



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK VİROLOJİ ANABİLİM DALI**

**ORTA VE DOĞU KARADENİZ BÖLGESİNDE TİCK-BORNE
ENCEPHALİTİS VİRUSU' NUN (TBEV) EVCİL
RUMİNANTLARIN (SİĞİR, KOYUN VE KEÇİ) SÜTLERİNDE
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Sedat ORMANCI

Danışman
Prof. Dr. Harun ALBAYRAK

SAMSUN

2024

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK VİROLOJİ ANA BİLİM DALI**



**ORTA VE DOĞU KARADENİZ BÖLGESİNDE TİCK-BORNE
ENCEPHALİTİS VİRUSU' NUN (TBEV) EVCİL
RUMİNANTLARIN (SIĞIR, KOYUN VE KEÇİ) SÜTLERİNDE
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Sedat ORMANCI

Danışman

Prof. Dr. Harun ALBAYRAK

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.VET.1904.23.011 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN

2024

TEZ KABUL VE ONAYI

Sedat ORMANCI tarafından, **Prof. Dr. Harun ALBAYRAK** danışmanlığında hazırlanan “**ORTA VE DOĞU KARADENİZ BÖLGESİNDE TİCK-BORNE ENCEPHALİTİS VİRUSU’ NUN (TBEV) EVCİL RUMİNANTLARIN (SIĞIR, KOYUN VE KEÇİ) SÜTLERİNDE VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 2.8.2024 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Dilek MUZ Namık Kemal Üniversitesi Veterinerlik Virolojisi Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Harun ALBAYRAK Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veterinerlik Virolojisi Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Turhan TURAN Cumhuriyet Üniversitesi Veterinerlik Virolojisi Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Emre ÖZAN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veterinerlik Laboratuvar Hayvanları Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Cüneyt TAMER Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veterinerlik Virolojisi Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

05/07/ 2024

Sedat ORMANCI

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: ORTA VE DOĞU KARADENİZ BÖLGESİNDE TİCK-BORNE ENCEPHALİTİS VİRÜSÜ' NÜN (TBEV) EVCİL RUMİNANTLARIN (SIĞIR, KOYUN VE KEÇİ) SÜTLERİNDE VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 05/07/2024 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 0.08

Tek kaynak oranı : % 0.04 çıkmıştır.

05/07/ 2024

Prof. Dr. Harun ALBAYRAK

ÖZET

ORTA VE DOĞU KARADENİZ BÖLGESİNDE TİCK-BORNE ENCEPHALİTİS VİRÜSÜ' NÜN (TBEV) EVCİL RUMİNANTLARIN (SİĞİR, KOYUN VE KEÇİ) SÜTLERİNDE VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Sedat ORMANCI
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Veterinerlik Virolojisi Ana Bilim Dalı
Doktora, Ağustos/2024
Danışman: Prof. Dr. Harun ALBAYRAK

Kene kaynaklı ensefalit (TBE), kene kaynaklı ensefalit virusunun (TBEV) neden olduğu, Avrupa ve Asya'da insanlarda MSS enfeksiyonlarıyla karakterize ciddi bir hastalıktır. Zoonotik bir flaviviral enfeksiyon olan Tick-born encephalit virusu (TBEV) Avrasya'nın büyük bölümünde endemiktir. TBEV'in ana rezervuar konakları keneler ve kemirgenlerdir ancak evcil hayvanlar da virusla enfekte olabilir. TBE enfeksiyonları ruminantlarda asemptomatik olup enfekte konakçılarda sağlık sorunlarına yol açmamaktadır. İnsan sağlığına yönelik risk, enfekte ruminantların sütündeki TBEV, gıda kaynaklı TBE enfeksiyonunun ana kaynağıdır. Son yıllarda, TBE insidansındaki artışın yanı sıra TBE'nin coğrafi yayılımındaki artış da dikkat çekmektedir. İnsanlar tesadüfi konakçılardır, enfekte bir kenenin ısırmasıyla veya gıda yoluyla TBEV ile enfekte ruminantların pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimi ile enfekte olurlar.

Ülkemiz ve bölgemiz TBE'in bulaşmasında ana vektör olan *Ixodes ricinus*) kenelerin yaşam alanlarına benzer iklim ve coğrafya alanlarına sahiptir. Ülkemizde ve bölgemizde gıda kaynaklı TBEV'nin durumu ile ilgili herhangi bir veri bulunmamaktadır. Bu çalışma ülkemizde ve Orta Karadeniz bölgesinde gıda kaynaklı pastörize edilmemiş sütlerde TBEV'nin varlığı ile ilgili yapılan ilk epidemiyolojik çalışmadır. Bu amaçla Samsun, Giresun, Trabzon, Amasya, Tokat ve Sivas illerinden pastörize edilmemiş taze süt toplanmıştır. Her ilden 150 (sığır-50, koyun-50, keçi-50), toplam 900 ruminanttan (sığır-300, koyun-300, keçi-300) numune alındı. Toplanan numunelerde real-time reverse transcriptase PCR (rtRT-PCR) metodu ile viral nükleik asit yönünden araştırıldı. Yapılan moleküler tarama sonucunda örneklenen pastörize edilmemiş sütlerde TBEV RNA' sına rastlanmamıştır. Bu çalışma sonucunda Orta Karadeniz Bölgesinde sütlerde TBEV halk sağlığı açısından risk oluşturmadiğı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Keçi, Koyun, Real time RT PCR, Sığır, Süt, TBEV

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE PRESENCE OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS (TBEV) IN THE MILK OF DOMESTIC RUMINANTS (CATTLE, SHEEP AND GOATS) IN THE CENTRAL AND EASTERN BLACK SEA REGION

Sedat ORMANCI

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Veterinary Virology

Ph.D., August/2024

Supervisor: Prof. Dr. Harun ALBAYRAK

Tick-borne encephalitis (TBE) is a serious disease caused by tick-borne encephalitis virus (TBEV) and characterized by CNS infections in humans in Europe and Asia. Tick-borne encephalitis virus (TBEV), a zoonotic flaviviral infection, is endemic in much of Eurasia. The main reservoir hosts of TBEV are ticks and rodents, but domestic animals can also be infected with the virus. TBE infections are asymptomatic in ruminants and do not cause health problems in infected hosts. Risk to human TBEV in the milk of infected ruminants is the main source of foodborne TBE infection. In recent years, the incidence of TBE has been accompanied by an increase in the geographical spread of TBE. Humans are incidental hosts, becoming infected the bite of an infected tick or through the consumption of unpasteurized milk dairy products of ruminants infected with TBEV by the digestive route.

