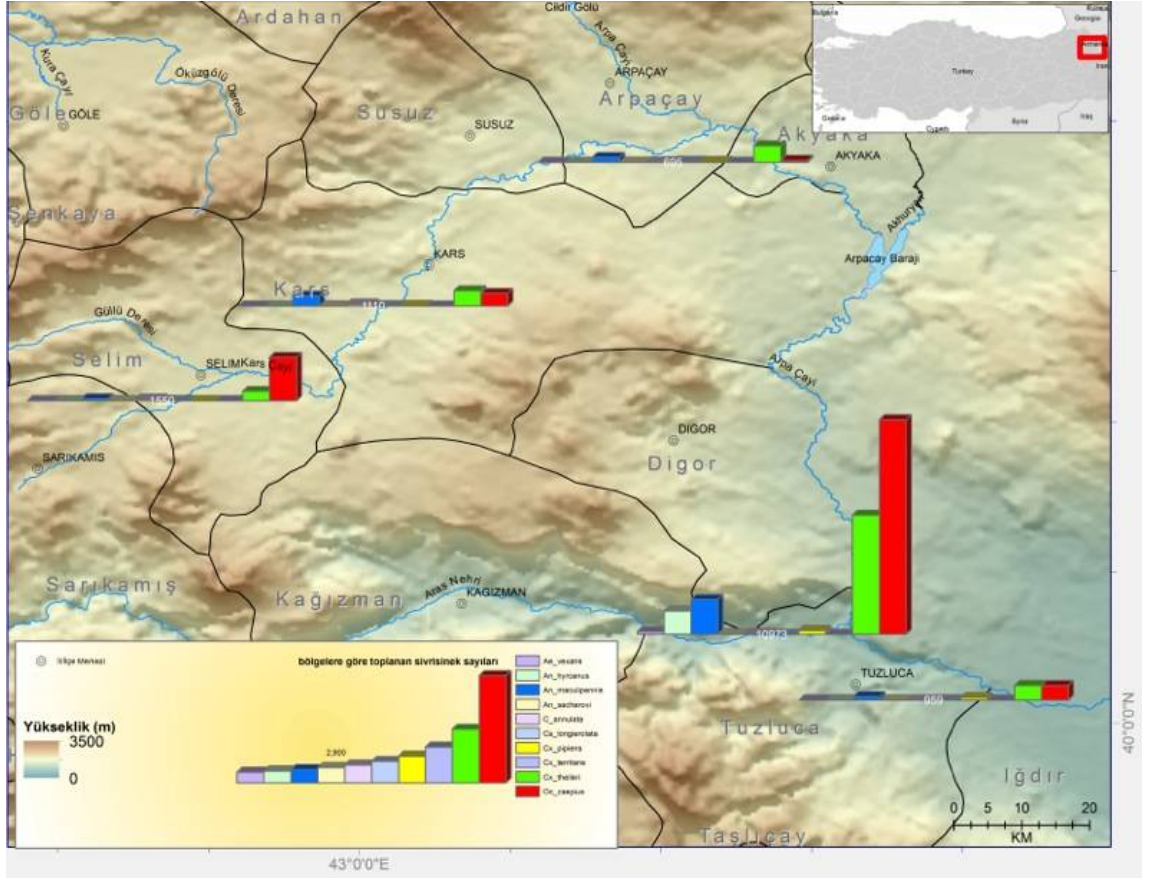
*An. hyrcanus* türüne ait havuzlar 2013 yılında BNV nükleik asidi bakımından negatif çıkarken, 2014 senesinde pozitif havuzlar tespit edildi. Kars Platosun'da da 2013 yılında BNV nükleik asitleri tespit edilmeyen *Cx. pipiens ssp.* ve *An. maculipennis* kompleks türlerinde BNV nükleik asitleri tespit edildi.

Aras Havzası'nda 2013-2014 yıllarında 2 bölge olarak toplam 5 merkezde çalışıldı. 2013 yılında Ağabey, Yukarı Çıyıklı Köyü ve Yeniköy Köyü 3 merkez seçildi. Yeniköy Köyü hariç, seçilen 3 merkezde BNV nükleik asidi bulundu. 2 merkezin de ortak vektörünün *Cx. pipiens* olduğu anlaşıldı. BNV nükleik asitlerinin bulunduğu havuzlar en çok Ağabey Köyü'nden alındı.

2014 yılında 5 örneklem merkezi seçilmiş olup bu merkezler, Ağabey Köyü, Yukarı Çıyıklı Köyü, Tuzluca Merkez, Yeniköy Köyü ve Çalpala Köyü'dür. 5 merkezde de BNV nükleik asidi tespit edildi. 2013 yılından farklı olarak Yukarı Çıyıklı Köyü'nde *Cx. pipiens ssp.* havuzlarında BNV nükleik asitleri gözlenmedi. Yukarı Çıyıklı Köyü hariç diğer merkezlerde BNV nükleik asitlerini taşıyan ortak türün *Cx. pipiens ssp.* olduğu anlaşıldı. BNV nükleik asitlerinin bulunduğu havuzlar en çok Ağabey Köyü'nden alındı.

Kars Platosu'nda 2013-2014 yıllarında 8 örneklem merkezinde çalışıldı. 2013 yılında Kümbetli Köyü, Çamçavuş köyü, Kuyucuk Köyü, Büyükçatma Köyü ve Selim Merkez olarak 5 merkez seçildi. Bu merkezlerden sadece Selim Merkez ve Kümbetli Köyü'nde BNV nükleik asitleri bulundu. *Oc. caspius*'un her iki merkezin de ortak enfekte türü olduğu belirlendi. En çok BNV nükleik asiti Kümbetli Köyü'nde bulundu.

2014 yılında Kars Platosu'ndan Kars Merkez, Kuyucuk Köyü, Karahamza Köyü, Kümbetli Köyü ve Alisofu Köyü olarak 5 merkezde çalışıldı. 7 merkezde de BNV nükleik asit varlığı tespit edildi. Kars Merkez hariç tüm merkezlerdeki BNV nükleik asitlerini taşıyan ortak türün *Cx. theileri* ve *Oc. caspius* olduğu belirlendi. BNV nükelik asitleri en fazla Karahamza Köyü'nden alındı.



**Şekil 4.10** Bölgelere göre toplanan sıvrısinek sayıları

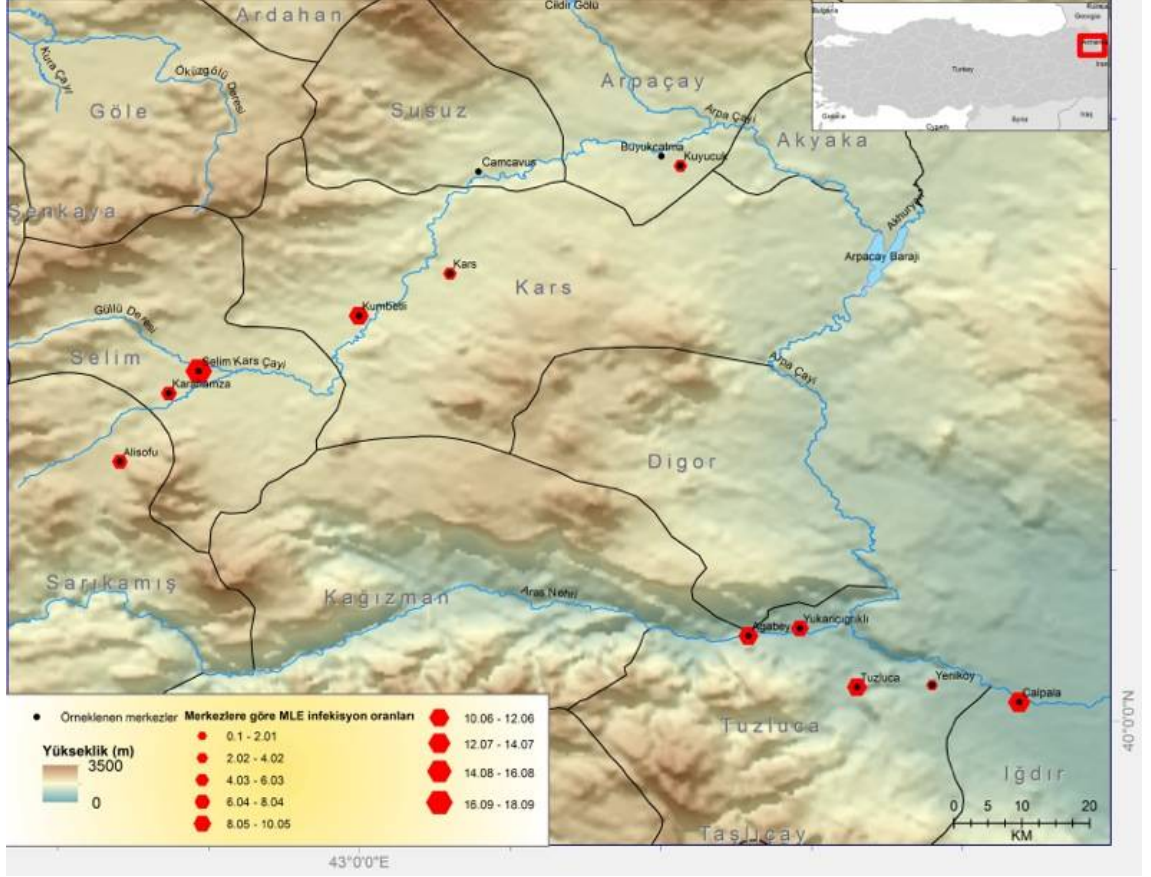
### Enfeksiyon Oranları

2013 ve 2014 yıllarında Kars Platosu ve Aras Havzası Maksimum Olasılık Tahminleri (MLE) ve Minimum Enfeksiyon Oranları (MIR) hesaplandığı zaman, MLE 10,22/1000 sıvrısinek (CI 8,59-12,09), MIR 8,37/1000 sıvrısinek olarak belirlendi.

2013-2014 yılları Kars Platosu ve Aras Havzası'ndaki merkezlerin enfeksiyon oranları hesaplandığında, en yüksek enfeksiyon oranınının 18.10 ile (CI 074-7.53) Selim merkezde olduğu görüldü. Örneklem merkezlerinin enfeksiyon oranları Çizelge 4.10'da verildiği gibidir.

**Çizelge 4.10** Örneklem merkezlerinde bulunan enfeksiyon oranları

Örneklem merkezleri	MLE enfeksiyon oranı	Güven Aralığı	Ölçek(Birey)	MIR
Ağabey	12,00	9,31 – 15,32	1000	4,05
Alisofu	6,78	0,53 – 34,39	1000	0,06
Büyükçatma	0,00	0,00 – 8,90	1000	0
Calpala	12,12	4,14 – 30,59	1000	0,26
Çamcavus	0,00	0,00 – 21,21	1000	0
Karahamza	7,21	3,40 – 13,87	1000	0,52
Kars	5,98	0,41 – 29,08	1000	0,06
Kümbetli	11,28	5,42 – 21,70	1000	0,52
Kuyucuk	5,49	1,08 – 17,50	1000	0,13
Selim	18,10	3,44 – 81,58	1000	0,13
Tuzluca	10,85	3,08 – 30,61	1000	0,19
Yenikoy	3,53	0,23 – 17,19	1000	0,06
Yukarı Çıyıklı	9,86	7,10 – 13,43	1000	2,35



**Şekil 4.11** Merkezlerdeki enfeksiyon oranları

2013-2014 yılları bölgelere göre enfeksiyon oranları hesaplandığında 4. ve 5. bölgelerin MLE oranlarının diğer bölgelere göre daha yüksek olduğu görüldü.

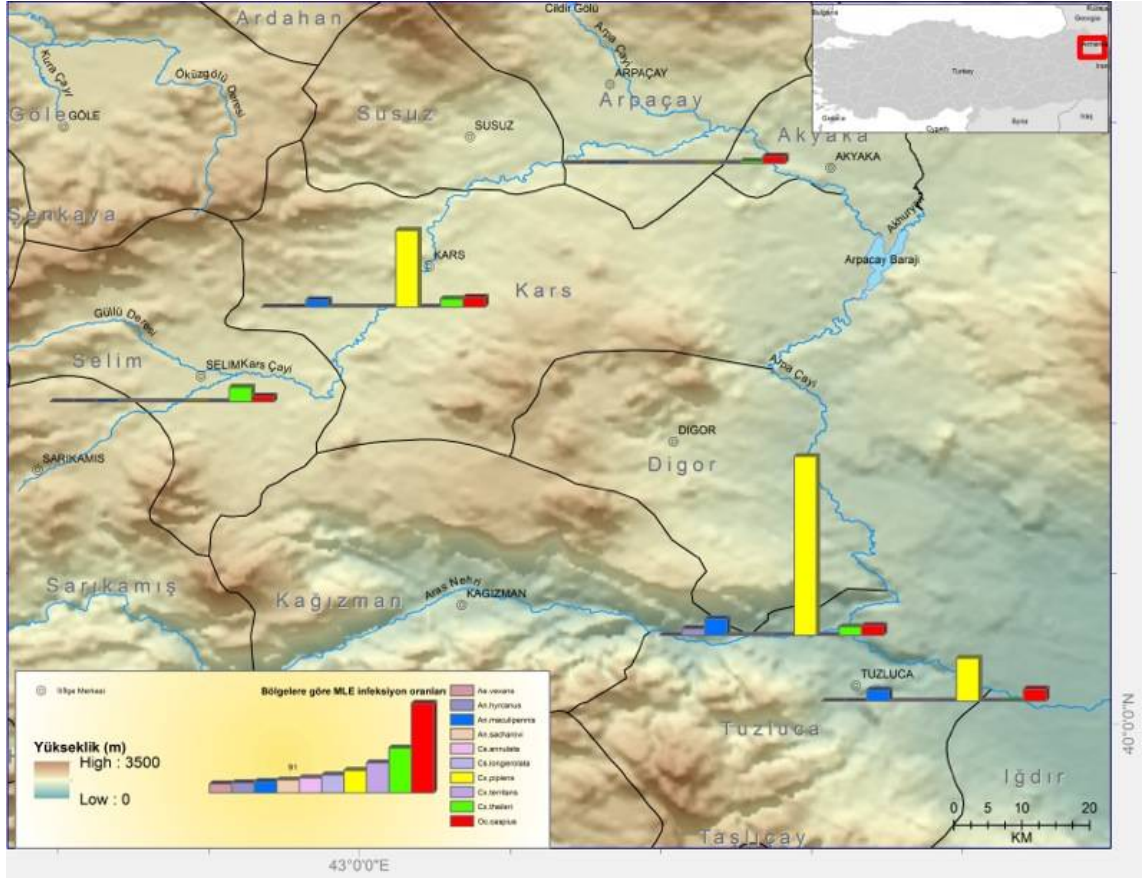
**Çizelge 4.11** Bölgelere göre enfeksiyon oranları

Bölgeler	MLE enfeksiyon oranı	Güven Aralığı	Ölçek(Birey)	MIR
1	8,39	4,48 – 14,69	1000	0,71
2	9,42	4,73 – 17,33	1000	0,58
3	2,80	0,52 – 4,01	1000	0,13
4	11,13	9,12 – 13,50	1000	6,41
5	9,55	4,62 – 18,50	1000	0,52

2013 ve 2014 yıllarında her iki bölgeden de BNV nükleik asitlerinin bulunduğu sivrisinek türlerindeki enfeksiyon oranları hesaplandığında en yüksek enfeksiyon *Cx. pipiens* türünde görüldü.

**Çizelge 4.12** Kars Platosu ve Aras Havzası'nda BNV nükleik asidi bulunan türlerin enfeksiyon oranları

Türler	MLE enfeksiyon oranı	Güven Aralığı	Ölçek(Birey)	MIR
<i>An. hyrcanus</i>	6,88	2,30 – 16,78	1000	0
<i>An. maculipennis</i>	14,55	9,18 – 22,45	1000	0,26
<i>Cx. pipiens</i>	97,53	61,52 – 160,49	1000	1,17
<i>Cx. theileri</i>	7,59	5,27 – 10,65	1000	0
<i>Oc. caspius</i>	9,78	7,58 – 12,49	1000	0



**Şekil 4.12** Bölgelere göre türlerin MLE enfeksiyon oranları

2013 yılı ile 2014 yılının ve Kars platosu ile Aras Havzası'nın enfeksiyon oranları karşılaştırıldığında, Aras Havzası'nda daha yüksek olduğu, yıllar arasında belirgin bir farkın olmadığı görüldü.

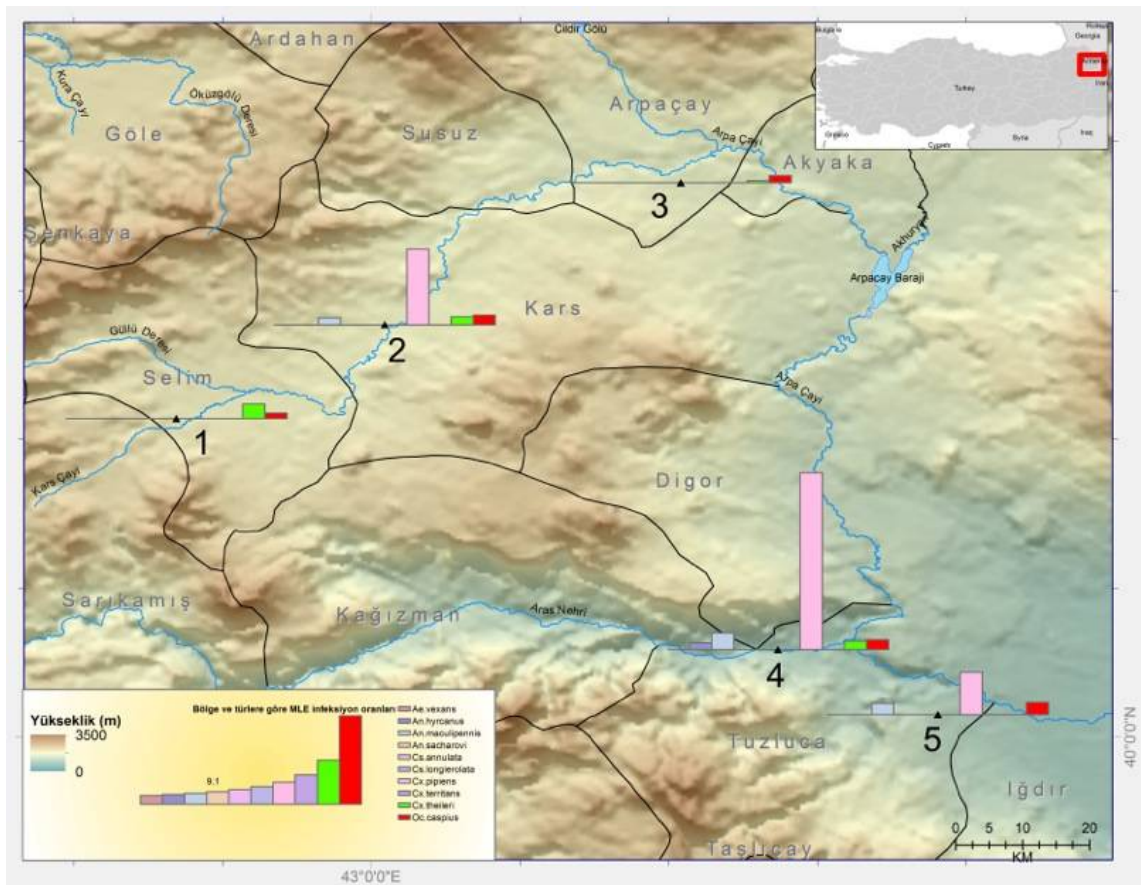
**Çizelge 4.13** Kars Platosu ve Aras Havzası'nın enfeksiyon oranları

Çalışma alanları	MLE enfeksiyon oranı	Güven Aralığı	Ölçek(Birey)	MIR
Kars Platosu	7,49	4,87 – 11,14	100	1,43
Aras Havzası	11,03	9,11 – 13,27	100	6,93



**Çizelge 4.14** 2013 ve 2014 yılları enfeksiyon oranları

Yıllar	MLE enfeksiyon oranı	Güven Aralığı	Ölçek(Birey)	MIR
2013	10,37	8,16 – 13,06	1000	4,44
2014	10,00	7,75 – 12,77	1000	3,92



**Şekil 4.13** Bölge ve türlere göre enfeksiyon oranları

Kars Platosu ve Aras Havzası'nı kendi içerisinde karşılaştırdığımız zaman, Kars Platosu'nda enfeksiyon oranının 2013'e göre 2014 yılında arttığı ve enfeksiyon oranının en yüksek *Cx. pipiens* türünde çıktığı görüldü.