Our country and region have similar climatic and geographical areas to the habitats of *Ixodid* (*Ixodes ricinus*) ticks, the main vector of TBE transmission. There is no data on the status of foodborne TBEV in our country and region. This study is the first epidemiological study on the presence of foodborne TBEV in unpasteurized milk in our country and the Central Black Sea region. For this purpose, unpasteurized fresh milk was collected from Samsun, Giresun, Trabzon, Amasya, Tokat and Sivas provinces. Samples were collected from 150 (cattle-50, sheep-50, goat-50) and 900 ruminants (cattle-300, sheep-300, goat-300) from each province. The collected samples were analyzed for viral nucleic acids using real-time reverse transcriptase PCR (rtRT-PCR) method. As a result of molecular screening, TBEV RNA was not detected in unpasteurized milk samples. As a result of this study, it was concluded that TBEV in milk in the Central Black Sea region does not pose a public health risk.

Keywords: Cattle, Goat, Milk, Sheep, Real time RT PCR, TBEV

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Bilgi ve desteğiyle doktora eğitimimin tamamlanmasını sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Harun ALBAYRAK'a, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veterinerlik Virolojisi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Semra GÜMÜŞOVA'ya, Sayın Prof. Dr. Zafer YAZICI'ya, Sayın Doç.Dr. Emre ÖZAN'a, Sayın Doç.Dr. Cüneyt TAMER'e, örnek toplamada ve tez yazım aşamasında emeği geçen Dr. Yunus KILIÇOĞLU'na, Dr. Ahmet İsa ELHAG'a, Dr. Bahadır MÜFTÜOĞLU'na, Dr. Hanne Nur KURUÇAY'a, Veteriner Hekim Gizem AKAY'a, Veteriner Hekim Doğukan TOPAL'a, Vet. Sağ. Tek. Bülent DURMUŞ'a, Vet. Sağ. Tek. Muhammed ÖVECİK'e, Tokat, Atakum, Vezirköprü, Şebinkarahisar, Yomra, Of, Merzifon, Gümüşhacıköy, Şarkışla Tarım ve Orman Müdürlüklerinde çalışan Veteriner Hekim arkadaşlarıma ve çiftçilerimize, desteklerini esirgemeyen Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürü Sayın İsmail AYDIN'a teşekkür ederim. Veteriner Hekimlik mesleğini seçmemde ve icra etmemde rol model aldığım, Veteriner Hekim Muhsin YAZICIOĞLU'nu rahmetle anıyorum. Tezimin her aşamasında desteğini esirgemeyen sevgili eşim Veteriner Hekim Dr. Neslihan ORMANCI'ya, çocuklarım Tuğçe Sena, Ali Eren, Muhsin Gökay'a, annem Emine ORMANCI'ya, rahmetli babam Zümer ORMANCI'ya, kardeşlerim Necmi, İbrahim, İsmail, Sami, Hanife ve Semra'ya sevgi ve saygılarımı sunarım.

Bu tez, PYO.VET.1904.23.011 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI.....	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
1.GİRİŞ.....	1
2. TICK-BORNE ENCEPHALİTİS VİRUS.....	3
2.1. Tanım	3
2.2. Tarihçe.....	3
2.3. Etiyoloji.....	5
2.3.1. Sınıflandırma.....	5
2.3.2. Viral Yapı	6
2.3.3. Viral Replikasyon	7
2.4. Kimyasal ve Fiziksel Ajanlara Karşı Duyarlılık.....	9
2.5. Epidemiyoloji.....	10
2.5.1. Dünya’ da TBEV’ in Epidemiyolojisi.....	10
2.5.2. Ülkemizde TBEV’ in Epidemiyolojisi.....	13
2.6. Patogenez.....	15
2.7. Bulaşma	18
2.7.1.Kene Kaynaklı Bulaşma	18
2.7.2. Gıda Kaynaklı Bulaşma.....	20
2.7.3.Diğer Yollarla Bulaşma.....	22
2.8. Klinik Bulgular.....	23
2.9.Teşhis	27
2.9.1. Laboratuvar Teşhis.....	28
2.10. Tedavi.....	32
2.11. Koruma ve Kontrol	33
2.12. Amaç	35
3. MATERYAL VE METOT	37
3.1.Materyal.....	37
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Sütlerin Temini:.....	37

3.1.2. RNA Ekstraksiyon kiti, Real-Time PCR Kiti, Primerler ve Prob	38
3.2. Metot.....	39
3.2.1. Süt Örneklerinin Hazırlanması.....	39
3.2.2. RNA Ekstraksiyonu	39
3.2.3. Minimum Teşhis Limitinin Belirlenmesi	40
3.2.4. Real-Time RT-PCR.....	41
3.2.5. Hücre Kültürü ve Virus İzolasyonu	42
4. BULGULAR.....	43
4.1. Minimum Teşhis Limitinin Hesaplanması.....	43
4.2. Real Time RT-PCR Sonuçları.....	43
5. TARTIŞMA.....	45
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR.....	54
ÖZ GEÇMİŞ.....	67

SİMGELER VE KISALTMALAR

A549	: İnsan Akciğer Adenokarsinom Hücreleri
BBB	: Kan Beyin Bariyeri
BHK-21	: Bebek Hamster Böbrek Hücreleri
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
C	: Kapsid
CFA	: Kompleman Fiksasyon Deneyi
D. Reticulatus	: Dermacentor reticulatus
DC	: Dentritik Hücre
DENV	: Dang Virusu
E	: Zarf
ECDC	: Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi
ELISA	: Enzyme linked immunosorbent assay
ER	: Endoplazmik Retikulum
HI	: Hemaglutinasyon İnhibisyon
HSA	: Human serum albümin
HTST	: Yüksek sıcaklık, kısa zaman
I. Persulcatus	: Ixodes persulcatus
I. Ricinus	: Ixodes ricinus
ICTV	: International Committee on Taxonomy of Viruses
IF	: İmmünofloresan
IFA	: İmmünofloresan testi
IFN	: İnterferon
Ig	: İmmünoglobulin
IgA	: İmmünoglobulin A
IgG	: İmmünoglobulin G
IgM	: İmmünglobulin M
IIFT	: İmmunoflorasan antikor testi
JEV	: Japon Ensefalit Virusu
KKEV	: Kene Kaynaklı Ensefalit Virus
KSIV	: Karshi virus
LGTV	: Langat virus
LIV	: Louping ill virus