**Çizelge 4.15** Kars Platosu 2013-2014 yılları enfeksiyon oranları

Yıllar	MLE enfeksiyon oranı	Güven Aralığı	Ölçek(Birey)
2013	3,95	1,48 – 8,79	1000
2014	10,06	6,19 – 15,75	1000

**Çizelge 4.16** Kars Platosu BNV nükleik asitlerinin bulunduğu türlerin enfeksiyon oranları

Türler	MLE enfeksiyon oranı	Güven Aralığı	Ölçek(Birey)
<i>An. maculipennis</i>	9,20	3,21– 2,21	1000
<i>Cx. pipiens</i>	28,16	2,06 – 147,00	1000
<i>Cx. theileri</i>	7,06	3,16 – 14,07	1000
<i>Oc. caspius</i>	7,16	3,71 – 12,82	1000

Aras havzası'nda Kars Platosu'nun aksine, 2014 yılında enfeksiyon oranında düşüş olduğu gözlemlendi. Aras Havzası'nda da enfeksiyon oranı en yüksek tür *Cx. pipiens* olarak belirlendi.

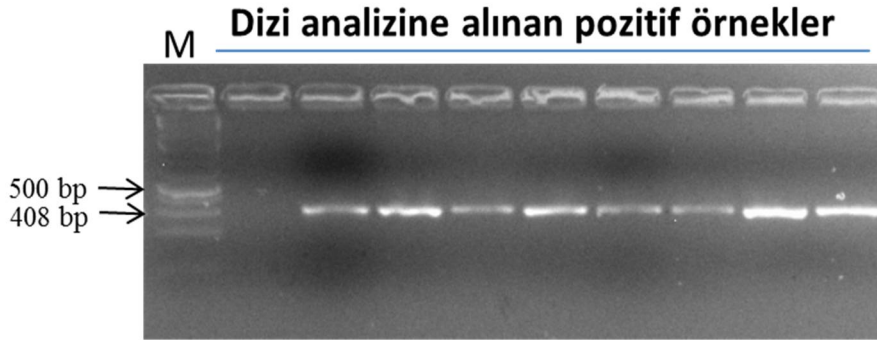
**Çizelge 4.17** Aras Havzası 2013-2014 yılları enfeksiyon oranları

Yıllar	MLE enfeksiyon oranı	Güven Aralığı	Ölçek(Birey)
2013	11,88	9,27 – 15,09	1000
2014	9,92	7,32 – 13,24	1000

**Çizelge 4.18** Aras Havzası'nda BNV nükleik asitlerinin bulunduğu sivrisinek türlerinin enfeksiyon oranları

Türler	MLE enfeksiyon oranı	Güven Aralığı	Ölçek(Birey)
<i>An. hyrcanus</i>	6,89	2,30 – 34,86	100
<i>An. maculipennis</i>	16,97	10,05 – 16,78	100
<i>Cx. pipiens</i>	114,77	72,83 – 195,84	100
<i>Cx. theileri</i>	7,70	5,08 – 11,31	100
<i>Oc. caspius</i>	10,49	7,92 – 13,70	100

Saflaştırma sonucunda Şekil'4.14'da da görüldüğü gibi beklenen büyüklükte bant elde edildi ve saflaştırmanın başarılı olduğu görüldü.



**Şekil 4.14** Dizi analizine alınan pozitif örnekler

Saflaştırılan ürünler metotta belirtilen Beckman Coulter CEQ8000 DNA dizi analiz aletinde dizi analizine tabii tutuldu. Elde edilen dizi analizi sonuçları Çizelge 4.19'da gösterildiği gibidir.

**Çizelge 4.19** Dizi analizi sonucu elde edilen dizinin gen bankasında NCBI veri tabanında BLAST programı kullanarak değerlendirilmesi

1	GGACATCTCCTGGGAAAGTGATGCAGAAATTACAGGCTCGAGCGAAAGAGTTGATGTGCG 60
2	GGACATCTCCTGGGAAAGTGATGCAGAAATTACAGGCTCGAGCGAAAGAGTTGATGTGCG 60
3	GGACATCTCCTGGGAAAGTGATGCAGAAATTACAGGCTCGAGCGAAAGAGTTGATGTGCG 60

4 GGACATCTCCTGGGAAAGTGATGCAGAAATTACAGGCTCGAGCGAAAGAGTTGATGTGCG 60  
5 GGACATCTCCTGGGAAAGTGATGCAGAAATTACAGGCTCGAGCGAAAGAGTTGATGTGCG 60  
6 GGACATCTCCTGGGAAAGTGATGCAGAAATTACAGGCTCGAGCGAAAGAGTTGATGTGCG 60  
7 GGACATCTCCTGGGAAAGTGATGCAGAAATTACAGGCTCGAGCGAAAGAGTTGATGTGCG 60  
8 GGACATCTCCTGGGAAAGTGATGCAGAAATTACAGGCTCGAGCGAAAGAGTTGATGTGCG 60

\*\*\*\*\*

1 GCTTGATGATGATGGAACTTGGAGCTCATGAATGATCCAGGAGCACCTTGAAGATATG 120  
2 GCTTGATGATGATGGAACTTGGAGCTCATGAATGATCCAGGAGCACCTTGAAGATATG 120  
3 GCTTGATGATGATGGAACTTGGAGCTCATGAATGATCCAGGAGCACCTTGAAGATATG 120  
4 GCTTGATGATGATGGAACTTGGAGCTCATGAATGATCCAGGAGCACCTTGAAGATATG 120  
5 GCTTGATGATGATGGAACTTGGAGCTCATGAATGATCCAGGAGCACCTTGAAGATATG 120  
6 GCTTGATGATGATGGAACTTGGAGCTCATGAATGATCCAGGAGCACCTTGAAGATATG 120  
7 GCTTGATGATGATGGAACTTGGAGCTCATGAATGATCCAGGAGCACCTTGAAGATATG 120  
8 GCTTGATGATGATGGAACTTGGAGCTCATGAATGATCCAGGAGCACCTTGAAGATATG 120

\*\*\*\*\*

1 GATGCTCAGAATGGCCTGCCTCGCGATTAGTGCGTACACCCCTTGGGCAATCCTGCCCTC 180  
2 GATGCTCAGAATGGCCTGCCTCGCGATTAGTGCGTACACCCCTTGGGCAATCCTGCCCTC 180  
3 GATGCTCAGAATGGCCTGCCTCGCGATTAGTGCGTACACCCCTTGGGCAATCCTGCCCTC 180  
4 GATGCTCAGAATGGCCTGCCTCGCGATTAGTGCGTACACCCCTTGGGCAATCCTGCCCTC 180  
5 GATGCTCAGAATGGCCTGCCTCGCGATTAGTGCGTACACCCCTTGGGCAATCCTGCCCTC 180  
6 GATGCTCAGAATGGCCTGCCTCGCGATTAGTGCGTACACCCCTTGGGCAATCCTGCCCTC 180  
7 GATGCTCAGAATGGCCTGCCTCGCGATTAGTGCGTACACCCCTTGGGCAATCCTGCCCTC 180  
8 GATGCTCAGAATGGCCTGCCTCGCGATTAGTGCGTACACCCCTTGGGCAATCCTGCCCTC 180

\*\*\*\*\*

1 AGTAGTTGGATTTTGGATAACTCTCCAATACACAAAGAGAGGAGGCGTGTGGGACAC 240  
2 AGTAGTTGGATTTTGGATAACTCTCCAATACACAAAGAGAGGAGGCGTGTGGGACAC 240  
3 AGTAGTTGGATTTAAGGATAACTCTCCAATACACAAAGAGAGGAGGCGTGTGGGACAC 240  
4 AGTAGTTGGATTTTGGATAAGCCTCCAATACACAAAGAGAGGAGGCGTGTGGGACAC 240  
5 AGTAGTTGGATTTTGGATAACTCTCCAATACACAAAGAGAGGAGGCGTGTGGGACAC 240  
6 AGTAGTTGGATTTTGGATAACTCTCCAATACACAAAGAGAGGAGGCGTGTGGGACAC 240  
7 AGTAGTTGGATTTTGGATAACTCTCCAATACACAAAGAGAGGAGGCGTGTGGGACAC 240  
8 AGTAGTTGGATTTTGGATAACTCTCCAATACACAAAGAGAGGAGGCGTGTGGGACAC 240

\*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\*

1 TCCCTACCAAAGGAGTACAAAAGGGGGACACGACCACCGGCGTCTACAGGATCATGAC 300  
2 AACCTACCAAAGGAGTACAAAAGGGGGACACGACCACCGGCGTCTACAGGATCATGAC 300  
3 TCCCTACCAAAGGAGTACAAAAGGGGGACACGACCACCGGCGTCTACAGGATCATGAC 300  
4 TCCCTACCAAAGGAGTACAAAAGGGGGACACGACCACCGGCGTCTACAGGATCATGAC 300  
5 TCCCTACCAAAGGAGTACAAAAGGGGGACACGACCACCGGCGTCTACAGGATCATGAC 300  
6 TCCCTACCAAAGGAGTACAAAAGGGGGACACGACCACCGGCGTCTACAGGATCATGAC 300  
7 TCCCTACCCCGGAGTACAAAAGGGGGACACGACCACCGGCGTCTACAGGATCATGAC 300  
8 TCCCTACCAAAGGAGTACAAAAGGGGGACACGACCACCGGCGTCTACAGGATCATGAC 300

\*\*\*\*\* \*\*\*\*\*

1 TCGTGGGCTGCTCGGCAGTTATCAAGCAGGAGCGGGCGTGATGGTTGAAGGTGTTTTCCA 360

```

2          TCGTGGGCTGCTCGGCAGTTATCAAGCAGGAGCGGGCGTGATGGTTGAAGGTGTTTTCCA 360
3          TCGTGGGCTGCTCGGCAGTTATCAAGCAGGAGCGGGCGTGATGGTTGAAGGTGTTTTCCA 360
4          TCGTGGGCTGCTCGGCAGTTATCAAGCAGGAGCGGGCGTGATGGTTGAAGGTGTTTTCCA 360
5          TCGTGGGCTGCTCGGCAGTTATCAAGCAGGAGCGGGCGTGATGGTTGAAGGTGTTTTCCA 360
6          TCGTGGGCTGCTCGGCAGTTATCAAGCAGGAGCGGGCGTGATGGTTGAAGGTGTTTTCCA 360
7          TCGTGGGCTGCTCGGCAGTTATCAAGCAGGAGCGGGCGTGATGGTTGAAGGTGTTTTCCA 360
8          TCGTGGGCTGCTCGGCAGTTATCAAGCAGGAGCGGGCGTGATGGTTGAAGGTGTTTTCCA 360
          *****

```

```

1          CACCCTTTGGCATAACAACAAAAGGAGCCGCTTTGATGAGCGGAGAAGG 408
2          CACCCTTTGGCATAACAACAAAAGGAGCCGCTTTGATGAGCGGAGAAGG 408
3          CACCCTTTGGCATAACAACAAAAGGAGCCGCTTTGATGAGCGGAGAAGG 408
4          CACCCTTTGGCATAACAACAAAAGGAGCCGCTTTGATGAGCGGAGAAGG 408
5          CACCCTTTGGCATAACAACAAAAGGAGCCGCTTTGATGAGCGGAGAAGG 408
6          CACCCTTTGGCATAACAACAAAAGGAGCCGCTTTGATGAGCGGAGAAGG 408
7          CACCCTTTGGCATAACAACAAAAGGAGCCGCTTTGATGAGCGGAGAAGG 408
8          CACCCTTTGGCATAACAACAAAAGGAGCCGCTTTGATGAGCGGAGAAGG 408
          *****

```

Nükleotid dizisi belirlenen PZR ürünü NCBI veri tabanında BLAST ile analiz edildi. Analiz sonucunda elde edilen dizilerin BNV nükleik asitlerine ait olduğu belirlendi. Dizilerin hangi tip BNV nükleik asitlerine ait olduğu incelenince Köken 1'e benzerlik gösterdiği belirlendi (Şekil 4.15, 4.16, 4.17). Elde edilen dizinin karşılaştırmalı analizleri ve filogenetik ağaçtaki yeri belirlendiğinde, virusun özellikle Eskişehir ilinden bir attan izole edilen BNV ile benzerlik gösterdiği, Eskişehir'den sonra Orta Afrika Cumhuriyeti'nden izole edilen virus ile benzerlik gösterdiği ve daha sonra da Nijerya, Senegal, Romanya, Macaristan, Tunus, Arjantin, İsrail, Rusya, İtalya, Fransa, İspanya, Fas, Portekiz, Mısır, NewYork ve Avusturya'dan izole edilen virus ile benzerlik gösterdiği belirlendi.

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected:0

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus strain T2, complete genome</a>	1014	1014	100%	0.0	100%	<a href="#">KJ958922.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus strain ArB310/67 polyprotein gene, complete cds</a>	1014	1014	100%	0.0	100%	<a href="#">GQ851608.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus strain IBAN7019 polyprotein gene, complete cds</a>	987	987	100%	0.0	99%	<a href="#">GQ851607.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus isolate KN3829 polyprotein gene, complete cds</a>	970	970	100%	0.0	99%	<a href="#">AY262283.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus isolate WN-1/US/BID-V6616/2001, complete genome</a>	965	965	100%	0.0	98%	<a href="#">KJ501512.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus isolate WN-1/US/BID-V6512/2005, complete genome</a>	965	965	100%	0.0	98%	<a href="#">KJ501492.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus isolate WN-1/US/BID-V6506/2002, complete genome</a>	965	965	100%	0.0	98%	<a href="#">KJ501489.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus isolate WN-1/US/BID-V6469/2001, complete genome</a>	965	965	100%	0.0	98%	<a href="#">KJ501473.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus isolate WN-1/US/BID-V6459/2001, complete genome</a>	965	965	100%	0.0	98%	<a href="#">KJ501468.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus isolate WN-1/US/BID-V6418/2001, complete genome</a>	965	965	100%	0.0	98%	<a href="#">KJ501455.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus isolate WN-1/US/BID-V6399/2002, complete genome</a>	965	965	100%	0.0	98%	<a href="#">KJ501450.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus isolate WN-1/US/BID-V6373/2001, complete genome</a>	965	965	100%	0.0	98%	<a href="#">KJ501443.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus isolate WN-1/US/BID-V6651/2001, complete genome</a>	965	965	100%	0.0	98%	<a href="#">KJ501395.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus isolate WN-1/US/BID-V6630/2001, complete genome</a>	965	965	100%	0.0	98%	<a href="#">KJ501379.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">West Nile virus isolate WN-1/US/BID-V6466/2003, complete genome</a>	965	965	100%	0.0	98%	<a href="#">KJ501313.1</a>

**Şekil 4.15** NCBI veri tabanında dizinin karşılaştırılması sonucu elde edilen benzer diziler

West Nile virus strain T2, complete genome

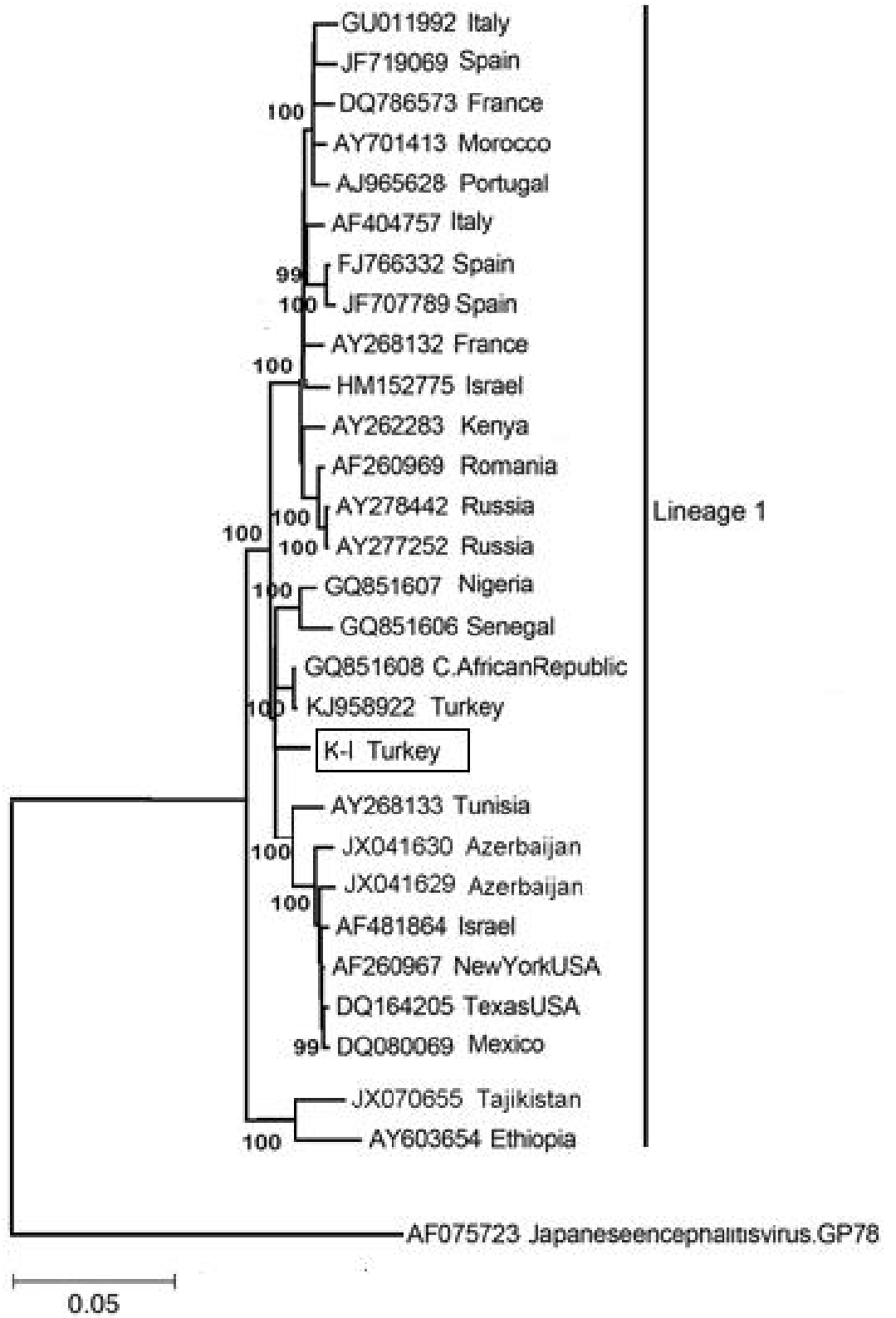
Sequence ID: [gb|KJ958922.1](#) Length: 11026 Number of Matches: 1

Range 1: 4389 to 4796 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
743 bits(402)	0.0	406/408(99%)	0/408(0%)	Plus/Plus
Query 1	GGACATCTCCTGGGAAAGTGATGCAGAAATTACAGGCTCGAGCGAAAGAGTTGATGTGCG			60
Sbjct 4389	GGACATCTCCTGGGAAAGTGATGCAGAAATTACAGGCTCGAGCGAAAGAGTTGATGTGCG			4448
Query 61	GCTTGATGATGATGGAAACTTGGAGCTCATGAATGATCCAGGAGCACCTTGGAAAGATATG			120
Sbjct 4449	GCTTGATGATGATGGAAACTTCCAGCTCATGAATGATCCAGGAGCACCTTGGAAAGATATG			4508
Query 121	GATGCTCAGAAATGGCCTGCCTCGCGATTAGTGCGTACACCCCTTGGGCAATCCTGCCCTC			180
Sbjct 4509	GATGCTCAGAAATGGCCTGCCTCGCGATTAGTGCGTACACCCCTTGGGCAATCCTGCCCTC			4568
Query 181	AGTAGTTGGATTTTGGATAACTCTCCAATACACAAAGAGAGGAGCGTGCTGTGGGACAC			240
Sbjct 4569	AGTAGTTGGATTTTGGATAACTCTCCAATACACAAAGAGAGGAGCGTGCTGTGGGACAC			4628
Query 241	TCCCTCACCAAAGGAGTACAAAAAGGGGGACACGACCACCGGCGTCTACAGGATCATGAC			300
Sbjct 4629	TCCCTCACCAAAGGAGTACAAAAAGGGGGACACGACCACCGGCGTCTACAGGATCATGAC			4688
Query 301	TCGTGGGCTGCTCGGCAGTTATCAAGCAGGAGCGGGCGTGATG6TTGAAGGTGTTTTCCA			360
Sbjct 4689	TCGTGGGCTGCTCGGCAGTTATCAAGCAGGAGCGGGCGTGATG6TTGAAGGTGTTTTCCA			4748
Query 361	CACCCTTTGGCATAACAACAAAAGGAGCCGCTTTGATGAGCGGAGAAGG			408
Sbjct 4749	CACCCTTTGGCATAACAACAAAAGGAGCCGCTTTGATGAGCGGAGAAGG			4796

**Şekil 4.16** NCBI veri tabanında dizinin karşılaştırılması sonucu elde edilen ençok benzerlik gösteren diziler



**Şekil 4.17** Kars Platosu ve Iğdır Ovası'nda bulunduğumuz virusun filogenetik ağaçtaki yeri



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Küresel nüfus artışı, insanlardaki göç hareketleri, plansız ve kontrolsüz kentleşme, modern ulaşım sistemlerinin kullanımının artışı, şehirler ya da ülkeler arası ticaretler, arazi alanlarının kullanımındaki artış ve tahribat, bilinçsiz arazi sulaması, insan ve hayvanlardaki göç ya da seyahat aktivitelerine bağlı olarak patojenlerin artışı, vektör canlıların artışı ve etkili vektör kontrolünün yetersizliği, vektörlerin neden olduğu hastalıkları önleme programlarının eksikliği ve iklim değişikliği ile mücadelelerin yeterli düzeyde olmayışı arboviral hastalıkların artışına neden olmaktadır[48]. Arboviruslar, alphavirus, flavivirus ve bunyavirus olarak 3 familyaya ayrılmakta olup, bu familyalar, Rift Vadisi Ateşi, Deng Humması, Sarı Humma, JEV ve BNV gibi önemli virusları içermektedir[52].