M	: Membran
MBV	: Meaban Virusu
mRNA	: Mesengger RNA
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NK	: Doğal öldürücü
Nt	: Nükleotid
ORF	: Açık okuma bölgesi
PCR	: Polimeraz chain reaction
POWV	: Powassan Virusu
preM	: Premembran
PRNT	: Plaque reduction neutralization test
RdRp	: RNA bağımlı RNA polimeraz
RNA	: Ribonükleik asid
rRT-PCR	: Real-time revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu
RT-PCR	: Revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu
SLE	: St. Louis Ensefalitis
SNT	: Serum nötralizasyon testi
SPF	: Spesifik patojen içermeyen
ssRNA	: Tek Sarmallı Ribonükleikasit
TBE	: Tick-borne encephalitis
TBEV- FE	: TBEV Uzakdoğu
TBEV	: Tick-borne encephalitis virus
TBEV-Bkl	: TBEV Baykal
TBEV-EU	: TBEV Avrupa
TBEV-Him	: TBEV Himalaya
TBEV-Sib	: TBEV Sibirya
USUV	: Usutu Virusu
Vero	: African Green Monkey
WNV	: West Nile Virusu
YFV	: Sarı Humma Virusu
ZIKV	: Zika Virusu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. TBEV Viral Yapısı.....	6
Şekil 2.2. TBEV Yaşam Döngüsüne Genel Bakış.....	9
Şekil 2.3. Avrupa ve Asya’da TBEV’nin Alt Tiplerinin Dağılımı.....	11
Şekil 2.4. TBEV Enfeksiyonunun Engelleri.....	15
Şekil 2.5. TBE Virus Enfeksiyonu Sırasındaki Adımların Şematik Çizimi	16
Şekil 2.6. İksodid Kenelerin Yaşam Döngüsü İçinde TBEV Bulaşma Yolları.....	18
Şekil 2.7. TBEV Vektörlerinin Dağılımı.....	19
Şekil 2.8. Deneysel olarak enfekte edilen koyun, inek ve keçilerin süt ve kanındaki TBEV viral titrelerinin karşılaştırılması.....	24
Şekil 2.9. Klinik semptomlar, virüs replikasyonu ve spesifik anti-TBE antikorlarının gelişimi ile TBE'nin doğal seyri.....	29
Şekil 3.1. Örnek Toplanan Bölgeler.....	37
Şekil 4.1. Minimum Teşhis Limitinin Hesaplanması ve Real Time RT-PCR Sonuçları.....	43
Şekil 4.2. Örneklerle ait rRT PCR sonuçları.....	43
Şekil 4.3. Vero hücre kültürü.....	44

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo.2.1. TBEV'in kan-beyin bariyerini geçtiği varsayılan yollar.....	17
Tablo 3.1. Ömeklenen bölgeler ve rakımlar.....	37
Tablo 3.2. Ömeklenen hayvan ırkları ve yaşları	38
Tablo 3.3. TBE için primerler ve problemler.....	39
Tablo.3.4. RNA Ekstraksiyonu.....	40
Tablo 3.5. Real Time PCR miks bileşenleri.....	41



1. GİRİŞ

Kene kaynaklı ensefalit (Tick-borne encephalitis, TBE), Avrupa ve Asya'daki en önemli kene kaynaklı viral hastalıkların başında gelmektedir. Dünya genelinde yılda 10.000'den fazla vaka bildirilmektedir (Yoshii, 2019). TBE, insanlarda ve hayvanlarda MSS'ni etkileyerek menenjit, ensefalit, meningo ensefalit ve miyelit gibi nörolojik belirtilere neden olan kene kaynaklı en şiddetli viral zoonotik enfeksiyonlardan biridir. TBE insanlarda genellikle kene ısırıkları sonucunda ve özellikle *Ixodes spp.* türleri tarafından meydana getirilir (Omazic et al., 2023). Tick-borne encephalitis virus (TBEV) esas olarak *Ixodes ricinus* ve *Ixodes persulcatus* gibi enfekte sert keneler tarafından bulaştırılır, ancak diğer kene türleri de konakçı olarak hareket edebilir ve bulaşma kene ısırmasından birkaç dakika sonra gerçekleşir (Worku, 2023).

TBE, 2012 yılından bu yana Avrupa Birliği'nde bildirim zorunlu bir hastalıktır. Kene kaynaklı bulaşma dışında, enfekte inek, keçi ve koyunlardan elde edilen pastörize edilmemiş süt veya süt ürünlerinin tüketimi de önemli bulaş kaynağıdır (Cisak et al., 2010; Paulsen et al., 2019; Dobler et al., 2021; Lickova et al., 2021; Gonzalez et al., 2022). Virus taşıyan kene ile enfekte olan ruminantlar klinik semptom göstermeden sütleriyle virüsü saçarlar (Gresikova et al., 1975; Cisak et al., 2010; Gonzalez et al., 2022). Pastörizasyon, virüsü inaktive ederek bulaşmasını önler (Ronai and Egyed, 2020).

TBEV enfeksiyonlarının görülme sıklığı giderek artmakta ve büyüyen bir sağlık endişesi oluşturmaktadır (Suss and Kahl, 2011; Pustijanac et al., 2023).

TBEV, genellikle *Ixodes* cinsi keneler ve küçük memeliler arasında dolaşır ancak büyük memeliler ve göç eden kuşlar da virusun coğrafi dağılımına ve yayılmasına katkıda bulunur (Gonzalez et al., 2022). TBEV'in giderek geniş coğrafyalara düzensiz yayılımı hem teşhis edilmesini hem de önlenmesini zorlaştırmaktadır. Buna bağlı olarak TBEV enfeksiyonlarının sporadik olarak ortaya çıkması riskiyle karşı karşıya bırakmaktadır (Deviatkin et al., 2020; Gonzalez et al., 2022).

TBE morbidite ve mortalite oranları, viral alt tiplerine göre farklılıklar göstermektedir. Son otuz yılda, TBE'nin yayılması Avrupa ve Asya'da önemli bir endişe kaynağı haline gelmiştir. Özellikle, yeni endemik alanların ortaya çıkmasının

yanı sıra, TBE risk alanlarının daha önce etkilenmemiş bölgelere doğru genişlemesi söz konusudur (Lindquist and Vapalahti, 2008; Pustijanac et al., 2023).

TBE bir halk sağlığı tehdidi olarak iyi çalışılmış olsa da bu zoonotik hastalığın veteriner hekimliği yönünden araştırılmasında göreceli eksiklikler bulunmaktadır. Hayvanlardaki TBEV, süt yoluyla tüketicilere bulaşma potansiyeli nedeniyle çok uzun bir süre evcil geviş getiren hayvanlara özgü bir sorun olarak görülmüştür. Süt pastörizasyonunun icadı ve sığır yetiştiriciliğinde hijyen yönetimindeki genel gelişmelerle birlikte bu tür vakalar sürekli olarak azalırken, keçi ve koyun sürüleri hala TBEV ile enfektekenelere maruz kaldıkları geleneksel yetiştirmeye tabi tutulmaktadır (Lindquist and Vapalahti, 2008; Dobler et al., 2021). Başka bir deyişle, sanayileşmiş ülkelerde bile çiğ süt ürünlerinin tüketimi TBE enfeksiyonu kapmak için bir risk faktörü olmaya devam etmektedir. Toplumda işlenmemiş süt ürünleri tercih etmeye yönelik bir eğilim devam ettikçe, beslenme yoluyla bulaşan TBEV enfeksiyonları gelecekte daha sık görülebilir (Dobler et al., 2021).

Keneler, viremik omurgalı konakçılardan, çoğunlukla küçük kemirgenlerden (sivri fareler) kan emerken veya enfekte olan ve enfekte olmayan kenelerin birlikte beslenmesiyle TBEV ile enfekte olur. Virus daha sonra kenelerin yaşam döngüsünde transtadial veya nadir de olsa transovarial olarak devam eder (Hennechart-Collette et al., 2022; Topp et al., 2023).

Gerek besin değeri gerekse aroması nedeniyle pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinde artan tüketim, nadiren de olsa pastörizasyon işlemindeki aksaklıklar gıda kaynaklı TBE enfeksiyonlardaki artış bu alanda çalışmaya bizleri yönlendirmiştir. Bu çalışmada süt kaynaklı TBEV'nin epidemiyolojisinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

2. TICK-BORNE ENCEPHALİTİS VİRUS

2.1. Tanım

Etken Flaviviridae ailesi *Orthoflavivirus* cinsine ait olan *Orthoflavivirus encephalitis*'tir (Worku, 2023). TBE, Avrupa ve Asya'nın birçok bölgesinde görülen viral bir hastalıktır (Bohm et al., 2017). İnsanlarda merkezi sinir sisteminde genellikle şiddetli ensefalit ve miyelit dahil olmak üzere uzun süreli nörolojik semptomlarla sonuçlanır. Virus, ormanlık habitatlarda bulunan enfekte kenelerin (*Ixodes ricinus* ve *Ixodes persulcatus*) ısırmasıyla bulaşır (Salat and Ruzek, 2020). Köpekler ve atlar gibi evcil türlerde TBE enfeksiyonu, şiddetli insan vakalarında görülenlere benzer klinik belirtilerle ortaya çıkabilir. Ruminantlarda bu tür enfeksiyonlar tipik olarak asemptomatiktir (Suss and Kahl, 2011; Paulsen et al., 2019). Bununla birlikte, bu tür asemptomatik enfeksiyon insanlar için daha büyük bir risk oluşturmaktadır. Örneğin, enfekte ruminantların sütünde TBEV bulunması, insan TBE enfeksiyonu için bir kaynak oluşturabilir (Paulsen et al., 2019). Son on yılda, yıllık TBE vakalarının sayısı TBE'nin endemik olduğu bölgelerin yanı sıra yeni ortaya çıkan bölgelerde de artmıştır (Wallenhammar et al., 2020). TBEV enfeksiyonu pastörize edilmemiş süt ürünlerinin tüketilmesiyle de bulaşır (Garcia et al., 2022). Coğrafi dağılımları dışında, beş alt tip de klinik semptomlar da farklılık gösterir (Selinger et al., 2022). Avrupa Birliği'nde ve Ülkemizde insanlarda bildirimi zorunlu bir hastalıktır. Son yirmi yılda bildirilen TBE vakalarında bir artış olmuştur (Worku, 2023).

2.2. Tarihçe

TBE klinik olarak ilk kez 18. yüzyılda tanımlanmış olup, etken TBEV günümüzde *Orthoflavivirus encephalitis* olarak tanımlanmaktadır. TBE'nin ilk tıbbi tanımı 1931 yılında Avusturyalı doktor H. Schneider tarafından yapılmıştır (Donoso-Mantke et al., 2011).

1937-39 yıllarında Rusya Sağlık Bakanlığı, ilk 1914'te görülen ancak 1933'ten sonra daha sık ortaya çıkan ve 'tayga ensefaliti' veya 'bifazik meningoensefalit' olarak adlandırılan merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonlarının kökenini aydınlatmak amacıyla Uzak Doğu'ya art arda üç sefer düzenledi. Keşif gezileriyle hastalığın viral kökenli olduğu ve *I. persulcatus* kenesinin virusun ana vektörü olduğunu ortaya çıkarıldı. Yeni tanımlanan hastalığa 'Rus ilkbahar-yaz ensefaliti' (ya da Uzak Doğu

veya tayga ensefaliti) adı verildi (Donoso-Mantke et al., 2011; Dobler et al., 2021). TBE virusu ilk kez 1939 yılında Mikhail Petrovich Chumakov ve N.A. Zeitlenok tarafından ölen bir hastanın beyninden izole edilmiştir (Pogodina et al., 2004; Lindquist and Vapalahti, 2008; Donoso-Mantke et al., 2011; Worku, 2023).