BNV ilk olarak 1937 yılında Uganda'da izole edilmiş, 1943 yılında da virusun sivrisinekler aracılığı ile nakledildiği laboratuvar ortamında ispat edilmiştir[54, 56]. 1999 yılına kadar virus Doğu Yarımküre'de hızla yayılmış, çeşitli ülkelerde salgınlar görülmüş ve virusun birçok canlıda varlığı gösterilmiştir[17, 58, 62-64]. Virus Batı Yarımküre'de ilk defa 1999 yılında Newyork'daki salgınla görülmüş ve dikkat çekmiştir[20]. Doğu Yarımküre'de meydana gelen en büyük salgın, 1974 yılında Güney Afrika'da meydana gelmiş olup, bu epidemide yaklaşık 100.000 vaka tespit edilmiştir[64]. Batı Yarımküre'de de en büyük vaka 2002 yılında Amerika'da meydana gelmiştir. Bu salgında 4156 vaka tespit edilmiş ve bunların 284'ü ölümlerle sonuçlanmıştır[265].

Virusun doğadaki döngüsü çoğunlukla kuşlar ve sivrisinekler arasında olduğundan, kuşların en önemli konakları, sivrisineklerin ise BNV'nin ana vektörleri olduğu bilinmektedir[145]. Yapılan çalışmalar BNV'nin yayılımının yabani kuşların göç zamanı ve göç yolları ile çakışmakta olduğunu göstermektedir[132]. Sınır komşumuz olan İran'da göçmen kuşlar üzerinde yapılan çalışmada, 2003-2007 yılları arasında 509 göçmen kuştan alınan kan örnekleri incelenmiş ve 78 serum örneği pozitif bulunmuştur. Pozitif serumların çoğunluğunun su kuşları olduğu ve özellikle sakarmek ( *Fulica atra* ) türlerinde bulunduğu görülmüştür[266]. Göçmen kuşların BNV'den sorumlu olmasının temel sebepleri, ılıman bölgelerde virus salgınlarının göçmen kuşların gelmesiyle ortaya

çıkması, sulak alanlara yakın yerlerdeki insanlarda hastalığın görülme sıklığının daha çok olması ve bu alanlarda ornitofilik sivrisineklerin ve göçmen ve yerli kuşların çok sayıda bulunmasıdır[267].

Sivrisinekler virusun enzootik döngüsünden sorumlu birincil vektör olduklarından sivrisineklerde virusun varlığına ilişkin birçok çalışma yapılmıştır. Çizelge 2.4'de gösterildiği üzere yapılan çalışmalarla virusun 11 cinse ait 65'den fazla türde varlığı kanıtlanmıştır[155,156]. Afrika ve Orta Doğu'da *Cx. decens*, *Cx. neavei*, *Cx. poicilipes*, *Ae. albocephalus* ve *Mimomyia spp* türleri belirli bölgelerde önemli rol oynamasına rağmen, *Cx. univittatus* BNV'nin ana vektörüdür. Avrupa'da *Cx. pipiens*, *Cx. modestus* ve *Coquillettidia richiardii*, Asyada *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. tritaeniorhynchus* ve *Cx. vishnui*, Amerika'da da *Cx. tarsalis* türlerinin BNV'nin temel vektörü olduğu bilinmektedir[58]. Çoğunlukla kanatlılardan ve nadiren de memelilerden beslenmesinden dolayı özellikle *Culex* cinsi sivrisineklerin tüm dünyada BNV'yi bulaştırmada birincil vektör olduğu kabul edilmektedir[147].

Bu tez kapsamında, 2013-2014 yıllarında BNV nükleik asitlerini taşıma potansiyeli olan vektör sineklerin, göçmen kuşların, yerli kanatlıların ve potansiyel ikinci konakların varlığının bilindiği, iklimsel ve coğrafi olarak birbirinden farklılık gösteren Kars Platosu ve Aras Havzası sivrisineklerinde Haziran-Ağustos aylarında BNV taraması yapıldı. Kars Platosu'nda BNV varlığı ilk defa 2014 yılında ördeklerde bildirilmiştir[22]. Ancak virusun vektörlerine yönelik bir çalışma yapılmamıştır. Aras Havzası'nda ise BNV aktivitesine yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız hem Kars Platosu hem de Aras Havzası'ndaki sivrisineklerde BNV varlığına yönelik ilk çalışma olmakla birlikte Aras Havzası'nda BNV'ye yönelik yapılan ilk araştırma özelliğini taşımaktadır. Her iki bölge de kuş göç rotası üzerinde olup, göçmen kuşların dinlendikleri ve üredikleri alanları (Kars Platosu'nda Kuyucuk gölü, Aras Havzası'nda Aras Nehri) bulundurmaktadır.

Asya ve Avrupa'da BNV salgınları olmuş ve insan serumlarında BNV antikoru saptanmıştır. 1977'de Beyaz Rusya'da[58], 1985 yılında Ukrayna'da[58], 1996 yılında Romanya'da[58], 1998 yılında Gürcistan'da[268], 1992-2001 yıllarında Hindistan'da[269], 1999 yılında Rusya'da[270], 2009 yılında İran'da BNV

antikorlarının varlığı tespit edilmiştir[271]. Yunanistan'da BNV antikorları bulunmuş ve Köken 1'den farklı olarak Köken 2 virus izole edilmiştir[72].

İnsanlar haricinde vektör ve rezarvuvar çalışmalarına bakıldığında Asya, Avrupa, Afrika ve Amerika kıtalarında birçok çalışma yapılmıştır. Romanya'da 1997 yılında insan, tavuk ve kuşlarda serolojik olarak BNV çalışılmış ve çalışma sonucunda temmuz-eylül aylarında insan serumlarında, haziran-ağustos aylarında da tavuk ve kuşlarda BNV antikorları tespit edilmiştir. 1998 yılında da insan serumlarında BNV antikorları tespit edilmiştir. Çalışmada farklı aylarda farklı canlılarda BNV antikorlarının saptanması, göçmen kuşların olmadığı zamanlarda virüsün tavuk, insan ve yerli kuşlarda döngüsünün sürdüğünü göstermektedir[272]. İspanya'da *Cx. theileri*, *Cx. pipiens*, *Oc. caspius* ve *Cs. annulata*'nın da içinde olduğu 13 türde RT nested PCR ile BNV ve Usutu virüsü varlığı araştırılmıştır. Ağustos, eylül ve ekim aylarında yalnızca *Cx. perexiguus* türüne ait havuzlarda her iki virüs de bulunmuş ve BNV'nin Köken 1'e ait olduğu görülmüştür[273]. Amerika'da hem kuş hem de sivrisineklerde BNV taraması yapılmış ve iki yılda da göçmen kuşlarda BNV bulunmuş ve *Cx. pipiens* temel vektör olarak belirlenmiştir[274]. Newyork'ta kuş, sivrisinek, at ve insanlarda real-time RT-PCR yöntemi ile BNV araştırılmış, nöroloji hastası 10 insan, 2 at, 60 kuş ve 6 sivrisinek türünde (*Ae. vexans*, *Cx. pipiens*, *Cx. salinarius*, *Ae. triseriatus*, *Ps. ferox* ve *An. punctipennis*) virus tespit edilmiştir. Pozitif çıkan örnekler RT-PCR ile doğrulanmıştır. Sonuçlarla *Cx. pipiens* ve *Cx. restuans*'ın kuşlar arasında birincil enzootic ve epidemic vektör olduğu, *Cx. salinarius* türünün insanlarda, *Aedes* türlerinin ise atlarda köprü vektör olduğu düşünülmüştür[275]. ELISA yöntemi ile sivrinek, karga ve atmaca'da yapılan bir çalışmada *Cx. pipiens* ve *Ae. vexans* türlerinde BNV bulunmuştur. Sivrisineklerle birlikte 28 karga ve 1 atmada virus tespit edilmiştir[276].

Yukarıda belirtilen çalışmalar doğrultusunda, Kars Platosu ve Aras Havzası'nda örnekleme yapılırken göçmen kuşların ve yerli kanatlıların mevcut olduğu örnekleme merkezleri seçilmeye özen gösterildi. 5 bölge olarak toplam 13 merkez seçildi. Ergin bireyler 2013 yılında Aras Havzası'nda 2 merkezden (Ağabey ve Yukarı Çıyıklı Köyleri), Kars Platosu'nda 5 merkezden (Kümbetli, Çamçavuş, Kuyucuk ve Büyük Çatma köyleri ve Selim Merkez) toplandı. 2014 yılında ise; Aras Havzası'nda 5 (Ağabey, Yukarı Çıyıklı, Yeniköy ve Çalpala Köyleri ve Tuzluca Merkez), Kars

Platosu'nda 5 (Kars Merkez, Kuyucuk, Karahamza, Kümbetli ve Alisofu Köyleri) merkezden toplandı.

Çalışma sonucunda bölgelerden 2013 ve 2014 yıllarında toplam 15.287 sivrisinek (Kars Platosu 3355, Aras Havzası 11.932) toplandı. Toplam 376 havuz oluşturuldu ve oluşturulan havuzların 128 tanesinde BNV nükleik asit varlığı tespit edildi.

2013 yılında Haziran–Ağustos aylarında Kars Platosu'nda toplam 1360, Aras Havzası'da 6669 dişi sivrisinek toplandı. Kars Platosu'nda 4 cinse ait, 6 farklı tür (*Oc. caspius*, *Cx. theileri*, *Cx.pipiens ssp.*, *An. maculipennis* kompleks, *Cs. longierolata*, *Cs. annulata*) Aras Havzası'nda da 4 cinse ait 9 farklı tür (*Oc. caspius*, *Ae. vexans*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.*, *Cx. territans*, *An. maculipennis* kompleks, *An. hyrcanus*, *An. sacharovi*, *Cs. annulata*) tespit edildi. 2014 yılında Haziran–Ağustos aylarında Kars Platosu'nda toplam 1996, Aras Havzası'nda 5264 dişi sivrisinek toplandı. Kars Platosu'nda 4 cinse ait, 6 farklı tür (*Oc. caspius*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.*, *An. maculipennis* kompleks, *Cs. longierolata*, *Cs. annulata*) Aras Havzası'nda da 4 cinse ait 6 farklı tür (*Oc. caspius*, *Ae. vexans*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.*, *An. maculipennis* kompleks, *An. hyrcanus*) tespit edildi. Bulduğumuz sivrisinek türlerinin hepsi daha önce Erdem F. ve Bedir H. tarafından bu bölgelerde bulunmuştur[277, 278]. Erdem F. Kars Platosu'nda yaptığı çalışmada 18 sivrisinek türünün (*An. maculipennis*, *Cx. hortensis*, *Cx. pipiens ssp.*, *Cx. laticinctus*, *Cx.theileri*, *Cx. tritaenihorynchus*, *Oc. caspius*, *Oc. hexodontus*, *Oc. pullatus*, *Oc. cataphylla*, *Oc. subdiversus*, *Oc. flavescens*, *Cs. alaskaensis*, *Cs. annulata* ve *Cs. longiareolata*) varlığını bildirmiştir[277]. Bedir H Aras Vadisi'nde yaptığı çalışmada *Ae. vexans*, *An. hyrcanus*, *An. maculipennis*, *Cx. pipiens ssp.*, *Cx. theileri*, *Cx. territans*, *Oc. dorsalis*, *Oc. caspius* ve *Coquillettidai richiardii* türlerinin varlığını bildirmiştir[278]. Bu çalışmadan ayrı Aras Havzası'nda bulduğumuz *Cs. annulata* türü ise Alkan, S.S. tarafından bulunmuştur[279]. Bizim sivrisinek yoğunluğumuzla doğru orantılı olarak Erdem F. de Kars Platosu'nda en baskın türün *Cx. theileri* olduğunu, Bedir H.'de Aras Havzası'nda *Oc. dorsalis/caspius* olduğunu belirtmiştir[277, 278].

2013 yılında toplanan örneklerden 197 (Kars Platosu 36, Aras Havzası 159), 2014 yılında ise 181 havuz oluşturuldu (Kars Platosu 53, Aras Havzası 128). Oluşturulan

havuzlar RT-PZR yöntemi ile çalışıldı. RT-PZR yönteminin sivrisineklerde BNV'nin tespitinde duyarlılık ve özgüllüğü Hadfield ve arkadaşları tarafından araştırılmış ve RT-PZR'in enfekte tüm sivrisinek havuzlarında yüksek bir güvenirlikle çalıştığını ortaya koymuştur. Bu yöntemin analitik duyarlılık ve özgüllüğünün %100 olduğu belirlenmiştir[280].

2013 yılında oluşturulan 195 havuzdan toplam 68 havuzda BNV nükleik asitleri (Kars Platosu 5, Aras Havzası 63) tespit edildi. Aras Havzası'nda 4 türde (*Oc. caspius*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.*, *An. maculipennis* kompleks), Kars Platosu'nda 2 türde (*Oc. caspius*, *Cx. theileri*) BNV nükleik asit varlığı tespit edildi. Her iki ilde de en fazla BNV nükleik asit varlığı *Oc. caspius* türünde bulundu. (Aras Havzası 34, Kars Platosu 4). 2014 yılında oluşturulan 181 havuzdan toplam 60 havuzda BNV nükleik asitleri (Kars Platosu 17, Aras Havzası 43) tespit edildi. Aras Havzası'nda 5 türde (*Oc. caspius*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.*, *An. maculipennis* kompleks, *An. hyrcanus*), Kars Platosu'nda 4 türde (*Oc. caspius*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.*, *An. maculipennis* kompleks) BNV nükleik asit varlığı tespit edildi. BNV nükleik asitleri Aras Havzası'nda en çok *Oc. caspius* (18), Kars Platosu'nda ise *Oc. caspius* ve *Cx. theileri* (6) havuzlarında eşitlik olduğu tespit edildi. Çalışmada BNV nükleik asitleri bulunan türler *Oc. caspius*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.*, *An. maculipennis* kompleks, ve *An. hyrcanus*'tur.

Sıcaklık, hem sivrisinek popülasyonu hem de virusun çoğalması ve yayılmasını etkilediğinden BNV için önemli bir etkidir. Çalışma alanlarımız olan Kars Platosu ve Aras Havzası'ndaki sıcaklık ortalamaları birbirlerinden farklıdır. Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2'de gösterildiği gibi Aras Havzası'nın sıcaklık ortalaması Kars Platosu'na göre daha fazladır. Daha sıcak bölgelerde ya da daha sıcak aylarda sivrisinek sayısı artmaktadır. Sıcaklık ile sivrisinek bolluğu arasındaki ilişkiyi Roiz D. ve arkadaşları incelemiş ve sıcaklığın artmasıyla *Cx. pipiens* popülasyonlarında artış olduğunu tespit etmiştir[281]. Bu çalışmada da aynı şekilde sıcaklık ile sivrisinek popülasyonları arasında doğru orantı olduğu gözlemlendi. Her iki senede de haziran-ağustos ayları sıcaklık ortalaması yaklaşık 28 °C olan Aras Havzası'nda, haziran-ağustos ayları sıcaklık ortalaması yaklaşık 16 °C olan Kars Platosu'ndan çok daha fazla sayıda sivrisinek toplandı.

Bu çalışmada yapılan enfeksiyon oranları hesaplamaları sonucunda toplam MLE enfeksiyon oranının 10,22 (CI 8,59 – 12,09) olduğu ve Aras Havzası'ndaki MLE oranının Kars Plato'ndan daha yüksek olduğu görüldü. Aynı şekilde bölgeler arasındaki enfeksiyon oranları karşılaştırıldığında Aras Havzası'na ait olan 4. ve 5. bölgelerin enfeksiyon oranlarının daha yüksek olduğu görüldü. Sivrisinek populasyonlarında virus yoğunluğunu etkileyen birçok faktör olsa da en önemli etkenin sıcaklık olduğu ve sivrisineklerin vektörlüklerinin değerlendirilmesinde özellikle sıcaklığın dikkate alınması gerektiği düşünülmektedir[164]. Aras Havzası'nda enfeksiyon oranının fazla çıkması, iki bölge arasındaki sıcaklık farkı ile ilişkilendirilebilir. Yapılan bir çalışmada *Cx. pipiens* türlerine enfekte bir konaktan kan emdirilmiş ve sıcaklığın virus oluşumu üzerine etkisi incelenmiştir. Araştırma sonucunda 18 °C'de tutulan sivrisineklerin %30'undan daha azında, 20-26 °C'de tutulan sivrisineklerde orta seviyede, 30 °C'de tutulan sivrisineklerin ise hemen hemen hepsinde virus tespit etmişlerdir. Ayrıca sıcaklığın artması ile virüsü daha erken bir zamanda (30 °C'de kan emdikten sonra) tespit edilebileceğini de görmüşlerdir[164]. Bizim çalışmamızda da görülmektedir ki, yaz ayları sıcaklık ortalaması 28 °C olan Aras Havzası'nda yaz ayları sıcaklık ortalaması 16 °C olan Kars Platosu'nda enfeksiyon oranının daha fazla olduğu tespit edildi.

Çalışılan örnek sayısının artması virüsü bulma ihtimalini ve oranını artırmaktadır. Sıcaklık artışının sivrisinek populasyonunu artırdığı gibi, sivrisineklerin taşıdığı virus miktarını da artırdığı bilinmektedir. Texas'da BNV çalışmasında 25 °C'de sivrisinek populasyonlarında artış olduğunu, 29 °C'ye gelen sıcaklıklarda da virus oranının fazlaştığı tespit edilmiştir[282]. Kenneth E. Kunkel ve arkadaşları *Cx. pipiens* sayısının sıcaklık artışı ile doğru orantılı olarak arttığını gözlemlemişlerdir[283]. Bu çalışmalara bağlı olarak bizde iki bölge arasındaki enfeksiyon farkı sıcaklık ile açıklanabilmektedir.