Tarihsel olarak bifazik süt humması olarak adlandırılan gıda yoluyla bulaşan TBE, ilk kez 1947 ve 1951 yılları arasında Rusya'nın Avrupa kısmında tanımlanmıştır. Bu hastalık türü keçi sütü tüketimiyle ilişkilendirilmiş ve tipik olarak aynı kaynaktan pastörize edilmemiş süt tüketen insan gruplarını (örn. aileler) etkilemiştir. Subklinik TBEV enfeksiyonları geliştiren enfekte keçiler, sütlerini tüketen insanlar için enfeksiyon kaynağı olarak tanımlanmıştır (Lickova et al., 2021).

Orta Avrupa'da TBE virusu ilk olarak İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra 1948 yılında Çekoslovakya'daki hasta insanlardan izole edilmiştir. Eş zamanlı olarak, virus *I. ricinus*'tan da izole edilmiş ve bu dakenenin hastalığın vektörü olarak rol oynadığını göstermiştir (Donoso-Mantke et al., 2011; Dobler et al., 2021).

Çekoslovakya'da TBE'nin tanımlanmasından kısa bir süre sonra virus Macaristan, Polonya, Bulgaristan, Yugoslavya, Avusturya, Romanya, Almanya, Finlandiya ve İsveç'te tanımlanmıştır. Eş zamanlı olarak, virus Kuzey Çin ve Japonya'da da ortaya çıkmıştır. Güney Kore'de TBE virusu moleküler olarak başarılı bir şekilde tespit edildiği bildirilmiştir (Kim et al., 2009; Ko et al., 2010; Donoso-Mantke et al., 2011).

Çiğ süt tüketimi nedenli tanımlanmış ilk TBEV salgını, 1951 yılında Slovakya'nın Roznava şehrinde 271'i meningoensafalit belirtileriyle olmak üzere toplamda hastaneye başvuran 660 kişide tespit edilmiştir. Hastaların çoğu, yerel bir mandıradan dağıtılan keçi sütü ile karıştırılmış yetersiz ısı işlem görmüş inek sütü tükettiği bildirilmiştir (Ruzek et al., 2010; Lickova et al., 2021).

1992-93 yıllarında Letonya, Litvanya, Polonya ve Belarus'taki ani artışlar (2 ila 30 kat) Estonya, Almanya, Slovakya ve Çek Cumhuriyeti'ndeki belirgin ancak daha az artışlar dikkati çekmektedir. TBE vakaları Rusya'da 1970'lerin ortalarından bu yana, İsviçre, İsveç ve Finlandiya'da ise 1980'lerin ortalarından bu yana düzenli olarak artmıştır. Yaygın sistematik aşılama kapsamına sahip tek ülke olan Avusturya'da TBE insidansı 1980'lerin başından bu yana kademeli olarak azalmıştır (Donoso-Mantke et al., 2011; Dobler et al., 2021).

Avusturya’da 2008 yılında 1500m rakımda pastörize edilmemiş keçi ve inek sütünden yapılan peyniri tüketenlerde hastalık bildirilmiştir (Holzmann et al., 2009; Garcia-Vozmediano et al., 2020).

Romanya’da da 1999-2006 yılları arasında toplam 37 TBE vakasından 17 gıda kaynaklı TBE vakası bildirilmiştir (Salat et al., 2017).

En az 10 Avrupa ülkesinde gıda kaynaklı TBEV enfeksiyonları bildirilmiştir. Ülkeler arasında farklılık görülmektedir. Gıda yoluyla bulaşan TBEV vakalarının en fazla bildirildiği ülkeler Çek Cumhuriyeti, Polonya, Macaristan ve Slovakya’dır. Bazı ülkelerde (Hırvatistan, Almanya ve Slovenya) sadece birkaç salgın bildirmiştir (Lickova et al., 2021; Kunze et al., 2022) .

2.3. Etiyoloji

2.3.1. Sınıflandırma

Hastalık etkeni Tick-Borne Encephalitis Virusu 2023 yılına kadar *Flaviviridae* ailesi, *Flavivirus* cinsinde yer almaktaydı. Mart-2023’ den itibaren *Flaviviridae* ailesi, *Orthoflavivirus* cinsi, *Orthoflavivirus encephalitidis* olarak adlandırılmaktadır (Worku, 2023; ICTV, 2023).

Tick-Borne Encephalitis Virusu (TBEV) Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi’nin (International Committee on Taxonomy of Viruses; ICTV) 2023 taksonomisine göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır (ICTV, 2023):

Üst Alem: *Riboviria*
Alem: *Orthonavirae*
Şube: *Kitrinoviricota*
Sınıf: *Flasuviricetes*
Takım: *Amarillovirales*
Aile: *Flaviviridae*
Cins: *Orthoflavivirus*
Tür: *Orthoflavivirus encephalitidis*

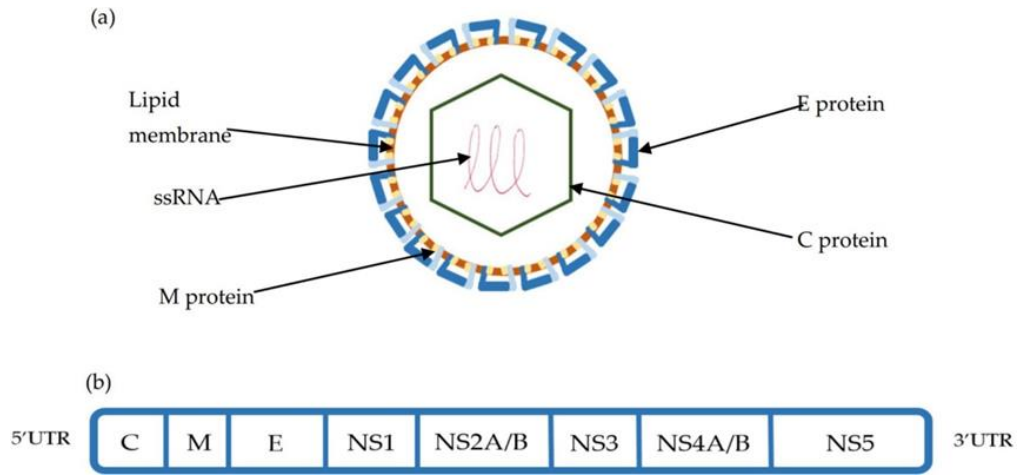
Avrupa, Sibirya ve Uzak Doğu olmak üzere üç alt tipi bulunan TBEV’in (her biri amino asitlerinde %5-6 varyasyonla ayrılır) son yapılan filogenetik çalışmalar ile Himalaya ve Baykal olmak üzere iki alt tip daha tanımlamıştır. İlk üçünün aksine, Himalaya ve Baykal alt tipleri coğrafi olarak sınırlıdır. Daha az çalışılmış olmasına rağmen izole edildikleri şiddetli insan hastalığı vakası nedeniyle öne çıkabilecekleri düşünülmektedir (Chambers and Diamond., 2003; Lindqvist et al., 2020; Worku, 2023).

Genel olarak, TBEV'in Avrupa alt tipi yaygın olup, Tunus ve Güney Kore'ye kadar rapor edilmiştir ve benzersiz bir şekilde bifazik olarak ortaya çıkabilir. Uzak Doğu/Sibirya alt tiplerine (%20-40 vaka ölüm oranı) kıyasla Avrupa TBEV'inin ilişkili ölüm oranı düşük olsa da (%0,5-2 vaka ölüm oranı), uzun vadeli sekellerle daha sık ilişkilidir (Taba et al., 2017; W. Fares et al., 2021; Phipps and Johnson, 2022; Springer et al., 2022; Worku, 2023).

Flaviviruslar bulaşma yollarına göre üç alt gruba ayrılırlar. 1) Sivrisinek kaynaklı (Örn. Sarı humma virusu (YFV), Japon ensefalit virusu (JEV), Zika virusu (ZIKV), Dang humma virusu (DENV), Batı nil virusu (WNV), 2) Kene kaynaklı (örn, Tick-Borne Encephalitis Virus (TBEV), Powassan virusu (POWV), Louping ill virusu (LIV),) ve 3) Vektörü bilinmeyen flaviviruslar (örn. Rio Bravo virusu) (Rathore and St John, 2020; Vilibic-Cavlek et al., 2022).

2.3.2. Viral Yapı

TBEV, üç yapısal(C, M, E) ve yedi yapısal olmayan(NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) proteini kodlayan 10 genden oluşmaktadır (Şekil.2.1.). Pozitif polariteli, zarflı, tek bir poliproteini kodlayan, 11 kb uzunluğunda tek iplikli RNA genomuna sahiptir (Lickova et al., 2021; Worku, 2023).



Şekil.2.1. TBEV viral yapısı (Worku, 2023)

(a) Kapsid (C), Membran (M) ve Zarf (E) proteinlerinden oluşan TBEV viral yapısı. E proteini hücresel bağlanmanın ayrılmaz bir parçasıdır ve konakçı humoral yanıtının hedefidir. (b) Tek sarmallı RNA (ssRNA) açık okuma çerçevesinin (ORF) yapısı 3' ve 5' çevrilmemiş bölgeler. Bu ORF, viral ve konak proteazlar kullanılarak 3 yapısal (C, M, E) ve 7 yapısal olmayan proteine (NS1-NS5) ayrılır (Worku, 2023).

ORF'dan türetilen poliprotein hem viral hem de hücresel proteazlar tarafından ayrılır (Heinz and Allison, 2003; Fuzik et al., 2018). Nükleokapsidi oluşturmak için

ssRNA genom C-proteini bulunur. RNA kodlamayan dizileri, genom replikasyonu, translasyon ve viral partikül montajında cis-düzenleyici unsurlar olarak yer alan ikincil yapılar oluşturur (Yoshii, 2019; Pulkkinen et al., 2022; Worku, 2023).

E proteini, reseptör aracılı endositozu kullanan ve bağışıklık tepkisinin ana hedefi olan TBEV'nin hücreye girişinde görevlidir (Pulkkinen et al., 2022). Hücreye girişin ardından TBEV, endoplazmik retikulumda (ER) yaptığı değişikliklerle hücresel süreçleri azaltır böylelikle TBEV genom replikasyonunu teşvik edilir ve yeni sentezlenen TBEV RNA'sı korunmuş olur (Miorin et al., 2013). Hücresel ve viral proteazların poliproteini parçalamasıyla, serbest kalan NS1 proteini hekzamerik kompleksler oluşturarak TBEV'in kompleman aracılı yıkımını azaltmaya çalışır (Pulkkinen et al., 2018). Hepatit C örneğinde olduğu gibi, NS2-NS3 proteinleri hem proteaz hem de helikaz aktivitesine sahipken, NS4 ve NS5 hücresel antiviral yanıtın aşağı regülasyonunda rol oynar. Ayrıca NS5 proteini, konak transkripsiyon faktörleri ve promotörlerle birlikte TBEV replikasyonunun düzenlenmesine yardımcı olan RNA'ya bağımlı RNA polimerazı (RdRp) kodlar (Miorin et al., 2013; Pulkkinen et al., 2018; Worku, 2023).

Nükleokapsid, konak hücre kaynaklı lipidlerden oluşan viral zarf ile kaplı, genom, C proteini, M ve E glikoproteinlerinden oluşur. Glikoprotein E, TBEV'in ana antijenidir, reseptör bağlanması ve membran füzyonundan sorumludur (Fuzik et al., 2018; Pulkkinen et al., 2022; Kwasnik et al., 2023).

Son yıllarda, Flavivirus genomlarının kodlamayan RNA bölgelerinin yapısı ve diziliminin büyük işlevsel öneme sahip olduğu doğrulanmıştır. TBEV'in 5' kodlamayan bölgesi (UTR) ve 3' UTR'sinin genom replikasyonu için önemli olduğu varsayılmaktadır (Morozova et al, 2007; Upstone et al., 2023). TBEV'in 5' UTR'sinde, konakçı mRNA taşıma sistemini ele geçirerek nörovirülansa aracılık eden ve böylece TBEV genomik RNA'sının çoğaldığı nöronal dendritlere taşınmasına izin veren bir cis-etkili RNA elementinin tanımlandığını bildirilmiştir (Kwasnik et al., 2023).