Bölgeleri ayrı ayrı incelediğimiz zaman da, Kars Platosu'nda en yüksek MLE enfeksiyon oranının *Cx. pipiens* türünde olduğu ve 2014 yılında genel enfeksiyon oranında artış olduğu gözlemlendi. Aras Havzası'nda ise tam tersi olarak 2014 yılında enfeksiyon oranında azalma olduğu görüldü. Bu durumda yağış, nem ve diğer birçok çevresel şartların rolü olsa da 2013 ve 2014 yılı sıcaklıklarına baktığımız zaman, Kars

Platosu'nda 2014 yılında sıcaklığın arttığını, Aras Havzası'nda ise sıcaklığın azaldığı görüldü. Yapılan bir çalışmada sıcaklık farklılıklarının özellikle *Cx. pipiens* olmak üzere *Culex* türlerinde etkili olduğunu, sıcaklığın yüksek olduğu zamanlarda (31.2 °C) virusun insanlarda ve *Cx. pipiens* türlerinde arttığı gösterilmiştir[284].

Kars platosu ve Aras Havzası'na ait 5 bölgede 13 örneklem merkezinde çalışıldı. Bu merkezlerdeki enfeksiyon oranı hesaplandığı zaman, en yüksek oranın Selim Merkez'de olduğu daha sonrada Çalpala, Ağabey ve Kümbetli köylerinde olduğu belirlendi. Bu merkezlerden Selim Merkez, Kars ilinin ilçesidir. Hem Selim Merkez'de, hem de Kars İlinde hayvancılık yapılmakta olup tuzaklar ahırlara konuldu. BNV'nin yaygınlığının kentsel alanda mı yoksa kırsal alanda mı daha yaygın olduğna yönelik birçok çalışma mevcut olup, çoğu kanı. BNV salgınlarının özellikle göçmen kuşların geçtiği, sulak ve kentsel alanlarda yaygın olduğu düşünülmektedir[145, 285]. Bizim örneklem merkezlerimizin hepsinde yoğun hayvancılık yapıldığı ve sulak alanlar olduğundan dolayı merkezler arasında anlamlı bir bağlantı kurulamadı.

Besin tercihi olarak daha çok kanatlılardan ve nadiren de memelilerden beslenen *Culex* cinsine ait sivrisineklerin BNV'nin birincil vektörü olduğu düşünülmektedir[147]. Asya, Avrupa ve Orta Doğu'da yapılan çalışmalarla virusun *Cx.pipiens s.s.*, *Cx.theileri*, *Cx.modestus s.s.*, *Cx.univittatus*, *Oc. caspius* ve *An. maculipennis s.l.* türlerinde de bulunduğu ve bu türlerin virusun bulaşmasında etkili oldukları görülmüştür[136]. Yaptığımız türler arasındaki enfeksiyon oranı hesaplamaları sonucunda, en yüksek enfeksiyonun *Cx. pipiens ssp.* türünde olduğu daha sonra sırası ile *An. maculipennis* kompleks, *Oc. caspius* ve *Cx. theileri* türlerinin izlediği görüldü.

Afrika'da kışlayan göçmen kuşlar nisan ve mayıs aylarında kuzey yönüne doğru göç ederken Türkiye'den geçerek Avrupa'ya girmektedir. Avrupa'dan da tekrar ülkemizden geçerek Afrika'ya göç etmektedirler[146]. Göçmen kuşların geçtiği ve konakladığı ülkelere BNV'yi yaydığı bilinmektedir. BNV göçmen kuşların geçtiği tarihlerde ülkelere girer. Kuşlar üzerinden beslenen sivrisinekler, bölgelerdeki diğer canlılara virüsü nakletmektedir. Böylece göçmen kuşların olmadığı temmuz ayından ekim ayına kadar virus, yerel kuş populasyonları ve böylece de insan ve atlara geçer[146].

Bu çalışmada BNV nükleik asitlerinin göçmen kuşların bölgelere girdiği tarihlerle doğru orantılı olarak haziran ve ağustos aylarında mevcut olduğu, virusun türlerde varlığının yıllara ve aylara göre farklılık gösterdiği gözlemlendi. Kars Platosu'nda 2013 yılında BNV, Haziran ayında sadece *Oc. caspius* türünde, Ağustos ayında ise *Oc. caspius* ve *Cx. theileri*'de bulundu. 2014 yılında Haziran ayında *Oc. caspius* ve *Cx. theileri*'de, Temmuz ayında *Oc. caspius*, *Cx. theileri* ve *An. maculipennis* kompleks türlerinde, Ağustos ayında ise *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.* ve *An. maculipennis* kompleks türlerinde BNV nükleik asidi bulundu. Aras Havzası'nda 2013 yılında Haziran ayında *Oc. caspius*, *Cx. theileri*, *An. hyrcanus* ve *An. maculipennis* kompleks türlerinde, Temmuz ayında *Oc. caspius*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.* ve *An. maculipennis* kompleks türlerinde, Ağustos ayında ise *Oc. caspius*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.*, *An. hyrcanus* ve *An. maculipennis* kompleks türlerinde BNV nükleik asit varlığı tespit edildi. 2013 ve 2014 yıllarında her iki bölgede de temmuz ayında BNV nükleik asit varlığı tespit edildi. Bu da virusun göçmen kuşların olmadığı zamanlarda bölgelerde yoğun bulunan karga, serçe, kırlangıç, kaz, ördek gibi kanatlılar ve memelilerde mevcut olduğunu, virus döngüsünün bu canlılar arasında olduğuna işaret etmektedir. 1998 yılında İsrail'de özellikle kazların oldukça etkilendiği bir BNV salgını olmuştur. Yapılan çalışmalarla virus kazlar ve leyleklerden izole edilmiştir. Ayrıca kazlardan izole edilen virusun Newyork virusu ile aynı olduğu belirlenmiş. Bu da göçmen kuşlardan yerel kazlara BNV geçişini göstermektedir[141]. Yapılan bazı çalışmalarla da BNV kaz, tavuk, hindi, serçe ve birçok yabani kuştan izole edilmiştir[264, 286-288].

Hem Kars Platosu'nda hem de Aras Havzası'nda BNV nükleik asitlerinin bulunduğu havuzlar özellikle bölgede yoğun bulunan türlerde fazla olduğu görülmektedir. *Oc. caspius*, *Cx. theileri* ve *An. maculipennis* kompleks türleri her iki bölgede de yoğun bulunan türlerdir ve oluşturulan havuzların çoğunluğunu oluşturmaktadırlar. Bu durum daha önce ABD'de yapılan bir çalışma ile gösterilmiştir. Çalışmada 5 yıllık analizle (1999-2005) yoğun virus havuzları *Cx. pipiens* (86), *Cx. salinarius* (32), *Cx. restuans* (26), *Cs. melanura* (32) ve *Ae. vexans* (12) türlerinde bulmuşlar. Türlerin yoğunluğu ile doğru orantılı olarak virusun ağustos-eylül ayları arasında artış yaptığı gözlemlenmiştir[289]. İklimsel olarak Kars Platosu ile aynı özelliği gösteren Rusya'da



yapılan çalışmalarda, virusun ağustos ayında *Cx. pipiens* ve *Cx. modestus* türlerinde bulunduğu bilinmektedir[290].

Bizim çalışmamıza benzer şekilde Colorado'da yapılan çalışmada ovalık alanda dağlık alana göre daha çok sivrisinek türleri bulunmuş, *Cx. pipiens*, *Cx. tarsalis* ve *Ae. vexans* gibi BNV potansiyeli olan türlerin dağlık alanlara gelindikçe azaldığı tespit edilmiştir. Hem *Cx. tarsalis* hem de *Cx. pipiens*'in enfeksiyon oranının ovalarda daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir[291].

*Oc. caspius*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens ssp.*, *An. maculipennis* kompleks ve *An. hyrcanus* türlerinde virusun varlığı daha önce çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarla bildirilmiştir. Yapılan literatür taramalarında *Oc. caspius*'un, Ukrayna[58], Portekiz[292], Mısır[135], İtalya[293], Türkiye[22]'de BNV vektörü olduğu belirlendi.

*Cx. theileri*'nin, özellikle Kuzey Afrika'da birçok bölgede virusu taşıdığı gösterilmiştir[58]. Ayrıca Portekiz[292]'de de BNV vektörü olduğu bilinmektedir.

*Cx. pipiens*'in, BNV'nin çalışıldığı hemen hemen her ülkede vektör olduğu bilinmektedir. Kuzey Afrika, Mısır, İsrail, Romanya, Çek Cumhuriyeti, Bulgaristan[58], Yunanistan[294], Macaristan[295], İspanya[296], İtalya[280], Meksika[297], Portekiz[292], ABD[298], Rusya[290], Özbekistan[299] ve Türkiye[22] gibi birçok farklı ülkede ve bu ülkelerdeki farklı coğrafyalarda bulunmuştur.

*An. maculipennis*'in BNV vektörü olduğu, Portekiz[300], Ukrayna[58], Madagaskar[301]'da bildirilmiştir.

*An. hyrcanus*'un BNV vektörlüğü, Rusya'dan bildirilmiştir[89].

Doğal döngüsü kuşlar ile sivrisinekler arasında olan virusun *Culex* dışındaki sivrisineklerde ve birçok canlıda görülmesi, sivrisineklerin besin tercihi ile ilişkilendirildi. *Aedes* ve bazı *Culex* türleri, memelilerden kan emdiğinden dolayı beslenme alışkanlıkları bakımından köprü görevi gördüğü ve virusun insanlara ve kuşlar dışındaki diğer omurgalılara iletiminden önemli derecede sorumlu oldukları düşünülmektedir[302, 303]. Kuzey Yarımküre'de *Cx. pipiens* memeli ya da hem memeli hem de kuşlardan beslenirken, daha kuzeyde sadece kuşlardan

beslenmektedir[304]. *Anopheles* cinsi sinekler genellikle anthropophilic olmasına rağmen köpek ya da sığırlardan beslenebilirler[305,306]. BNV taşıma potansiyelinde olan sivrisinek türlerinde yapılan çalışmada bizim de toplamış olduğumuz türlerden *Oc. caspius* ve *Cx. theileri*'nin en çok sırasıyla kuş, at ve insanlardan beslendiği, *Cx. pipiens*'in ise sırasıyla kuş, memeli ve sürüngenden beslendiği tespit edilmiştir[307]. Romanya'da sivrisinekler (%93'ü *Cx. pipiens*), çeşitli kümes hayvanları ve kuşlarda serolojik olarak BNV bakılmış ve *Cx. pipiens* türüne ait sivrisinek havuzlarında, ördek, kaz, tavuk ve hindi'ye ait kümes hayvanlarında ve passeriformes takımına ait kuş serumlarında pozitiflik saptanmıştır[308]. Rusya'da 6 cinse ait 13 sivrisinek türü üzerinde yaptıkları çalışmada en yoğun bulunan türlerin *Ae. vexans* ve *Cx. pipiens* olduğu, virusun ise sadece *Cx. pipiens* ve *Cx. modestus* türlerinde bulunduğunu ve bu iki türünde kanatlılardan kan emdiği tespit edilmiştir[290].

Bu çalışma ile birlikte yukarıdaki literatürler de değerlendirilerek, kuşlardan beslendiği bilinen *Cx. pipiens* türünün bizim çalışmamızda enfeksiyon oranının yüksek çıkmasından dolayı, Kars Platosu ve Aras Havzası'na gelen BNV ile enfekte göçmen kuşlardan virüsü alabileceği ve bu bölgelerdeki yerli kanatlılarla birlikte diğer konaklara aktardığını, *Cx. theileri*, *Oc. caspius*, *An. maculipennis* ve *An. hyrcanus* türlerinin de virusun bölgede diğer konaklara bulaşmasında rol oynayabileceğini düşünebiliriz. Yaptığımız çalışmada BNV nükleik asitlerini bulduğumuz *Cx. pipiens ssp.*, *Cx. theileri*, *Oc. caspius* ve *An. maculipennis* kompleks türleri Asya, Avrupa ve Orta Doğu'da BNV için vektör özelliği gösterdiği ve virusun bölgeye bulaşmasında önemli rol oynadıkları düşünülmektedir[309].

Türkiye, coğrafik konumu, iklimsel özellikleri, vektör potansiyeline sahip sivrisinek türlerini bulundurması ve kuş göç yolu üzerinde bulunmasından dolayı BNV için önemli bir konumda olmasına rağmen virusun vektörlerine yönelik yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. 2006 yılında İstanbul'da Virus Antijen Testi ile sivrisineklerde BNV varlığı incelenmiştir. BNV'nin vektörü olduğu bilinen *Cx. pipiens* de dahil olmak üzere 3 tür üzerinde çalışma yapılmış ancak pozitiflik saptanmamıştır[243]. Özer ve arkadaşları 2007 yılında Şanlıurfa'da *Cx. pipiens*, *Oc. caspius* ve *Aedes. Spp.* türlerinde real time PZR, VecTest ve Vero hücre kültürü ile çalışmışlardır. Her 3 yöntemde de pozitif örnek bulunamamıştır[4]. Ergünay ve

arkadaşlarının 2012 yılında Edirne’de yaptıkları çalışmada oluşturdukları 4 türe ait [*Oc.caspius* (90.9%), *Cx. pipiens* (*s.l.*) (4.7%), *An. pseudopictus* (3%) ve *An.maculipennis s.l.* (1.3 %)] 232 sivrisinek havuzunu Nested ve real-time RT-PZR yöntemi ile çalışarak *Oc. caspius* ve *Cx. pipiens* türlerine ait 37 havuzda BNV nükleik aistleri bulmuşlardır[239]. 2011-2013 yılları arasında Adana, Ankara, Artvin, Bursa, Edirne, Mersin, Muğla, Kars, Kırklareli, Kuzey Kıbrıs, Sakarya, Samsun, Sinop, Şanlıurfa, Tekirdağ ve Van ilinde yapılan çalışmada ördek, at, insan ve sivrisinekler PRNT ve RT-PZR yöntemleri ile çalışılmıştır. Adana, Ankara, Artvin, Bursa, Edirne, Mersin, Kırklareli, Sakarya, Samsun, Sinop, Tekirdağ ve Kıbrıs’tan oluşturulan 203 sivrisinek havuzu RT-PZR yöntemi ile çalışılmış, Edirne ilinden 1 adet *Oc. caspius* ve Mersin ilinden 3 adet *Cx. pipiens* havuzu pozitif bulunmuştur. Kars ilinden incelenen 423 ördek örneklerinin 42’si pozitif bulunmuştur[22].

Yapılan bu çalışma ile birlikte Ergunay ve arkadaşlarının çalışmaları göstermektedir ki[22, 239] Türkiye’de ortak vektör türler *Oc. caspius* ve *Cx. pipiens ssp.* olup, Aras Havzası ve Kars Platosu’nda *Cx. theileri*, *An. maculipennis* kompleks ve *An. hyrcanus* türleri de virusun vektörlüğünü yapmaktadır.

Türkiye’de virusun filogenetik analizine yönelik ilk bildiri 2013 yılında Özkul ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Ankara ve Eskişehir’de yapılan çalışmada insan ve atlarda buldukları virusun ikisinin de Köken 1, clade 1a soyuna ait olduğunu tespit etmişlerdir[239]. Daha sonra Ergunay ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada farklı illerden buldukları virusun Köken 1, clade 1a soyuna ait olduğunu bildirmişlerdir[239]. Bu çalışmada da Kars Platosu ve Aras Havzası’nda pozitif bulduğumuz 8 pozitif havuzdan saflaştırılan virusa ait dizi analizinin biyoinformatik analizler sonucu Köken 1’e ait olduğu tespit edildi. Bu da ülkemizde var olan virusun Köken 1’e ait olduğunu göstermektedir. Tespit ettiğimiz virusun diğer ülkelerdeki viruslarla karşılaştırmalı analizleri yapıldığında, filogenetik ağaçta da gösterdiğimiz gibi başta Türkiye (Eskişehir ili) ve Orta Afrika Cumhuriyeti olmak üzere, Nijerya, Senegal, Romanya, Macaristan, Tunus, Arjantin, İsrail, Rusya, İtalya, Fransa, İspanya, Fas, Portekiz, Mısır, NewYork ve Avusturya’da bulunan virus ile benzerlik gösterdiği belirlendi. Bu çalışmada izole edilen virusun Orta Afrika Cumhuriyeti’nden izole edilen virüs ile daha çok benzerlik göstermesi, Afrika kıyılayan göçmen kuşların Avrupa’ya göçleri sırasında (güneyden

kuzeye doğru göç) Türkiye üzerinden geçerken virüsü bu bölgelere yaydıklarını göstermektedir.

Ancak göçmen kuşlar aracılığı ile başka bölgelerde bulunan diğer kökene ait virüs suşlarının yayılabilme olasılığı her zaman mümkündür ve bu BNV çalışmalarının sıklıkla tekrarlanması ile durumun gözlemlenmesini gerektirmektedir.

Sonuç olarak çalışmamız; Kars Platosu ve Aras Havzası'nda BNV nükleik asitlerinin mevcut olduğunu göstermektedir. Her iki bölge de geçim kaynağının hayvancılık olması, özellikle kaz ve ördek başta olmak üzere evcil kanatlı yetiştiriciliğinin yaygın olması, BNV'nin ana konaklarının yetiştiriciliğinin yapılması, vektör sivrisinekleri bulundurması ve kuş göç yolları üzerinde olmasından dolayı BNV salgını bakımından önemli konumdadır. Çalışmamızla iki bölgede de vektör sineklerde virüsün saptanması, bölge halkını ve diğer canlıları Batı Nil ateşi hastalığı bakımından tehdit etmektedir. Oluşacak epidemik salgınların önlenmesi bakımından, bu bölgelerde hem bizim yaptığımız, hem de diğer çalışmalar göz önüne alınarak virüsün diğer konaklar ve insanlarda taramasının yapılması ve vektör canlılarla mücadele edilmesi gerekmektedir. Çalışmamızın, olması muhtemel epidemik salgınlara ve bunların vektörlerine ışık tutması ümit edilmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

1. Schowalter, T.D., (Ed) “Insect ecology. An ecosystem approach”, (2nd edition), ISBN 0:12-088772-x, Academic Press, London, UK, pp. 1-12 (2006).
2. İnci, A. ve Düzlü, Ö., “Vektörler ve Vektörlerle Bulaşan Hastalıklar”, J Fac Vet Med Univ Erciyes, 6(1) 53-63 (2009).
3. Gao, X., Nasci, R., Liang, G., “The neglected arboviral infections in mainland China”, PLoS, Negl Trop Dis, 4: e624 (2010).
4. Özer, N., Ergünay, K., Şimşek, F., Kayna, S., Alten, B., Caglar, S.S., Ustaçelebi, S., “West Nile virus studies in the sanliurfa province of Turkey”, J Vector Ecol, 32, 202–206, (2007).
5. Weaver, S.C., Reisen, W.K., “Present and future arboviral threats”, Antiviral Res 82: 328 (2010).
6. WHO., Potential health effects of climatic change. World Health Organization, Available from: <http://www.ciesin.columbia.edu/docs/001-007/001-007.html> (1990).
7. Gubler, D.J., Reiter, P., Ebi, K.L., Yap, W., Nasci, R., Patz, J.A., “Climate variability and change in the United States: potential impacts on vector- and rodent-borne diseases”, Environ Health Persp, 109 Suppl 2: 223-233 (2001).
8. Reiter, P., “Climate change and mosquito-borne disease”, Environ Health Persp, 109 Suppl 1: 141-161 (2001).
9. Stenseth, N.C., Mysterud, A., Ottersen, G., Hurrell, J.W., Chan, K.S., Lima, M., “Ecological effects of climate fluctuations”, Science, 297: 1292-1296 (2002).
10. Patz, J.A., Epstein, P.R., Burke, T.A., Balbus, J.M., “Global climate change and emerging infectious diseases”, JAMA, 275: 217-223 (1996).
11. Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Lane, J., Kaiser, A., “Mosquitoes and Their Control”, Plenum Publishers, ISBN: 0-306-47360-7, New York, 497p (2003).

12. Eldridge, B.F., “Mosquitoes, the Culicidae. In: Marquardt WC (ed) *Biology of disease vectors*”, Elsevier Academic Press, Second Edition, Elsevier, Amsterdam, 785p (2005).
13. Harbach, R.E., “Mosquito taxonomic inventory”, Available from: [mosquito-taxonomic-inventory.info/genus-wyeomyia-theobald-1901](http://mosquito-taxonomic-inventory.info/genus-wyeomyia-theobald-1901) (2012).
14. Ramsdale, C.D., Alten, B., Çağlar, S.S., Özer, N., “A revised annotated checklist of mosquitoes (Diptera, Culicidae) of Turkey”, *Journal of the European Bulletin*, 9: 18-28 (2001).
15. Roby J.A., Pijlman G.P., Wilusz J., Khromykh A.A., “Noncoding Subgenomic Flavivirus RNA: Multiple Functions in West Nile Virus Pathogenesis and Modulation of Host Responses”, *Virusas* (2014)., 6:404-427. [www.mdpi.com/journal/virusas](http://www.mdpi.com/journal/virusas) (2014).
16. Kuno, G., Chang, G.-J.J., Tsuchiya, K.R., Karabatsos, N., Cropp, S.B., “Phylogeny of genus Flavivirus”, *J Virol*, 72: 73–83 (1998).
17. Campbell, G.L., Marfin, A.A., Lanciotti, R.S., Gubler, D.J., “West Nile virus”, *Lancet Infect Dis*, 2(9):519-29 (2002).
18. Cunha, B.A., “West Nile Encephalitis”, *Infect Dis Pract*, 23:85–90 (1999).
19. Malkinson, M., Weisman, Y., Pokamonski, S., King, R., Deubel, V., “Intercontinental transmission of West Nile virus by migrating white storks”, *Emerg Infect Dis*, 7 (3Suppl.): 540 (2001).
20. Hayes E.B., Komar N., Nasci R.S., Montgomery, S.P., O’Leary, D.R., Campbell, G.L., “Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease”, *Emerg Infect Dis*, 11:1167–73 (2005).
21. Ergunay, K., Whitehouse, C.A., Ozkul, A., “Current status of human arboviral diseases in Turkey”, *Vector Borne Zoonotic Dis*, 11(6):731-41 (2011).
22. Ergunay, K., Gunay, F., Erisoz Kasap, O., Oter, K., Gargari, S., Karaoglu, T., Tezcan, S., Cabalar, M., Yildirim, Y., Emekdas, G., Alten, B., Ozkul, A., “Serological, Molecular and Entomological Surveillance Demonstrates

- Widespread Circulation of West Nile Virus in Turkey”, PLoS Negl Trop Dis, 8(7): e3028 (2014).
23. Alten, B., “Türkiye Sivrisineklerinin Morfolojik Özellikleri, Sağlık Önemleri, Biyolojileri, Biyo-Ekolojileri ve Dağılımları”, H.Ü. Mühendislik Fakültesi, "Kentlerde Ev Zararlıları ile Mücadele" Semineri. Seminer Özel kitabı, 6-43, 25-26, Beytepe-Ankara (Nisan 1991).
  24. Snow, K., “Mosquitoes Naturalist’s Handbooks” 14, England, 66 pp (1990).
  25. Boyd, M.F., “Malariology”, W.B. Saunders Company, London, England, 787p (1981).
  26. Merdivenci, A., “Türkiye Sivrisinekleri (Yurdumuzda varlığı bilinen sivrisineklerin biyo-morfolojisi, biyo-ekolojisi, yayılışı ve sağlık önemleri)” İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fak Yayınları, Rektörlük No: 3215, Taş Matbaası, İstanbul, 340s (1984).
  27. Bagirov, G.A., Alirzaev, G.U., Zinov'eva, A.F., Abdullaeva, R.A., Kasumova, Z.B, “The Influence of changes of ecological conditions on the fauna of blood-sucking mosquitoes of Baku and the Apsheron Peninsula, Meditsinskaya”, Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni, 1:16-18 (1986).
  28. Tovornik, D., “On the ecology of larval mosquitoes (Diptera:Culicidae) In a small stagnant pool in the Ljubljansko barje”, Bioloski Vestnik, 38(4): 47-67 (1990).
  29. Alptekin, D., Kasap, H., “Çukurova'da Sık Bulunan Culicidae (Diptera) Türlerinin Ergin Öncesi Evrelerinin Bulunduğu Habitatlar ve Bu Habitatların Önemli Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri”, Tr J of Zoology, 21:1-6 (1997).
  30. Bentley, M.D., Day, J.F., “Chemical Ecology and Behavioral Aspects of Mosquito Oviposition”, Ann Rev Entomology, 34:401-421 (1989).
  31. Clements, A.N., “Physiology of Mosquitoes”, Pergamon Pres Ltd, 393 p (1963).
  32. Yuval, B., “The Other Habit: Sugar Feeding by Mosquitoes”, Bull Soc Vector Ecology, 17 (2): 150-156 (1992).
  33. [http://tr.wikipedia.org/wiki/Biyolojik\\_ya%C5%9Fam\\_d%C3%B6ng%C3%BCs%C3%BC#/media/File:Culex\\_mosquito\\_life\\_cycle\\_en.svg](http://tr.wikipedia.org/wiki/Biyolojik_ya%C5%9Fam_d%C3%B6ng%C3%BCs%C3%BC#/media/File:Culex_mosquito_life_cycle_en.svg) (16.03.2015)

34. Harbach, R.E., "Mosquito Taxonomic Inventory", Available at: <http://mosquito-taxonomic-inventory> (18.07.2013)
35. Reinert, J.F., "Revised list of abbreviations for genera and subgenera of Culicidae (Diptera) and notes on generic and subgeneric changes", *J Am Mosq C*, 17(1): 51-55 (2001).
36. Parrish, D.W., "The mosquitoes of Turkey", *Mosquito News* 19, 264-266 (1959).
37. Öter, K., Tüzer, E., "İstanbul'da Sivrisinek Türlerinin (Diptera: Culicidae) Kompozisyonu", *J Fac Vet Med, Istanbul Univ.* 40 (2): 249-259 (2014).
38. Bedir, H., Kuçlu, Ö., Erdem, F., Demirci, B., Aldemir, A., "Türkiye İçin Altı Yeni Sivrisinek Kaydı", In: 17. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Kafkasya ve Ortadoğu Paraziter Hastalıklar Sempozyumu, Kars, Türkiye, 161 (2011).
39. Şimsek, F.M., Ulger, C., Akıner, M.M., Gunerkan F., Cihangir, S.İ., Bardakçı, F., "Mosquito species in Southern Turkey (Mediterranean Region)", In: 6th European Mosquito Control Association Workshop, Budapest, Hungary, 115 (2011a).
40. Oter, K., Gunay, F., Tuzer, E., Linton, Y.M., Bellini, R., Alten, B., "First record of *Stegomyia albopicta* in Turkey determined by active ovitrap surveillance and DNA barcoding", *Vector-Borne Zoonot*, 13 (10): 753-761, (2013).
41. Epstein, P.R., "Climate and health" *Science* 285:347-8, (1999).
42. Rogers, D.J., Packer, M.J., "Vector-borne diseases, models, and global change", *Lancet*, 342:1282-4 (1993).
43. Winch, P., "Social and cultural responses to emerging vector-borne diseases", *J Vector Ecol*, 23:47-53 (1998).
44. Fradin, S., "Mosquitoes and Mosquito Repellents: A Clinician's Guide by Mark", *Ann Intern Med*, 128:931-940 (1998).
45. Eldridge, B.F., "The epidemiology of arthropodborne disease" ISBN 0-7923-6320-5, 165-185. In: Eldridge, B.F., and Edman, D.J., (Ed) *Medical Entomology, a text book on public health and veterinary problems caused by arthropods*. Kluwer Academic Publishers, Netherland (2000).



46. <http://chppm-www.apgea.army.mil/ento/FACTS/Tularemia.pdf>, US Army Center for Health Promotion and Preventive Medicine (2003).
47. Woodbridge, A.F., Walker, E.D., "Mosquitoes (Culicidae)", pp. 203-262. In Mullen and Durden (Ed), *Medical and Veterinary Entomology*, Academic Press, San Diego, CA (2002).
48. Gubler D.J., "The Global Emergence/Resurgence of Arboviral Diseases As Public Health Problems", *Arch Med Res*, 33(4): 330–342 (2002).
49. Villari, P., Spielman, A., Komar, N., McDowell, M., Timperi, R.J., "The economic burden imposed by a residual case of eastern equine encephalitis", *Am J Trop Med Hyg*, 52:8–13 (1995).
50. Wilson, J., Rubin, H., Lane, T., Gibbs, P., "A survey of eastern equine encephalomyelitis in Florida horses: Prevalence, economic impact, and management practices, 1982-1983", *Prev Vet Med*, 4:261-271 (1986).
51. Anonymous., "Study: West Nile virus cost equine industries in Colorado, Nebraska millions in (2002).", *J. Am. Vet. Med. Assoc*, 222, 1669, 1672 (2003).
52. Foster, W.A., Walker, E.D., "Mosquitoes (Culicidae). In Mullen G, Durden L, eds, *Medical and Veterinary Entomology*", Academic Press, San Deigo (2002).
53. Tilston, N., Skelly, C., Weinstein, P., "Pan-European Chikungunyasurveillance: Designing risk stratified surveillance zones", *Int J Heath Geog*, 8:61 (2008).
54. Smithburn, K.C., Hughes, T.P., Burke, A.W., Paul, J.H., "A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda", *Am J Trop Med*, 20:471-492 (1940).
55. Smithburn, K.C., "Differentiation of West Nile virus from the viruses of St. Louis and Japanese B encephalitis", *J Immunol*, 44:25-31 (1942).
56. Philip, C.B., Smadel, J.E., "Transmission of West Nile virus by infected *Aedes albopictus*. Proceedings of the Society for Experimental", *Biology and Medicine*, 53: 49-50 (1943).
57. Hayes, C.G., "West Nile fever. pp. 59-88. In. T. P. Monath (Ed). *Arboviruses: Epidemiology and Ecology*", CRC Press, Inc Boca Raton, Florida, USA (1989).

58. Hubalek, Z., Halouzka, J., “West Nile fever-a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe”, *Emerg Infect Dis*, 5:643 (1999).
59. Marberg, K., Goldblum, N., Sterk, V.V., Jasinska-Klinberg, W., Klinberg, M.A., “The natural history of West Nile fever: clinical observations during an epidemic in Israel” *Am J Hyg*, 64:259-69 (1956).
60. Spigland. W., Jasinska-Klingberg, W., Hofshi, E., Goldblum, N., “Clinical and laboratory observations in an outbreak of West Nile fever in Israel in 1957”, *Harefua*, 54:275-81 (1958).
61. Weinberger, M., Pitlik, S.D., Gandacu, D., Lang, R., Nassar, F., Ben-David, D., Rubinstein, E., Izthaki, A., Mishal, J., Kitzes, R., Siegman-Igra, Y., Giladi, M., Pick, N., Mendelson, E., Bin, H., Shohat, T., Chowders, M.Y., “West Nile fever outbreak, Israel, (2000).: epidemiologic aspects”, *Emerg Infect Dis*, 7:679–685 (2001).
62. Tezcan, S., Ülger, M., Emekdaş, G., “Batı Nil Virusu Derleme” *Mersin Üni Sağlık Bilim Derg*, 4(3) (2011).
63. Ozkul, A., Yildirim, Y., Pinar, D., Akcali, A., Yilmaz V., Colak, D., “Serological evidence of West Nile Virus (WNV) in mammalian species in Turkey”, *Epidemiol Infect*, 134: 826-829 (2006).
64. Reiter, P., “West Nile virus in Europe: understanding the present to gauge the future”, *Euro Surveill*, 15(10): 19508 (2010).
65. Solomon, T., Ooi, M.H., Beasley, D.W.C., Mallewa, M., “West Nile encephalitis”, *BMJ*, 326: 865-9 (2003).
66. Sampathkumar. P., “West Nile Virus: Epidemiology, clinical presentation, diagnosis and prevention”, *Mayo Clin Proc*, 78: 1137-44 (2003).
67. Dauphin, G., Zientara, S., “West Nile virus: recent trends in diagnosis and vaccine development”, *Vaccine*, 25: 5563-76, (2007).
68. Hayes, E.B., Sejvar, J.J., Zaki, S.R., Lanciotti, R.S., Bode, A.V., Campbell, G.L., “Virology, pathology, and clinical manifestations of West Nile virus disease” *Emerg Infect Dis*, 11(8):1174-9, (2005).

69. Lanciotti, R.S., Roehrig, J.T., Deubel, V., Smith, J., Parker, M., Steele, K., Crise, B., Volpe, E.K., Crabtree, M.B., Scherret, J.H., Hall, R.A., MacKenzie, J.S., Cropp, C.B., Panigrahy, B., Ostlund, E., Schmitt, B., Malkinson, M., Banet, C., Weissman, J., Komar, N., Savage, H.M., Stone, W., McNamara, T., Gubler, D.J., “Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States”, *Science*, 286:2333–2337 (1999).
70. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), “Epidemiological update: End of West Nile virus transmission season in Europe”, Stockholm: Available from: [http://ecdc.europa.eu/en/press/news/Lists/News/ECDC\\_DispatchForm.aspx?List=32e43ee8-e230-4424-a78385742124029a&ID=527&RootFolder=/en/press/news/Lists/News](http://ecdc.europa.eu/en/press/news/Lists/News/ECDC_DispatchForm.aspx?List=32e43ee8-e230-4424-a78385742124029a&ID=527&RootFolder=/en/press/news/Lists/News) (25.11.2011).
71. European Centre for Disease Control and Prevention (ECDC), “West Nile virus transmission in Europe”, [http://ecdc.europa.eu/en/activities/sciadvice/Lists/ECDC%20Reviews/ECDC\\_DispatchForm.aspx?List=512ff74f-77d4-4ad8-b6d6-bf0f23083f30&ID=940&RootFolder=%2Fen%2Factivities%2Fsciadvice%2FLists%2FECDC%20Reviews](http://ecdc.europa.eu/en/activities/sciadvice/Lists/ECDC%20Reviews/ECDC_DispatchForm.aspx?List=512ff74f-77d4-4ad8-b6d6-bf0f23083f30&ID=940&RootFolder=%2Fen%2Factivities%2Fsciadvice%2FLists%2FECDC%20Reviews) (3.09.2010).
72. Papa, A., Xanthopoulou, K., Gewehr, S., Mourelatos, S., “Detection of West Nile virus lineage 2 in mosquitoes during a human outbreak in Greece” *Clin Microbiol Infect*, 17, 1176–1180 (2011b).
73. Platonov, A.E., Karan, L.S., Shopenskaia, T.A., Fedorova, M.V., Koliashnikova, N.M., Rusakova, N.M., Shishkina, L.V., Arshba, T.E., Zhuravlev, V.I., Govorukhina, M.V., Valentseva, A.A., Shipulin, G.A., “Genotyping of West Nile fever virus strains circulating in southern Russia as an epidemiological investigation method: principles and results”, *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*, 2: 29–37 (2011).
74. Health Protection Agency (HPA), “West Nile virus activity, Europe (2011).”, London: HPA, Available from: <http://www.hpa.org.uk/Topics/InfectiousDiseases/>

InfectionsAZ/WestNileVirus/GeneralInformation/wnile04WestNileEurope(2011)  
(20.05.2012)

75. (<http://www.saglik.gov.tr/TR/belge/1-10898/eski2yeni.html>)
76. Ergünay, K., Saygan, M.B., Aydoğan, S., Menemenlioğlu, D., Turan H.M., Özkul, A., Us, D., “West Nile Virus Seroprevalence in Blood Donors from Central Anatolia, Turkey”, *Vector-Borne Zoonot*, 10(8):771-775 (2010).
77. Kalaycıoğlu, H., “Türkiye’de görülen West Nile vakalarının epidemiyolojisi”, III. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu. Sempozyum Kitabı, s: 174-831-2, Ankara, Kasım (2010).
78. [http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west\\_nile\\_fever/West-Nile-fever\\_maps/PublishingImages/ECDC\\_WNF\\_Affected\\_current\\_season.png](http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west_nile_fever/West-Nile-fever_maps/PublishingImages/ECDC_WNF_Affected_current_season.png) (13.7.2015)
79. Scherret, J.H., Poidinger, M., Mackenzie, J.S., Broom, A.K., Deubel, V., Lipkin, W.I., Briese, T., Gould, E.A., Hall, R.A., “The relationships between West Nile and Kunjin viruses”, *Emerg Infect Dis*, 7:697-705 (2001).
80. Petersen, L.R., Roehrig, J.T., “West Nile virus: a reemerging global pathogen”, *Emerg Infect Dis*, 7: 611–614 (2001).
81. Zeller, H.G., Schuffenecker, I., “West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas”, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 23:147–56 (2004).
82. May, F.J., Davis, C.T., Tesh, R.B., Barrett, A.D., “Phylogeography of West Nile virus: from the cradle of evolution in Africa to Eurasia, Australia, and the Americas”, *J Virol*, 85, 2964–2974 (2011).
83. Kutasi, O., Bakonyi, T., Lecollinet, S., Biksi, I., Ferenczi, E., Bahuon C., Sardi S., Zientara, S., Szenci, O., “Equine encephalomyelitis outbreak caused by a genetic lineage 2 West Nile virus in Hungary”, *J Vet Intern Med*, 25: 586-591 (2011).
84. Barzon, L., Pacenti, M., Franchin, E., Lavezzo, E., Masi, G., Squarzon, L., Pagni, S., Toppo, S., Russo, F., Cattai, M., Cusinato, R., Palù, G., “Whole genome sequencing and phylogenetic analysis of West Nile virus lineage 1 and lineage 2 from human cases of infection”, *Euro Surveill*, 18(38) (2013).

85. Lanciotti, R.S., Ebel, G.D., Deubel, V., Kerst, A.J., Murri, S., Meyer, R., Bowen, M., McKinney, N., Morrill, W.E., Crabtree, M.B., Kramer, L.D., Roehrig, J.T., "Complete genome sequences and phylogenetic analysis of West Nile virus strains isolated from the United States, Europe, and the Middle East", *Virology*, 298(1):96-105 (2002).
86. Charrel, R.N., Brault, A.C., Gallian, P., Lemassona, J.J., Murguec, B., Murrice, S., Pastorino, B., Zeller, H., Chessea, de R., Miccoa, de P., Lamballerie, de X., "Evolutionary relationship between Old World West Nile virus strains. Evidence for viral gene flow between Africa, the Middle East, and Europe" *Virology*, 315(2):381-388. (2003).
87. Burt, F.J., Grobbelaar, A.A., Leman, P.A., Fiona, S.A., Georgina, Gibson, V.F., Swanepoel, R., "Phylogenetic relationships of southern African West Nile virus isolates", *Emerg Infect Dis*, 8: 820-826 (2002).
88. Hubálek, Z., Halouzka, J., Juricová, Z., Sebesta, O., "First isolation of mosquito-borne West Nile virus in the Czech Republic", *Acta Virol*, 42: 119-120 (1998).
89. Lvov, D.K., Butenko, A.M., Gromashevsky, V.L., Kovtunov, A.I., Prilipov, A.G., Kinney, R., Aristova, V.A., Dzharkenov, A.F., Samokhvalov, E.I., Savage, H.M., Shchelkanov, M.Y., Galkina, I.V., Deryabin, P.G., Gubler, D.J., Kulikova, L.N., Alkhovsky, S.K., Moskvina, T.M., Zlobina, L.V., Sadykova, G.K., Shatalov, A.G., Lvov, D.N., Usachev, V.E., Voronina, A.G., "West Nile virus and other zoonotic viruses in Russia: examples of emerging-reemerging situations", *Arch Virol Suppl*, 18: 85-96 (2004).
90. Vazquez, A., Sanchez-Seco, M.P., Ruiz, S., Molero, F., Hernandez, L., Moreno, J., Magallanes, A., Tejedor, C.G., Tenorio, A., "Putative new lineage of west Nile virus, Spain", *Emerg Infect Dis*, 16: 549-552 (2010).
91. Hall, R.A., Scherret, J.H., Mackenzie, J.S., "Kunjin virus: an Australian variant of West Nile?", *Ann N Y Acad Sci*, 951: 153-160 (2001).
92. Ergunay, K., Bakonyi, T., Nowotny, N., Ozkul, A., "Close Relationship between West Nile Virus from Turkey and Lineage 1 Strain from Central African Republic", *Emerg Infect Dis*, 21:2 (2015).