2.3.3. Viral Replikasyon

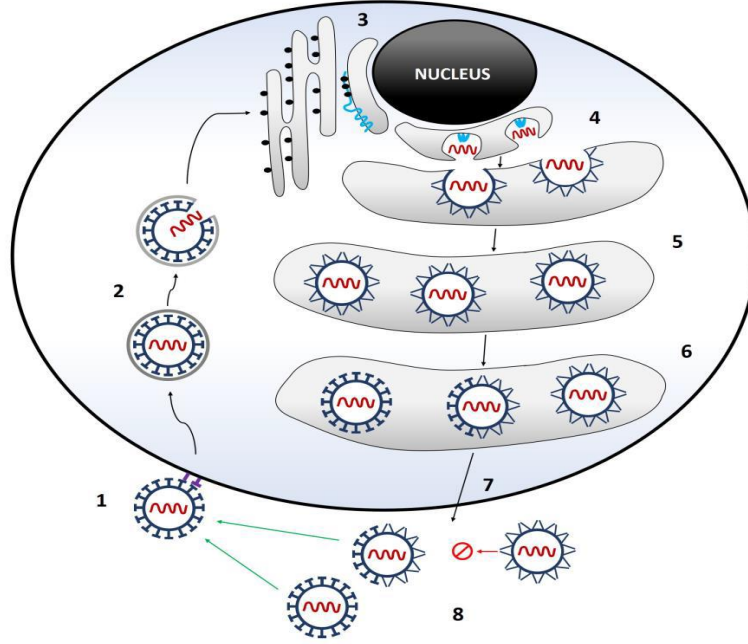
Pozitif polariteli viruslerin RNA'sı mRNA görevi gördüğünden direk olarak protein sentezini başlatma yeteneğine sahiptir. TBEV replikasyonunun ilk aşaması virusun konak hücre yüzeyine tutunmasını içerir. Bu bağlanma, virus partiküllerinin hücrelere reseptör aracılı bağlanması yoluyla kolaylaştırılır (Cruz-Oliveira et al., 2015;

Neufeldt et al., 2018). İlişki, viral zarf E proteini ile çeşitli omurgalı ve kene hücrelerinin membranlarında bol miktarda temsil edilen hücresele glükozaminoglikan heparan sülfat arasında gerçekleşir (Kroschewski et al., 2003; de Boer et al., 2012; Pustijanac et al., 2023). Mikropinositoz yoluyla giriş de mümkün olmakla birlikte, virusun konak hücrelere birincil giriş şekli reseptör aracılı endositozdu (van der Schaar et al., 2008; Pulkkinen et al., 2018; Pustijanac et al., 2023). Endozomlar içindeki asidik pH ortamı E zarf proteininde konformasyonel değişiklikleri tetikleyerek yeniden dağılmasına neden olur (Stiasny et al., 2011; Chao et al., 2014). Virus hücre sitoplazmasına girdikten sonra, nükleokapsid genomik RNA'yı serbest bırakır. Viral protein sentez süreci, mRNA'nın transkripsiyon ve translasyonunun ardından viral genomun replikasyonu ile başlatılır (Kwasnik et al., 2023; Pustijanac et al., 2023).

Viral genomun replikasyonu iki adımdan oluşur.

1. Viral genomun amplifikasyonu genomik RNA'nın şablon görevi gören negatif kutuplu bir RNA kopyasına dönüştürülmesi.

2. Ardından pozitif polariteli RNA'nın RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RNA replikaz) tarafından transkripsiyonu. Pozitif polariteli RNA, genomik RNA'nın tamamlayıcısıdır. TBEV genomu başlangıçta ER'de tek bir poliprotein olarak çevrilir. Bu poliprotein daha sonra hem viral hem de konakçı enzimler tarafından bölünerek hem yapısal hem de yapısal olmayan proteinlerin oluşmasına yol açar (Pustijanac et al., 2023). Translasyondan sonra, prM ve E proteinleri ER lümenine taşınır. C proteininin birkaç kopyasından ve genomik RNA'nın bir kopyasından oluşan nükleokapsid, ER membranının sitoplazmik tarafında oluşur. Daha sonra, nükleokapsid ER'den tomurcuklanır ve bu süreçte bir lipid zarf kazanır (Şekil 2.2). (Miller and Krijnse-Locker, 2008).



Şekil 2.2. TBEV Yaşam Döngüsüne Genel Bakış (Pustijanac et al., 2023).

1) Virus hücre yüzeyindeki bir reseptöre bağlanır ve endositoz yoluyla hücreye girer. 2) Hücre içine girdikten sonra, geç endozomun asidik ortamı viral ve endozomal membranların füzyonunu tetikleyerek virusun kaplamasının açılmasına yolaçar. 3) Granüllü endoplazmik retikulumun (ER) hücre ribozomları viral proteinleri sentezler. 4) Virus, genetik materyalini ER'de virus tarafından indüklenen invaginasyonlar içinde çoğaltır. Yeni sentezlenen genomlar daha sonra ER'nin sitoplazmik tarafındaki C proteini tarafından yakalanır. 5) Viral genetik materyali içeren nükleokapsid kompleksi, membran yoluyla ER lümenine tomurcuklanarak lipid bir zarfla birlikte yapısal E ve M proteinlerini elde eder. 6) Olgunlaşmamış viral partiküller Golgi ağı boyunca taşınır ve burada asidik trans-Golgi ortamında olgunlaşmaya uğrarlar. 7) Olgun viral partiküller, kısmen olgun ve olgunlaşmamış partiküller, enfekte olmuş hücreden salınır. 8) Olgun ve kısmen olgun partiküller yeni bir enfeksiyon döngüsü başlatabilirken, olgunlaşmamış partiküller diğer hücrelerle kaynaşmadıkları için enfeksiyöz değildir (Pustijanac et al., 2023).

Yüzeylerinde M ve E proteinlerini taşıyan olgun, enfeksiyöz virusler ekzositoz yoluyla hücreden salınır (Heinz and Allison, 2003; Pustijanac et al., 2023).