93. Blut A., “West Nile Virus”, *Transfus Med Hemother*, 40:265–284 (2013).
94. Patricia, A., Devine, P.A., “West Nile virus infection”, *Infect Dis Upd*, 10: 191-5 (2003).
95. Amberg, S.M, Rice, C.M., “Mutagenesis of the NS2B-NS3-mediated cleavage site in the flavivirus capsid protein demonstrates a requirement for coordinated processing”, *J Virol*, 73: 8083-8094 (1999).
96. Lindenbach, B.D., Rice, C.M., “Molecular biology of flaviviruses”, *Adv Virus Res*, 59: 23-61 (2003).
97. Botha E.M., “Molecular characterization of South African lineage II West Nile virus isolates and development of a diagnostic assay.” Department of Microbiology and Plant Pathology In the Faculty of Natural and Agricultural Science University of Pretoria Pretoria South Africa (2008).
98. Deubel, V., Fiette, L., Gounon, P., Drouet, M.T., Khun, H., Huerre, M., Banet, C., Malkinson, M., Despres, P., “Variations in biological features of West Nile viruses”, *Ann N Y Acad Sci*, 951:195–206 (2001).
99. Rey, F.A., Heinz, F.X., Mandl, C., Kunz, C., Harrison, S.C., “The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution”, *Nature*, 375:291- 298 (1995).
100. Brinton, M.A., “The molecular biology of West Nile virus: a new invader of the Western Hemisphere”, *Annu Rev Microbiol*, 56: 371-402 (2002).
101. Falgout, B., Markoff, L., “Evidence that flavivirus NS1-NS2A cleavage is mediated by a membrane-bound host protease in the endoplasmic reticulum”, *J Virol* 69(11): 7234-7243 (1995).
102. Mukhopadhyay, S., Kim, B.S., Chipman, P.R., Rossmann, M.G., Kuhn, R.J., “Structure of West Nile virus” *Science*, 302: 248 (2003).
103. Khromykh, A.A., Varnovski, A.N., Sedlak, P.L., Westaway, E.G., “Coupling between and packaging of flavivirus RNA. Evidence derived from the use of DNA based full-length cDNA clones of kunjin virus”, *J Virol*, 75(10): 4633-4640 (2001).

104. Chambers, T.J., Grakoui, A., Rice, C.M., “Processing of the yellow fever virus nonstructural polyprotein: a catalytically active NS3 proteinase domain and NS2B are required for cleavage at dibasic sites”, *J Virol*, 65: 6042-6050 (1991).
105. Chambers, T.J., Nestorowicz, A., Amberg, S.M., Rice, C.M., “Mutagenesis of the yellow fever virus NS2B protein. Effects on proteolytic processing, NS2B-NS3 complex formation, and viral replication”, *J Virol*, 67: 6797-6807 (1993).
106. Chang, Y.S., Liap, C.I., Tsao, C.H., Chen, M.C., Liu, C.I., Chen, L.K., Lin, Y.L., “Membrane permeabilization by small hydrophobic nonstructural proteins of Japanese encephalitis virus”, *J Virol*, 73(8): 6257-6264 (1999).
107. Lindenbach, B.D., Rice, C.M., “Genetic interaction of flavivirus nonstructural proteins NS1 and NS4A as a determinant of replicase function”, *J Virol*, 73, 4611–4621 (1999).
108. Kapoor, M., Zhang, L.W., Ramachandra, M., Kusukawa, J., Ebner, K.E., Padmanabhan, R., “Association Between Ns3 and Ns5 Proteins of Dengue Virus Type-2 in the Putative Rna Replicase Is Linked to Differential Phosphorylation of Ns5”, *J Biol Chem*, 270: 19100-19106 (1995).
109. Heinz, F.X., Allison, S.L., “Structures and mechanisms in flavivirus fusion”, *Adv Vir Res*, 55: 231–269 (2000).
110. Condotta., S.A., “Molecular And Cellular Studies Of The West Nile Virus Ns2b/Ns3 Protease” Thesis of Doctor, The Faculty Of Graduate Studies (Microbiology And Immunology), The University Of British Columbia, (2010).
111. Chu. J.J., Ng, M.L., “Infectious entry of West Nile virus occurs through a clathrin-mediated endocytic pathway”, *J Virol*, 78: 10543-55 (2004).
112. Davis, C.W., Nguyen, H.Y., Hana, S.L., Sanchez, M.D., Doms, R.W., Pierson, T.C., “West Nile virus discriminates between DC-SIGN and DC-SIGNR for cellular attachment and infection”, *J Virol*, 80: 1290-301 (2006).
113. Gollins, S.W., Porterfield, J.S., “Flavivirus infection enhancement in macrophages: An electron microscopic study of viral cellular entry”, *J Gen Virol*, 66:1969-1982 (1985).

114. Gollins, S.W., Porterfield, J.S., “The uncoating and infectivity of the flavivirus West Nile on interaction with cells: Effects of pH and ammonium chloride”, *J Gen Virol*, 67: 1941-1950 (1986)
115. Chambers, T.J., Hahn, C.S., Galler, R., Rice, C.M., “Flavivirus genome organization, expression, and replication”, *Annu Rev Microbiol*, 44: 649-688 (1990a).
116. Chambers, T.J., McCourt, D.W., Rice, C.M., “Production of yellow fever virus proteins in infected cells: Identification of discrete polyprotein species and analysis of cleavage kinetics using region-specific polyclonal antisera” *Virology*, 177: 159-174 (1990b).
117. Heinz, F.X., Stiasny, K., Puscher-Auer, G., Holzmann, H., Allison, S.L., Mandl, C.W., Kunz, C., “Structural changes and functional control of the tick-borne encephalitis virus glycoprotein E by the heterodimeric association with protein prM”, *Virology*, 198(1):109-117 (1994).
118. Gyure, K.A., “West Nile virus infections”, *J Neuropathol Exp Neurol*. 68(10):1053-60 (2009).
119. Lawrie, C.H., N.Y. Uzcátegui, Gould, E.A., Nuttall, P.A., “Ixodid and argasid tick species and West Nile virus”, *Emerg Infect Dis*, 10: 653-657 (2004).
120. Austin, R.J., Whiting, T.L., Anderson, R.A., Drebot, M.A., “An outbreak of West Nile virus-associated disease in domestic geese (*Anser anser domesticus*) upon initial introduction to a geographic region, with evidence of bird to bird transmission”, *Can Vet J.*; 45, 117–123, (2004).
121. Komar, N., Langevin, S., Hinten, S., Nemeth, N., Edwards, E., Hettler, D., Davis, B., Bowen, R., Bunning, M., “Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus”, *Emerg Infect Dis*, 9: 311–322 (2003).
122. USGS National Wildlife Health Center. “Species That Have Tested Positive for West Nile Virus”, [www.nwhc.usgs.gov/disease\\_information/west\\_nile\\_virus/](http://www.nwhc.usgs.gov/disease_information/west_nile_virus/) (28.03.2005)



123. Miller, D., Mauel, M., Baldwin, C., Burtle, G., Ingram, D., Hines, M., Frazier, K., "West Nile virus in farmed alligators", *Emerg Infect Dis*, 9: 794–799 (2003).
124. Klenk, K., Komar, N., "Poor replication of West Nile virus (New York 1999 strain) in three reptilian and one amphibian species", *Am J Trop Med Hyg*, 69: 260-262 (2003).
125. Klenk, K., Snow, J., Morgan, K., Bowen, R., Stephens, M., Foster, F., Gordy, P., Beckett, S., Komar, N., Gubler, D., Bunning, M., "Alligators as west nile virus amplifiers", *Emerg Infect Dis*, 10:2150-2155 (2004).
126. MMWR, "Investigations of West Nile Virus infections in recipients of blood transfusion and organ transplantation", *Morb Mortal Wkly Rep* 51:884,895 (2002a).
127. MMWR, "West Nile Virus infection in organ donor and transplant recipients- Georgia and Florida", *Morb Mortal Wkly Rep*, 51:790 (2002b).
128. MMWR, "Investigations of West Nile Virus infections in recipients of blood transfusions" *Morb Mortal Wkly Rep*, 51(43):973-4 (2002c).
129. Pealer, L.N., Marfin, A.A., Peterson, L.R., Lanciotti, R.S., Page, P.L., Stramer, S.L., Stobierski, M.G., Signs, K., Newman, B., Kapoor, H., Goodman, J.L., Chamberland, M.E., "Transmission of West Nile Virus through blood transfusion in the United States in 2002", *N Engl J Med* 349:1236-45 (2003).
130. MMWR, "Possible West Nile Virus transmission to an infant through breast-feeding Michigan", *Morb Mortal Wkly Rep*, 51:877-78 (2002d).
131. MMWR, "Intrauterine West Nile Virus infection- New York", *Morb Mortal Wkly Rep*, 51:1135-36 (2002e).
132. Reed, K.D., Meece, J.K., Henkel, J.S., Shukla, S.K., "Birds, Migration and Emerging Zoonoses: West Nile Virus, Lyme Disease, Influenza A and Enteropathogens", *Clinical Medicine & Research*, 1: 15-12 (2003).
133. Komar, N., "West Nile virus: epidemiology and ecology in North America", *Adv Virus Res*, 61:185–234 (2003).
134. <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/ecology.html>. (23.07.2005)

135. Taylor, R.M., Work, T.H., Hurlbut, H.S., Rizk, F., “A study of the ecology of West Nile virus in Egypt”, *Am J Trop Med Hyg*, 5:579-620 (1956).
136. Calistri, P., Giovannini, A., Lelli, R., “Epidemiology of West Nile in Europe and in the Mediterranean Basin”, *open viral j*, 4:29-37 (2010).
137. Figuerola, J., Green, A.J., Black, K., Okamura, B., “Influence of gut morphology on passive transport of bryozoans by waterfowl in Doñana (southwestern Spain)”, *Can J Zool*, 82, 835–840 (2004).
138. Esteves, A., Almeida, A.P.G., Galao, R.P., Parreira, R., Piedade, J., Rodrigues, J.C., Sousa, C.A., Novo, M.T., “West Nile virus in southern Portugal 2004”, *Vector-Borne Zoonot*, 5(4): 410-413 (2005).
139. Figuerola, J., Jiménez-Clavero, M.A., López, G., Rubio, C., Soriguer, R., Tejedor, C.G., Tenorio, A., “Size matters: West Nile Virus neutralizing antibodies in resident and migratory birds in Spain”, *Veterinary Microbiology*, 132, 1–2, 25, 39–46 (2008).
140. Jiménez-Clavero, M.A., Sotelo, E., Fernández-Pinero, J., Llorente, F., Blanco, J.M., Rodríguez-Ramos, J., Pérez-Ramírez, E., Höfle, U., “West Nile virus in Golden Eagles, Spain, 2007”, *Emerg. Infect. Dis.*; 14:1489–1491 (2008).
141. Malkinson, M., Banet, C., Weisman, Y., Pokamunski, S., King, R., Drouet, M.T., Deubel, V., “Introduction of West Nile virus in the Middle East by migrating white storks”, *Emerg Infect Dis*, 8; 392–397 (2002).
142. Hubálek, Z., Wegner, E., Halouzka, J., Tryjanowski, P., Jerzak, L., Šikutová, S., Rudolf, I., Kruszewicz, A.G., Jaworski, Z., Włodarczyk, R., “Serologic survey of potential vertebrate hosts for West Nile virus in Poland”, *Viral Immunol*, 21:247–53 (2008a)
143. Hubálek, Z., Halouzka, J., Juřicová, Z., Šikutová, S., Rudolf, I., Honza, M., Janková, J., Chytil, J., Marec, F., Sitko, J., “Serologic survey of birds for West Nile flavivirus in southern Moravia (Czech Republic)”, *Vector Borne Zoonotic Dis*, 8:659–66 (2008b).

144. Nicolescu, G., Purcarea-Ciulacu, V., Prioteasa, L., “West Nile Virus in Romania”, Report to the EDEN annual meeting (2009).
145. Marra, P.P, Griffing, S., Caffrey, C., Kilpatrick, A.M., Mclean, R., Brand, C., Saito, E., Dupuis, A.P., Kramer, L., Novak, R., “West Nile Virus and Wildlife”, *BioScience*, 54:5 (2004).
146. Rappole, J.H., Hubalek, Z., “Migratory birds and West Nile virus”, *J Appl Microbiol*, 94:47S–58 (2003).
147. Artsob, H., Gubler, D.J., Enria, D.A., Morales, M.A., Pupo, M., Bunning, M.L., Dudley, J.P., “West Nile Virus in the New World: Trends in the Spread and Proliferation of West Nile Virus in the Western hemisphere”, *Zoonoses Public Hlth*, 56(7):357-369 (2009).
148. Gruszynski, K.R., “The Epidemiology Of West Nile Virus in Louisiana”, Thesis of Doctor of Philosophy, Department of Pathobiological Sciences, The School of Veterinary Medicine, Louisiana (2006).
149. Karabatsos. N., editör, “International catalogue of arboviruses, including certain other viruses of vertebrates”. 3rd ed, and Supplements 1986-98, San Antonio: American Society of Tropical Medicine and Hygiene (1985).
150. Hurlbut, H.S., “West Nile virus infection in arthropods” *Am J Trop Med Hyg*, 5:76-85 (1956).
151. Brault, A.C., “Changing patterns of West Nile virus transmission: altered vector competence and host susceptibility”, *Vet Res*, 40: 43 (2009).
152. Baqar, S., Hayes, C.G., Murphy, J.R., Watts, D.M., “Vertical transmission of West Nile virus by *Culex* and *Aedes* species mosquitoes”. *Am J Trop Med Hyg*, 48: 757–762 (1993).
153. Miller, B.R, Nasci, R.S., Godsey, M.S., Savage, H.M., Lutwama J.L., Lanciotti, R.S., Peters, C.J., “First Field Evidence For Natural Vertical Transmission Of West Nile Virus In *Culex Univittatus* Complex Mosquitoes From Rift Valley Province, Kenya”, *Am J Trop Med Hyg*, 62(2):240–246 (2000).

154. [CDC] Center for Disease Control and Prevention, “62 Mosquito species have been found in West Nile positive mosquito pools in the United States since 1999” [On-line]. Available: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/mosquitoSpecies.htm> (2007).
155. [http://wildpro.twycrosszoo.org/S/virus/flaviviridae/Flaviviridae\\_WNVirus/06WNVSpIntermediateHost.htm](http://wildpro.twycrosszoo.org/S/virus/flaviviridae/Flaviviridae_WNVirus/06WNVSpIntermediateHost.htm) (15.05.2015).
156. Abramovitz, M., “West Nile Virus”. Thomson Gale, Farmington Hill, MI, U.S., 108 (2004).
157. Dauphin, G., Zientara, S., Zeller, H., Murgue, B., “West Nile: Worldwide current situation in animals and humans” *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 27:343–355 (2004).
158. Girard, Y.A., Popov, V., Wen, J., Han, V., Higgs, S., “Ultrastructural study of West Nile virus pathogenesis in *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae)”, *J Med Entomol*, 42:429-444 (2005).
159. Colton, L., Biggerstaff, R.J., Johnson, A., Nasci, R.S., “Quantification of West Nile Virus in vector mosquito saliva” *J Am Mosq Control Assoc*, 21(1): 49-53 (2005).
160. Sardelis, M.R., Turell, M.J., Dohm, D.J., O’Guinn, M.L., “Vector Competence of Selected North American *Culex* and *Coquillettidia* Mosquitoes for West Nile Virus”, *Emerg Infec Dis*, 7(6):1018-1022 (2001).
161. Gubler, D.J., Kuno, G., Markoff, L., “Flaviviruses. *Fields Virology*”, Knipe D.M., Howley P.M., Griffin D.E., Lamb R.A., Martin M.A., Roizman B., Straus S.E. et al. Philadelphia (Pennsylvania), Lippincott Williams & Wilkins.1: 1154-1252. (2007).
162. Reisen, W.K., “Landscape Epidemiology of Vector-Borne Diseases”, *Annu Rev Entomol*, 55:461-483 (2010).
163. Goddard, L.B., Roth, A.E., Reisen, W.K., Scott, T.W., “Vertical Transmission of West Nile Virus by Three California *Culex* (Diptera: Culicidae) Species”, *J Med Entomol*, 40(6):743-746 (2003).

164. Dohm, D.J., Sardelis, M.R., Turell, M.J., “Experimental Vertical Transmission of West Nile Virus by *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae)”, *J Med Entomol*, 39(4):640-644 (2002).
165. Anderson, J.F., Main, A.J., “Importance of Vertical and Horizontal Transmission of West Nile Virus by *Culex pipiens* in the Northeastern United States”, *J Infect Dis*, 194:1577-1579 (2006).
166. <http://www.bayequest.info/horsetalk/westnilevirus1.htm>
167. Steele, K.E., Schoepp, R.J., Komar, N., Geisbert, T.W., Manduca, R.M., Calle, P.P., Raphael, B.L., Clippinger, T.L., Larsen, T., Smith, J., Lanciotti, R.S., Panella, N.A., McNamara, T.S., “Pathology of fatal West Nile virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York City, New York”, *Veterinary Pathology*, 37, 208-224 (2000).
168. Peterson, A.T., Vieglais, D.A., Andreasen, J.K., “Migratory birds modeled as critical transport agents for West Nile virus in North America”, *Vector-Borne Zoonot*, 3, 27-37 (2003).
169. Chambers, T.J., Diamond, M.S., “Pathogenesis of flavivirus encephalitis”, *Adv Virus Res*, 60:273-342 (2003).
170. Johnston, L.J., Halliday, G.M., King, N.J., “Langerhans cells migrate to local lymph nodes following cutaneous infection with an arbovirus”, *J Invest Dermatol*, 114:560-568. (2000).
171. Busch, M.P., Kleinman, S.H., Tobler, L.H., Kamel, H.T., Norris, P.J., Walsh, I., Matud, J.L., Prince, H.E., Lanciotti, R.S., Wright, D.J., Linnen, J.M., Caglioti, S., “Virus and antibody dynamics in acute west nile virus infection”, *J Infect Dis*, 198(7):984–93 (2008).
172. Samuel, M.A., Diamond, M.S., “Pathogenesis of West Nile Virus infection: a balance between virulence, innate and adaptive immunity, and viral evasion”, *J Virol*, 80:9349-9360 (2006).

173. Guarner, J., Shieh, W.J., Hunter, S., Paddock, C.D., Morken, T., Campbell, G.L., Marfin, A.A., Zaki, S.R., “Clinicopathologic study and laboratory diagnosis of 23 cases with West Nile virus encephalomyelitis”, *Hum Pathol*, 35:983-990 (2004).
174. Daffis, S., Samuel, M.A., Suthar, M.S., Gale, M. Jr., Diamond, M.S. “Tolllike receptor 3 has a protective role against West Nile virus infection”, *J Virol*, 82:10349-10358 (2008).
175. Wang, T., Town, T., Alexopoulou, L., Anderson, J.F., Fikrig, E., Flavell, R.A., “Toll-like receptor 3 mediates West Nile virus entry into the brain causing lethal encephalitis”, *Nat Med*, 10:1366-1373 (2004).
176. Kleinschmidt-DeMasters, B.K., Marder, B.A., Levi, M.E., Laird, S.P., McNutt, J.T., Escott, E.J., Everson, G.T., Tyler, K.L., “Naturally acquired West Nile virus encephalomyelitis in transplant recipients: clinical, laboratory, diagnostic, and neuropathological features”, *Arch Neurol*, 61:1210–20 (2004).
177. Hayes, E.B., Sejvar, J.J., Zaki, S.R., Lanciotti, R.S., Bode, A.V., Campbell, G.L., Lanciotti R.S, Bode A.V., Campbell, G.L., “Virology, pathology and clinical manifestations of West Nile virus disease”, *Emerg Infect Dis*. 11, 1174-1179 (2005).
178. Blau, D.M., Rabe, I.B., Bhatnagar, J., Civen, R., Trivedi, K.K., Rollin, D., Hocevar, S.N., Kuehnert M., Staples, J.E., Zaki, S.R., Fischer M., “the West Nile Virus Transplant-Associated Transmission Investigation Team. West Nile Virus RNA in Tissues from Donor Associated with Transmission to Organ Transplant Recipients”, *Emerg Infect Dis*, [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid) (2013).
179. Sejvar, J.J., Leis, A.A., Stokic, D.S., Van Gerpen, J.A., Marfin, A.A., Webb, R., Haddad, M.B., Tierney, B.C., Slavinski, S.A., Polk, J.L., Dostrow, V., Winkelmann, M., Petersen, L.R., “Acute flaccid paralysis and West Nile virus infection”, *Emerg Infect Dis*, 9: 788-793 (2003).
180. Sejvar, J.J., Haddad, M.B., Tierney, B.C., Campbell, G.L., Marfin, A.A., Van Gerpen, J.A., Fleischauer, A., Leis, A.A., Stokic, D.S., Petersen, L.R., “Neurologic manifestations and outcome of West Nile virus infection”, *JAMA*, 290:511–515 (2003a).

181. Sejvar, J.J., Leis, A.A., Stokic, D.S., Van Gerpen, J.A., Marfin, A.A., Webb, R., Haddad, M.B., Tierney, B.C., Slavinski, S.A., Polk, J.L., Dostrow, V., Winkelmann, M., Petersen, L.R., “Acute flaccid paralysis and West Nile infection”, *Emerg Infect Dis*, 9:788–793 (2003b).
182. Bunning, M.L., Bowen, .RA., Cropp, C.B., Sullivan, K.G., Davis, B.S., Komar, Nç, Godsey, M.S., Baker, D., Hettler, D.L., Holmes, D.A., Biggerstaff, B.J., Mitchell, C.J., “Experimental infection of horses with West Nile virus”, *Emerg Infect Dis*, 8: 380-386 (2002).
183. Castillo-Olivares, J., Wood, J., “West Nile virus infection of horses”, *Vet Res*, 35: 467-483 (2004).
184. Eidson, M., Komar, N., Sorhage, F., Nelson, R., Talbot, T., Mostashari, F., McLean, R., “Crow deaths as a sentinel surveillance system for West Nile virus in the northeastern United States 1999”, *Emerg Infect Dis*, 7: 615-620 (2001).
185. Julian, K.G., Eidson, M., Kipp, A.M., Weiss, E., Petersen, L.R., Miller, J.R., Hinten, S.R., Marfin, A.A., “Early season crow mortality as a sentinel for West Nile virus disease in humans, northeastern United States”, *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2: 145-155 (2002).
186. Samuel, M.A., Diamond, M.S., “Alpha/beta interferon protects against lethal West Nile virus infection by restricting cellular tropism and enhancing neuronal survival”, *J Virol*, 79(21):13350–61 (2005).
187. Shrestha, B., Diamond, M.S., “Role of CD8+ T cells in control of West Nile virus infection”, *J Virol*, 78(15):8312–21 (2004)
188. Shrestha, B., Samuel, M.A., Diamond, M.S., “CD8+ T cells require perforin to clear West Nile virus from infected neurons”, *J Virol*, 80(1):119–29 (2006).
189. Sitati, E.M., Diamond, M.S., “CD4+ T-cell responses are required for clearance of West Nile virus from the central nervous system”, *J Virol*, 80(24):12060–9 (2006).
190. Wang, T., Scully, E., Yin, Z., Kim, J.H., Wang, S., Yan, J., Mamula, M., Anderson, J.F., Craft, J., Fikrig, E., “IFN-gamma-producing gamma delta T cells

- help control murine West Nile virus infection”, *J Immunol*, 171(5):2524–31 (2003a).
- 191.** Wang, Y., Lobigs, M., Lee, E., Müllbacher, A., “CD8+ T cells mediate recovery and immunopathology in West Nile virus encephalitis”, *J Virol*, 77(24):13323–13334 (2003b).
  - 192.** Diamond MS, et al., “B cells and antibody play critical roles in the immediate defense of disseminated infection by West Nile encephalitis virus”, *J Virol*, 77(4):2578–86 (2003a).
  - 193.** Klein, R.S., Shrestha, B., Marri, A., Mahan, D., Engle, M., “Neuronal CXCL10 directs CD8+ T-cell recruitment and control of West Nile virus encephalitis”, *J Virol*, 79(17):11457–66 (2005).
  - 194.** Purtha, W.E., Chachu, K.A., Virgin, H.W., Diamond, M.S., “Early B-cell activation after West Nile virus infection requires alpha/beta interferon but not antigen receptor signaling”, *J Virol*, 82(22):10964–74 (2008).
  - 195.** Diamond, M.S., Sitati, E.M., Friend, L.D., Higgs, S., Shrestha, B., Engle, M., “A critical role for induced IgM in the protection against West Nile virus infection”, *J Exp Med*, 198(12):1853–62 (2003b).
  - 196.** Rossi, S.L., Ross, T.M., Evans, J.D., “West Nile Virus”. *Clin Lab Med*, 30(1): 47–65 (2009).
  - 197.** Petersen, L.R., Marfin, A.A., “West Nile virus: a primer for the clinician”, *Ann Intern Med*, 137, 173–179 (2002).
  - 198.** Sfakianos, J.N., Heymann, D., “West Nile Virus (Deadly Diseases and Epidemics), Chelsea House Publications, New York, New York, USA”, pp.108 (2005).
  - 199.** Roehrig, J.T., Nash, D., Maldin, B., Labowitz, A., Martin, D.A., Lanciotti, R.S., Campbell, G.L., “Persistence of virus-reactive serum immunoglobulin m antibody in confirmed west nile virus encephalitis cases”, *Emerg Infect Dis*, 9:376-379 (2003).



- 200.** Tardei, G., Ruta, S., Chitu, V., Rossi, C., Tsai, T.F., Cernescu, C., “Evaluation of immunoglobulin M (IgM) and IgG enzyme immunoassays in serologic diagnosis of West Nile Virus infection”, *J Clin Microbiol*, 38:2232-2239 (2000).
- 201.** (CDC), Centers for Disease Control and Prevention. Information and guidance for clinicians: West Nile virus: clinical description. <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/clinicians/clindesc.htm> (2004).
- 202.** Blitvich, B.J., Bowen, R.A., Marlenee, N.L., Hall, R.A., Bunning, M.L., Beaty, B.J., “Epitope-blocking enzyme-linked immunosorbent assays for detection of west nile virus antibodies in domestic mammals” *J Clin Microbiol*, 41: 2676–2679 (2003).
- 203.** Lorono-Pino, M.A., Farfan-Ale, J.A., Blitvich, B.J., Beebe, J.L., Jarman, R.G., Beaty, B.J., “Evaluation of an epitope-blocking enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of West Nile virus infections in humans”, *Clin Vaccine Immunol*, 16, 749–755 (2009).
- 204.** Sambri, V., Capobianchi, M.R., Cavrini, F., Charrel, R., Donoso-Mantke, O., Escadafal, C., Franco, L., Gaibani, P., Gould, E.A., Niedrig, M., Papa, A., Pierro, A., Rossini, G., Sanchini, A., Tenorio, A., Varani, S., Vázquez, A, Vocale, C., Zeller, H., “Diagnosis of West Nile Virus Human Infections: Overview and Proposal of Diagnostic Protocols Considering the Results of External Quality Assessment Studies” *Virusas*, 5: 2329-2348 (2013).
- 205.** Tosun, S., “Batı Nil Virusu Enfeksiyonu”, *J Exp Clin Med*, 29:183-92 (2012).
- 206.** Filette, M.D., Ulbert, S., Diamond M.S., Sanders, N.N., “Recent progress in West Nile virus diagnosis and vaccination”, *Veterinary Research*, 43:16 (2012).
- 207.** Qureshi, A.A., “Trent, D.W. Group B arbovirus structural and nonstructural antigens. 3. Serological specificity of solubilized intracellular viral proteins” *Infect Immun*, 8: 993–999 (1973).
- 208.** Shi, P.Y., Kauffman, E.B., Ren, P., Felton, A., Tai, J.H., Dupuis, A.P., Jones, S.A., Ngo, K.A., Nicholas, D.C., Maffei, J., Ebel, G.D., Bernard, K.A., Kramer,

- L.D., “High-throughput detection of West Nile virus RNA”, *J Clin Microbiol*, 39:1264–1271 (2001).
- 209.** Calisher, C.H., “Medically important arboviruses of the United States and Canada” *Clin Microbiol Rev*, 7(1):89-116 (1994).
- 210.** Scaramozzino, N. Crance, J.M. Jouan, A. DeBriel, D.A. Stoll, F. Garin, D., “Comparison of flavivirus universal primer pairs and development of a rapid, highly sensitive heminested reverse transcription-PCR assay for detection of flaviviruses targeted to a conserved region of the NS5 gene sequences” *J Clin Microbiol*, 39, 1922–1927 (2001).
- 211.** Sanchez-Seco, M.P., Rosario, D., Domingo, C., Hernandez, L., Valdes, K., Guzman, M.G., Tenorio, A., “Generic RT-nested-PCR for detection of flaviviruses using degenerated primers and internal control followed by sequencing for specific identification”, *J Virol Methods*, 126: 101–109 (2005).
- 212.** Lanciotti, R.S., Kerst, A.J., Nasci, R.S., Godsey, M.S., Mitchell, C.J., Savage, H.M., Komar, N., Panella, N.A., Allen, B.C., Volpe, K.E., Davis, B.S., Roehrig, J.T., “Rapid detection of west nile virus from human clinical specimens, field-collected mosquitoes, and avian samples by a TaqMan reverse transcriptase-PCR assay”, *J Clin Microbiol*, 38:4066–4071 (2000).
- 213.** Papin, J.F., Vahrson, W., Dittmer, D.P., “SYBR green-based real-time quantitative PCR assay for detection of West Nile Virus circumvents false-negative results due to strain variability”, *J Clin Microbiol*, 42:1511–1518 (2004).
- 214.** Nasci, R.S., Gottfried, K.L., Burkhalter, K.L., Kulasekera, V.L., Lambert, A.Y., Lanciotti, R.S., Hunt, A.R., Ryan, J.R., “Comparison of vero cell plaque assay, Taqman® reverse transcriptase polymerase chain reaction RNA assay, and Vectest™ antigen assay for detection of West Nile virus in field-collected mosquitoes”, *J Am Mosq Control Assoc*, 18: 294-300 (2002).
- 215.** Ryan, J., Dave, K., Emmerich, E., Fernandez, B., Turell, M., Johnson, J., Gottfried, K., Burkhalter, K., Kerst, A., Hunt, A., Wirtz, R., Nasci, R., “Wicking assays for the rapid detection of West Nile and St. Louis encephalitis viral antigens in mosquitoes (Diptera: Culicidae)”, *J Med Entomol*, 40(1):95-9 (2003).

216. Siirin, M., Sargent, C., Langer, R.C., Parsons, R., Vanlandingham, D.L., Higgs, S., Tesh, R.B., “Comparative sensitivity of the VecTest antigen-capture assay, reverse transcriptase-PCR, and cell culture for detection of West Nile virus in dead birds”, *Vector Borne Zoonotic Dis*, Fall;4(3):204-9 (2004).
217. Chiles, R.E., Green, E.N., Fang, Y., Goddard, L., Roth, A., Reisen, W.K., Scott, T.W., “Blinded laboratory comparison of the in situ enzyme immunoassay, the VecTest wicking assay, and a reverse transcription-polymerase chain reaction assay to detect mosquitoes infected with West Nile and St. Louis encephalitis viruses”, *J Med Entomol*, 41(4):539-44 (2004).
218. Stone, W.B., Therrien, J.E., Benson, R., Kramer, L., Kauffman, E.B., Eidson, M., Campbell, S., “Assays to Detect West Nile Virus in Dead Birds”, *Emerg Infect Dis*, [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid), 11: 11 (2005).
219. Weiss, D., Carr, D., Kellachan, J., Tan, C., Phillips, M., Bresnitz E, Layton, M., “Clinical findings of West Nile virus infection in hospitalized patients, New York and New Jersey, 2000”, *Emerg Infect Dis*, 7:654-8 (2001).
220. Huhn, G.D., Sejvar, J.J., Montgomery, S.P., Dworkin, M.S., “West Nile virus in the United States: an update on an emerging infectious disease”, *Am Fam Physician*, 68: 653-60 (2003).
221. Anderson, J.F., Rahal, J.J., “Efficacy of interferon alpha-2b and ribavirin against West Nile virus in vitro”, *Emerg Infect Dis*, 8:107-8 (2002).
222. Colpitts, T.M., Conway, M.J., Montgomery, R.R., Fikrig, E., “West Nile Virus: Biology, Transmission, and Human Infection” *Clin Microbiol Rev* 25(4):635 (2012).
223. Biedenbender, R., Bevilacqua, J., Gregg, A.M., Watson, M., Dayan, G., “Phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter study to investigate the immunogenicity and safety of a West Nile virus vaccine in healthy adults”, *J Infect Dis*, 203:75– 84 (2011).
224. Yazıcı, Z., “Atlarda Batı Nil Virusu Enfeksiyonu”, *J Fac Vet Med Univ Erciyes*, 2(1) 45-48 (2005).

225. ECDC Technical Report, "European Centre for Disease Prevention and Control", ISBN 978-92-9193-482-9 (2013).
226. Nasci, R.S., "Monitoring and controlling West Nile virus: Are your prevention practices in place?", *J Env Health* 75(8):42-4 (2013).
227. ECDC, European Centre for Disease Prevention and Control. "Technical Report. Development of Aedes albopictus risk maps", Stockholm, Sweden (2009).
228. Heperkan, Y., Arı, A., "Türkiye'de ARBOR virusları üzerinde bir çalışma", *Türk Hij Tec Biyol Derg*, 24:113-117 (1964).
229. Serter, F., "Artropodlarla bulaşan virus hastalıklarının (Arbovirus enfeksiyonları) memleketimizdeki durumu", XII. Türk Mikrobiyoloji Kongre raporu, 104 (1966).
230. Radda, A., "Antibodies against group A and group B arboviruses in domestic animals from Turkey", *Ege Üni Tıp Fak Mec*, 10, 227 (1971).
231. Arı, A., "Türkiye'de Arboviruslerin faaliyeti ve ekolojisi üzerine incelemeler. *Türk Hij Tecr Biyol Derg*, 32:134-143 (1972).
232. Meço, O., "Güneydoğu Anadolu halkında Batı Nil ateşi hemagglütinasyon önlenim antikorlarının araştırılması", *Mikrobiyol Bul*, 11: 3-17 (1977).
233. Serter, D., "Present status of arbovirus seroepidemiology in the Aegean region of Turkey. In: Vesenjak-Hirjan J, Calisher C(eds), *Arboviruses in the Mediterranean Countries*", Stuttgart Gustav Fisher Verlag, Germany 155-161 (1980).
234. Ergunay, K., Ozer, N., Us, D., Ozkul, A., Simsek, F., Kaynas, S., Ustacelebi, S., "Seroprevalence of West Nile virus and tick-borne encephalitis virus in southeastern Turkey: First evidence for tick-borne encephalitis virus infections", *Vector -Borne Zoonot*, 7:157-161 (2007).
235. Arpacı, F., Cetin, T., Kubar, A., Ozturk, M., Kuzhan, O., Komurcu, S., Ozturk, B., Ataergin, S., Ozet, A., "West Nile infection in a patient with acute graft versus- host diseases", *Haematologica*, 94(2):687 (2009).

236. Ergünay, K., Aydoğan, S., Menemenlioğlu, D., Sener, B., Lederer, S., Steinhagen, K., Haşçelik, G., Pinar, A., Ozkul, A., Us, D., “Ankara bölgesinde nedeni bilinmeyen merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarında Batı Nil Virusunun araştırılması”, Mikrobiyoloji Bülteni, 44:255-62 (2010).
237. Tosun, S., “Batı Nil virusu enfeksiyonunda klinik ve tedavi. III. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu”, Ankara, Türkiye, 161-165 (2010).
238. Tosun, S., “Sorun enfeksiyonlarda yaklaşım ve tedavi. Batı Nil Virusunu” 3. Türkiye EKMUD Bilimsel Platformu, İstanbul, 203-212. (2011).
239. Ergunay, K., Gunay, F., Oter, K., Kasap, O.E., Orsten, S., Akkutay, A.Z., Erdem, H., Ozkul, A., Alten, B., “Arboviral surveillance of field-collected mosquitoes reveals circulation of West Nile virus lineage 1 strains in Eastern Thrace, Turkey”, Vector Borne Zoonotic Dis, 13:744– 752, (2013a).
240. Yeşilkaya, A., Kurt Azap, O., Arslan, H., Yağcı Çağlayık, D., Uyar, Y., Korukluoğlu, G., Özkul, A., “Ölümcül seyreden Batı Nil virusu ensefaliti olgusu”, Mikrobiyoloji Bülteni, 46(3): 488-492 (2012).
241. Ozkul, A., Ergunay, K., Koysuren, A., Alkan, F., Arsava, E.M., Tezcan, S., Emekdas, G., Hacıoglu, S., Turan, M., Us, D., “Concurrent occurrence of human and equine West Nile virus infections in Central Anatolia, Turkey: the first evidence for circulation of lineage 1 virus”, Int J Infect Dis, 17(7): 546-551 (2013).
242. Ocal, M., Onder, H., Arsava, E.M., Alp, Ş., Özkul, A., Ergünay, K., “Ankara İlinde Batı Nil Virusunun Köken-1 Kaynaklı Bir Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonu Olgusu”, Mikrobiyoloji Bülteni, 47: 164-172 (2013).
243. Özkan, D., “İstanbul’da Batı Nil Virusunun Taraması”, T.C. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul (2006).
244. Albayrak, H., Ozan, E., “Molecular Detection of Avian Influenza Virus but not West Nile Virus in Wild Birds in Northern Turkey”, Zoonoses Public Health, 57(7-8), 71-75 (2010).

245. Albayrak, H., Ozan, E., Kurt, M., “Molecular Detection of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus (CCHFV) but not West Nile Virus (WNV) in Hard Ticks from Provinces in Northern Turkey”, *Zoonoses Public Hlth*, 57(7-8), 156-160 (2010).
246. Örsten, S., “Ankara Bölgesinde Batı Nil Virusu Ve Toskana Virus Vektörlerinin Araştırılması”, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara (2013).
247. Erdem, H., Ergunay, K., Yılmaz, A., Naz, H., Akata, F., Inan, A.S., Ulcay, A., Gunay, F., Ozkul, A., Alten, B., Turhan, V., Oncul, O., Gorenek, L., “Emergence and co-infections of West Nile virus and Toscana virus in Eastern Thrace, Turkey”, *Clin Microbiol Infect*, 20:319–325 (2014).
248. Kars stratejik gelişme raporu, Ekonomik Ve Sosyal Araştırmalar Müdürlüğü, Ankara (2008).
249. [www.kusbank.org](http://www.kusbank.org) (15.5.2015).
250. <http://www.kuyucuk.org/index.php/kuyucuk-goelue> (15.5.2015).
251. T.C. Serhat Kalkınma Ajansı, “İğdir’in Sosyo-Ekonomik Durumu Ve Uygun Yatırım Alanları”, İğdir Yatırım Destek Ofisi, İğdir (2013).
252. [http://kusbilim.kafkas.edu.tr/?page\\_id=290](http://kusbilim.kafkas.edu.tr/?page_id=290) (15.5.2015).
253. <http://www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme/il-ve-ilceler-istatistik.aspx?m=KARS> (16.12.2014).
254. <http://www.wunderground.com/> (15.5.2015).
255. <http://www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme/il-ve-ilceler-istatistik.aspx?m=IGDIR> (16.12.2014).
256. Schaffner, F., Angel, G., Geoffroy, B., Hervy, J. P., Rhaiem, A., Brunhes, J., “Les moustiques d’Europe (The mosquitoes of Europe), CD-ROM”. Institut de Recherche pour Development/EID Mediterranée, Montpellier, France (2001).
257. Sigma TRI-REAGENT (T9424) Teknik Bülteni
258. TRİ-SİGMA teknik bülten

259. Roth, J.R., Hughes, K.T., “Directed formation of deletions and duplications using Mud(Ap, lac)” , *Genetics*, 109: 263-282 (1985).
260. Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T., “Molecular Cloning - A Laboratory Manual”, 2nd Edition, Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York (1989).
261. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>
262. Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W.ve Lipman, D. J. (1990), “Basic Local Alignment Search Tool,” *J. Mol. Biol.*, 215, 403-410
263. Biggerstaff, B. J., “PooledInfRate, Version 4.0: a Microsoft® Office Excel© Add-In to compute prevalence estimates from pooled samples”, Centers for Disease Control and Prevention, Fort Collins, CO, U.S.A (2009).
264. Bernard, K.A., Maffei, J.G., Jones, S.A., Kauffman, E.B., Ebel, G.D., Dupuis, A.P., Ngo, K.A., Nicholas, D.C., Young, D.M., Shi, P-Y., Kulasekera, V.L., Eidson, M., White, D.J., Stone, W.B., NY State West Nile Virus Surveillance Team., Kramer. L.D., “West Nile virus infection in birds and mosquitoes, New York State, 2000”, *Emerg Infect Dis*, 7:679-685 (2001).
265. Beasley, D. W. C., Davis, C. T., Whiteman, M., Granwehr, B., Kinney, R.M., Allan, D., T., Barrett., “Molecular determinants of virulence of West Nile virus in North America. Emergence and Control of Zoonotic Viral Encephalitides”, *Archives of Virology, Supplementa*, 18: 35-41 (2004).
266. Fereidouni, S.R., Ziegler, U., Linke, S., Niedrig, M., Modirrousta, H., Hoffmann, B., Groschup. M.H., “West Nile Virus Monitoring in Migrating and Resident Water Birds in Iran: Are Common Coots the Main Reservoirs of the Virus in Wetlands?”, *Vector-Borne Zoonot*, 11: 10 (2011).
267. Rappole, J.H., Derrickson, S.R., Hubálek, Z., “Migratory birds and spread of West Nile Virus in the Western Hemisphere”, *Emerg Infect Dis*, 6:319-27 (2000).
268. Tsereteli, D.G., Tsiklauri, R.A., Ivanidze, E.A., “West Nile fever in West Georgia”, [abstract 60.006], Program and abstracts: 8th International Congress on Infectious Diseases, Boston, 206 (1998).

269. Thakare, J.P., Rao, T.L.G., Padbidri, V.S., “Prevalence Of West Nile Virus Infection In India”, *National Institute of Virology*, 33: 4 (2002).
270. Platonov, A.E., Shipulin, G.A., Shipulina, O.Y., Tyutyunnik, E.N., Frolochkina, T.I., Lanciotti, R.S., Yazyshina, S., Platonova, O.V., Obukhov, I.L., Zhukov, A.N., Vengerov, Y.Y., Pokrovskii, V.I., “Outbreak of West Nile virus infection, Volgograd Region, Russia, 1999”, *Emerg Infect Dis*, 7:128-32 (2001).
271. Shah-Hosseini, N., Chinikar, S., Ataei, B., Fooks, A.R., Groschup, M.H., “Phylogenetic Analysis of West Nile Virus Genome, Iran”, *Emerg Infect Dis*, [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid), 20:8 (2014).
272. Cernescu, C., Nedelcu, N.I., Tardei, G., Ruta, S., Tsai, T.F., “Continued Transmission of West Nile Virus to Humans in Southeastern Romania, 1997–1998”, *J Infect Dis*, 181:710–2 (2000).
273. Vázquez, A., Ruiz, S., Herrero, L., Moreno, J., Molero, F., Magallanes, A., Sánchez-Seco, M.P., Figuerola, J., Tenorio, A., “Short Report: West Nile and Usutu Viruses in Mosquitoes in Spain, 2008–2009”, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 85(1): 178–181 (2011).
274. Gingrich, J.B., O'connor, L.-L., Meredith, W.H., Pesek, J.D., Shriver, W.H., “Epidemiology Of West Nile Virus: A Silent Epiornitic In Northern Delaware In 2007 Without Associated Human Cases”, *Journal Of The American Mosquito Control Association*, 26(3):274-286 (2010).
275. Kulasekera, V., Kramer, L., Nasci, R., Mostashari, F., Cherry, B., Trock, S.C., Glaser, C., Miller, J.R., “West Nile virus infection in mosquitoes, birds, horses, and humans, Staten Island, New York, (2000).”, *Emerg Infect Dis*, 7:722-5 (2001).
276. Anderson, J.F., Andreadis, T.G., Vossbrinck, C.R., Tirrell, S., Wakem, E.M., French, R.A., Garmendia, A.E., Van Kruiningen, H.J., “Isolation of West Nile Virus from Mosquitoes, Crows, and a Cooper’s Hawk in Connecticut”, *Science*, 286:17 (1999).



277. Erdem, F., “Kars Platosu’nda Sivrisinek (Diptera: Culicidae) Larva/Pupa Populasyon Dinamizmi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü (2007).
278. Bedir, H., “Aras Vadisi Sivrisineklerinin (Diptera: Culicidae) Tür Kompozisyonu Ve Saldırı Periyotları”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü (2008).
279. Alkan, S.S., “İğdır Ovası’nda Kapalı Alanlardaki Sivrisinek (Diptera: Culicidae) Türlerinin Örneklenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü (2008).
280. Hadfield, T.L., Turell, M., Dempsey, M.P., David, J., Park E.J., “Detection of West Nile virus in mosquitoes by RT-PZR”, *Molecular and Cellular Probes*, 15, 147–150 (2001).
281. Roiz D., Vazquez, A., Rosà, R., Muñoz, J., Arnoldi, D., Rosso, F., Figuerola, J., Tenorio, A., Rizzoli, A., “Blood meal analysis, flavivirus screening, and influence of meteorological variables on the dynamics of potential mosquito vectors of West Nile virus in northern Italy”, *Journal of Vector Ecology*, 37 (1): 20-28 (2012).
282. Bradford, C.M., “Effects Of Weather On Mosquito Biology, Behavior, And Potential For West Nile Virus Transmission On The Southern High Plains Of Texas”, Doctor Of Philosophy, Graduate Faculty Of Texas Tech University, (2005).
283. Kunkel, K.E., Novak, R.J., Lampman, R.L., Gu, W., “Modeling The Impact Of Variable Climatic Factors On The Crossover Of *Culex Restauns* And *Culex Pipiens* (Diptera: Culicidae), Vectors Of West Nile Virus In Illinois”, *Am J Trop Med Hyg*, 74(1):168–173 (2006).
284. Ruiz, M.O, Chaves, L.F., Hamer, G.L., Sun, T., Brown, W.M., Walker, E.D., Haramis, L., Goldberg, T.L., Kitron, U.D., “Local impact of temperature and precipitation on West Nile virus infection in *Culex* species mosquitoes in northeast Illinois, USA”, Ruiz et al. *Parasites & Vectors*, 3: 19 (2010).

285. Ward, M.R., Stallknecht, D.E., Willis, J., Conroy, M.J., Davidson, W.R., “Wild Bird Mortality And West Nile Virus Surveillance: Biases Associated With Detection, Reporting, And Carcass Persistence”, *Journal of Wildlife Diseases*, 42(1):92-106 (2006).
286. Savage, H. M., Ceianu, C., Nicolescu, G., Karabatsos, N., Lanciotti, R., Vladimirescu, A., Laird, L., Ungureanu, A., Romanca, C., Tsai, T. F., “Entomologic And Avian Investigations Of An Epidemic Of West Nile Fever In Romania In 1996, With Serologic And Molecular Characterization Of A Virus Isolate From Mosquitoes”, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 61(4): 600–611 (1999).
287. Komar, N., Panella, N.A., Burns, J.E., Duszka, S.W., Mascarenhas, T.M., Talbot, T.O., “Serologic Evidence for West Nile Virus Infection in Birds in the New York City Vicinity During an Outbreak in 1999”, *Emerg Infect Dis*, 7: 4 (2001).
288. Nemeth, N.M., Bowen, R.A., “Dynamics Of Passive Immunity To West Nile Virus In Domestic Chickens (*Gallus Gallus Domesticus*)”, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 76(2): 310–317 (2007).
289. Andreadis, T.G., F. Anderson, J.F., Vossbrinck, C.R., Main, A.J., “Epidemiology of West Nile Virus in Connecticut: A Five-Year Analysis of Mosquito Data 1999–2003”, *Vector-Borne Zoonotic Dis*, 4, 360–378 (2004).
290. Fyodorova, M.V., Savage, H.S., Lopatina, Bulgakova, T.A., Ivanitsky, A.V., Platonova, O.V., Platonov, A.E., “Evaluation of Potential West Nile Virus Vectors in Volgograd Region, Russia, 2003 (Diptera: Culicidae): Species Composition, Bloodmeal Host Utilization, and Virus Infection Rates of Mosquitoes”, *J. Med. Entomol*, 43(3): 552-563 (2006).
291. Barker, C.M., Bolling, B.G., Black, W.C., Moore, C.G., Lars Eisen, L., “Mosquitoes and West Nile virus along a river corridor from prairie to montane habitats in eastern Colorado”, *Journal of Vector Ecology* 34 (2): 276-293 (2009).
292. Freitas, F.B., Novo, M.T., Esteves, A., Almeida, A.P.G., “Species composition and WNV screening of mosquitoes from lagoons in a wetland area of the Algarve, Portugal”, *Front. Physio.* 2: 122 (2012).

- 293.** Monaco, F., Lelli, R., Teodori, L., Pinoni, C., Gennaro A.D., Polci A., Calistri, P., Savini, G., “Re-Emergence of West Nile Virus in Italy”, *Zoonoses Public Health*, 57: 476–486 (2010).
- 294.** Papa, A., Xanthopoulou, K., Tsioka, A., Kalaitzopoulou, S., Mourelatos, S., “West Nile virus in mosquitoes in Greece”, *Parasitol Res.* DOI 10.1007/s00436-013-3302-x. (2013).
- 295.** Katalin, S.G., László, A., Mihály, T., Gábor, K., Zoltán, S., Ádám, D., Károly, E., Krisztián, B., Ádám, B., Ferenc, J., Tamás, B., “Monitoring of West Nile Virus in Mosquitoes Between 2011–2012 in Hungary.”, *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 14(9): 648-655 (2014).
- 296.** Vázquez, A., Sánchez-Seco, M.P., Ruiz, S., Molero, F., Hernández, L., Moreno, J., Magallanes, A., Tejedor, C.G., Tenorio, A., “Putative New Lineage of West Nile Virus, Spain”, 16: 3 (2010).
- 297.** Medina, G.E., Sandoval, E.A., Rentería, T.B, López, G., Mora, A.D, Pujol, L.C., “West Nile Virus detection by RT-PCR from mosquitoes in a locality of Baja California, Mexico”, *Rev Latinoam Microbiol* , 50 (3-4): 83-86 (2008).
- 298.** Ozdenerol, E., Bialkowska-Jelinska E., Taff, G.N., “Locating suitable habitats for West Nile Virus-infected mosquitoes through association of environmental characteristics with infected mosquito locations: a case study in Shelby County, Tennessee” *International Journal of Health Geographics*, 7:12 (2008).
- 299.** Turell, M.J., Mores, C.N., Dohm, D.J., Komilov, N., Paragas, J., Lee, J.S., Shermuhemedova, D., Endy, T.P., Kodirov, A., Khodjaev S., “Laboratory Transmission of Japanese Encephalitis and West Nile Virus as by Molestus Form of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) Collected in Uzbekistan in 2004”, *J. Med. Entomol*, 43(2): 296-300 (2006).
- 300.** Filipe, A.R., “Isolation in Portugal of West Nile virus from *Anopheles maculipennis* mosquitoes”, *Acta Virol*, 163: 61 (1972).

- 301.** Fontenille, D., Rodhain, F., Digoutte, J.P., Mathiot, C., “Les cycles de transmission du virus West Nile a Madagascar, Ocean Indien” *Ann Soc Belge Med Trop* 69: 233-243 (1989).
- 302.** (CDC) Centers for Disease Control and Prevention, “Epidemic/enzootic West Nile virus in the United States: guidelines for surveillance, prevention, and control [monograph on the Internet]”, Available from <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/resources/wnv-guidelines-aug-2003>, 3rd revision, (2003).
- 303.** Turell, M.J., Sardelis, M.R., O’Guinn, M.L., Dohm, D.J., “Japanese encephalitis and West Nile viruses”, In: Mackenzie J, Barrett A, Deubel V, editors, *Current topics in microbiology and immunology*, Berlin: Springer-Verlag, (2002).
- 304.** Clements, A.N., “Biology of mosquitoes”, CABI Publishing (1999).
- 305.** Sousa, C.A, Pinto, J., Almeida, P.G., Ferreira, C., Rosário, V.D., Charlwood, J.D., “Dogs as a favored host choice of *Anopheles gambiae sensu stricto* (Diptera: Culicidae) of Sao Tome West Africa”, *J Med Entomol*, 38, 122–125 (2001).
- 306.** Mwangangi, J.M., Mbogo, C.M., Nzovu, J.G., Githure, J.I., Yan, G., John C., Beier, J.C., “Blood-meal analysis for anopheline mosquitoes sampled along the Kenyan coast”, *J. Am. Mosq. Control. Assoc*, 19, 371–375 (2003).
- 307.** Ruiz, S., Soriguer, R., Alcaide, M., Viana, D.S., Roiz, D., Va’zquez, A., Figuerola, J., “Feeding Patterns of Potential West Nile Virus Vectors in South-West Spain”, *Joaqui’n Mun˜ oz, PLoS ONE*, 7:6 e39549 (2012).
- 308.** Tsai, T.F., Popovici, F., Cernescu, C., Campbell, G.L., Nedelcu, N.I., for the Investigative Team., “West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania”, *Lancet*, 352: 767–771 (1998).
- 309.** Calistri, P., Giovannini, A., Hubalek, Z., Ionescu, A., Monaco, F., Savini, G., Lelli R., “Epidemiology of West Nile in Europe and in the Mediterranean Basin. The Open Virology Journal, 4, 29-37 (2010).

## 7. ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı :** Özge KUÇLU

**Doğum Yeri :** Konya/ Ereğli

**Doğum Tarihi :** 07.09.1987

**Medeni Hali :** Bekar

**Yabancı Dili :** İngilizce

### **Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)**

**Lise :** Arifiye Lisesi

**Lisans :** Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

**Yüksek Lisans:** Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

**Doktora:** Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

### **Yayımları (SCI ve diğer)**

Kuçlu, Ö., Demirci, B., Aldemir, A., “Türkiye’nin Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi’nden *Aedes vexans* Meigen, 1830 (Diptera: Culicidae)’in Doğal Populasyonlarının Morfometrik Analizi” Journal of Vector Ecology 36 (1): 30-41. 2011.

Kuçlu, Ö., Alkan, S.S., Bedir, H., Ağdaş, Ö., Kaçar, E., Demirci, B., Baysal, A., Aldemir, A., “Seasonal Dynamics of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Animals barns Houses in Aras Valley, Turkey”, IX. Ekoloji Ve Çevre Kongresi (Nevşehir).

Kuçlu, Ö., Bedir, H., Demirci, B., Aldemir, A., “Türkiye’nin Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi’nden *Aedes vexans* Meigen, 1830 (Diptera: Culicidae)’in Doğal Populasyonlarının Morfometrik Analizi” KARS ( poster yarışması 2. Ödülü)

Aldemir, A., Özbel, Y., Bedir, H., Demirci, B., Koç, E., Kuçlu, Ö., “Aras Vadisi Sivrisinek (Diptera: Culicidae) ve Tatarcık (Diptera: Psychodidae) Türleri” Aras Havzasi I. Uluslararası Paraziter Hastalıklar Sempozyumu, (19-21 Mart 2011, Nahçıvan).

Bedir, H., Kuçlu, Ö., Erdem, F., Demirci, B., Aldemir, A., “Türkiye İçin Altı Yeni Sivrisinek Kaydı”, In: 17. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Kafkasya ve Ortadoğu Paraziter Hastalıklar Sempozyumu, Kars, Türkiye, 161 (2011).

### **Katıldığı Konferanslar**

IX. Ekoloji ve Çevre Kongresi(Nevşehir)

XI. Türkiye Kuş Konferansı(Kars)

XVII. Uluslararası Parazitoloji Kongresi (KARS)

Batı Nil Virusu Sempozyumu (Ankara)

### **Yer Aldığı Projeler**

Tunceli ili'nin karasal biyolojik çeşitlilik ve iç su ekosistemleri biyolojik çeşitlilik envanter ve izleme işi. (Omurgasız hayvanlar uzman yardımcısı)

Aras Havzası ve Kars Platosu sivrisineklerinde Batı Nil Virusu varlığının Moleküler Yöntemlerle Araştırılması

Batı Karadeniz Bölgesi Culicidae ve Culicoides Faunasının Araştırılması

## **EKLER**

### 1. Çalışmada Kullanılan Materyaller

#### 1.1. Kullanılan Kimyasallar

**Etidyum bromür:** 10 mg/ml stok solüsyonu hazırlandı.(SİGMA Katalog no: E 8751)

**Tris:** MERCK Katalog no: 1.08387

**Tris HCL:** SİGMA Katalog no:05432

**EDTA:** FLUKA Katalog no: 03620

**İzopropanol:** Riedel de haen Katalog no: 24137

**NaOAc ( Sodyum orta asetat):**

**TE:** Tris ve EDTA

**Etanol** (Riedel de haen Katalog no:071029): Farklı konsantrasyonlarda etanoller kullanıldı (% 70, % 75, % 90 ve % 100).

**Kloroform:** Sigma, Katalog no:C2432

**10X TBE:** 108 gr trizma base (Sigma katalog no: 114K5415) ve borik asit (Fluka) 600 ml H<sub>2</sub>O da iyice çözülür. Daha sonra üzerine 40 ml 0.5M EDTA (FLUKA Katalog no: 03620) eklenir. Toplam hacim 1 lt' ye tamamlanır.

#### 1.2. Kullanılan Cihazlar

**Santrifüj:** THERMO IC santrifüj, BECKMAN COULTER firmasına ait microfuge 22R türü soğutmalı santrifüj ve BECKMAN COULTER Avanti J 30I kullanıldı.

**PZR Aleti:** BİONER firmasına ait iCycler thermal model PZR aleti kullanıldı.

**Agaroz Jel Elektroföresi:** Thermo EC25090

**UV Jel Görüntüleme:** Uvitec M02 4611

**Vortex:** IKA MS2

**Su banyosu:** Memmert D-91126

**Isı bloğu:** Thermoblock Clifton B11

**Nanodrop spektrofotometre:** Metek ND-100

**Terazi:** Ohaus pro AV812

### 1.3. Kullanılan Kitler

**QIAquick PZRpurification kiti** (QIAGEN cat no: 268106)

**RevertAid first strand cDNA sentez kiti** (Fermentas cat no: K1622).

Kit için kullanılan kimyasallar aşağıda belirtildiği gibidir:

**Kullanılan reaksiyon tamponu:** 5x M-MLV RTase Buffer; 250 mM Tris-HCl  
(Promega Cat. No: M531)

**RNazin ribonükleaz inhibitörü:** 2500 U, Konsantrasyon: 40 u/μl (Promega Cat. No: N2511)

**M-MLV RTaze büyüklüğü:** 50 000 U, Konsantrasyon: 200 U/μl (Promega Cat. No: M1705)

**Oligo dT18primer:** 5'CTTAATTTTTTTTTTTTTTTT3', Melting Temp: 36 °C

**Kullanılan DNA polimeraz kitleri:**Fermentas Taq polimeraz seti (5u/μl)

Biyoinformatik Analizlerde Kullanılan Programlar

Toplanan örnekleri ve BNV'ye ait bilgileri değerlendirebilmek için çeşitli biyoinformatik programlar kullanıldı. Bunlar;



GeneTool (Versiyon 1.0): Gene ait restriksiyon analizi, primer tasarımı gerçekleştirilmesi gereken nokta mutasyonlarının belirlenmesi, yatay ve dikey hizalamalarda bu program kullanıldı.

ClustalW (1.83): Dikey hizalama ve filogenetik ağaç analizlerinin oluşturulacağı programlara veri hazırlanmasında kullanıldı.

MEGA programı ile filogenetik ağaç oluşturuldu