2.4. Kimyasal ve Fiziksel Ajanlara Karşı Duyarlılık

TBEV sütte 4°C'de iki haftaya kadar hayatta kalabilir ve çok az titre kaybına uğrar. Bu nedenle standart önleyici tedbirler, insanlarda gıda yoluyla TBEV enfeksiyonu riskini önlemek için süt ve süt ürünlerinin pastörizasyonunu içerir (Lickova et al., 2021).

Genel olarak, flaviviruslar 50°C'de hızla inaktive olurlar; 10 dakika içinde enfektivitenin %50'si kaybolur (Gritsun et al., 2003). TBEV, sıcaklığa ve deterjanlara karşı nispeten hassas olan zarflı bir RNA virusudur. Bununla birlikte, TBEV sütle karıştırıldığında mide suyunda 2 saate kadar enfeksiyöz kalır. TBEV sütte sadece 65°C'de 30 dakika ısıtıldıktan sonra enfektivitesini kaybeder (Lickova et al., 2021).

Bekletme yöntemi (63°C'de 30 dk.) virusu kısmen ortadan kaldırırken, kısa pastörizasyon yöntemi (10 saniye boyunca 72°C'de) virusu tamamen inaktive eder. Kısa kaynatma yöntemi (3 dakika boyunca 100°C'de) enfektif virus partiküllerini tamamen yok etmek için en güvenli yöntemdir (Balogh et al., 2012).

Virus çiğ sütte 4°C'de 3 hafta ve çiğ süttten yapılan peynirde 2 hafta boyunca enfektivitesini sürdürür. Hem pastörizasyon hem de tuzla salamura işlemi keçi sütü ve peynirini tüketim için güvenli hale getirmiştir (Lickova et al., 2021).

Uluslararası Süt Ürünleri Birliği sütün 15 saniye boyunca 72°C'ye kadar ısıtılarak pastörize edilmesini ve ardından hemen soğutma sıcaklıklarına (4°C) soğutulmasını önermektedir (Buczek et al., 2022). Hem hızlı (72°C, 15 sn) hem de yavaş pastörizasyonda (63°C, 30 dk) TBE virusu enfektivitesini kaybeder. Kene kaynaklı ensefalit virusu sıcaklık ve deterjanlara karşı nispeten hassastır, ancak mide suyunda (pH 1.49-1.80) iki saate kadar enfektivitesini korur. pH 2-3'te inaktive olur. Etanol ve metanol'a duyarlıdır (Ronai and Egyed, 2020; Kwasnik et al., 2023; WOA, 2024).

2.5. Epidemiyoloji

2.5.1. Dünya' da TBEV' in Epidemiyolojisi

TBEV, vektörleri (farklı tür ve cins keneler) ve rezervuar konakçılarının (kemirgenler ve küçük memeliler) etkileşimde olduğu doğal yaşam alanlarında bulunur. TBEV'in Avrupa alt tipi (TBEV-EU) Avrupa'da yaygın olmasına karşın Rusya, Güney Kore, Batı ve Doğu Sibirya'da da izole edilmiştir. Uzak Doğu alt tipi (TBEV-FE) Avrasya'nın uzak doğu bölgesinde bulunmakla birlikte bazı suşları Avrasya'nın diğer bölgelerinde de izole edilmiştir. Sibirya (TBEV-SIB) alt tipi en yaygın olanıdır ve neredeyse tüm TBEV habitat alanlarında bulunmaktadır (Şekil.2.3). Baykal alt tipi Baykal Gölü çevresinde yaygın olup kene ve kemirgenlerden izole edilmiştir. Doğu Sibirya ve Çin'de tek bir TBEV izolatu (178-79) olarak yeni tanımlanan Himalaya alt tipi bildirilmiştir (Dobler et al., 2021). Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) her yıl 28 Avrupa ülkesinden (Rusya ve İsviçre dahil değildir) veri toplamaktadır (Panatto et al., 2022). TBE, 27 Avrupa ülkesinde endemik olup en önemli kene kaynaklı viral hastalık olarak kabul edilmektedir (Kunze et al., 2022). Avrupa' da *Ixodes ricinus* keneleri en yaygın TBEV vektörüdür.

Avrupa'da, *I. ricinus* TBEV-EU'nun ana vektörü olarak işlev görür ancak vektör kapasitesi *Dermacentor reticulatus* da bildirilmiştir (Beaute et al., 2018).

Avrupa ve Asya'da her yıl 10.000'den fazla TBE vakası görülmektedir (Lindquist and Vapalahti, 2008). TBE, Fransa'dan Kuzey Japonya'ya kadar olan çok geniş bir coğrafyada endemiktir (Şekil.2.3) (Suss and Kahl, 2011; Ocias et al., 2019; Banovic et al., 2022). Son 15-20 yılda hem TBEV'in yayılım alanlarında hem de TBE vakalarında artış görülmüştür (Panatto et al., 2022). 2019 yılında Avrupa'da 3411 TBE vakası bildirilmiş olup vaka ölüm oranı %0,7'dir. Avrupa'daki TBE tanıları 2015 ve 2020 yılları arasında iki katına çıkmıştır. Almanya, Norveç, Slovenya ve İsviçre bu artış hızında öne çıkmaktadır. Bununla birlikte, birçok Avrupa ülkesinde TBE'nin zorunlu olarak raporlanmadığı göz önüne alındığında, bu verilerin düşük bir tahmin olması muhtemeldir (Kunze et al., 2022; Worku, 2023).



Şekil.2.3. Avrupa ve Asya'da TBEV'nin Alt Tiplerinin Dağılımı (Kunze et al., 2022).

Noktalı mavi çizgi, TBEV-EU: Sibirya'da ve Baykal Gölü'ne kadar doğuda tespit edilen virus izolatları ile Avrupa'da yaygındır. Noktalı yeşil çizgi, TBEV-Sib: Sibirya ve Ural bölgesinde yaygındır ve virus izolatları Baltıklar ve Moldova'ya kadar batıda tanımlanmıştır. Noktalı gri çizgi, TBEV-FE: Rusya'nın uzak doğu bölgesinde yaygındır ve virus izolatları Baltık ve Moldova'ya kadar batıda tespit edilmiştir (Kunze et al., 2022).

Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) tarafından hazırlanan bir rapora göre, 2020 yılında en çok etkilenen AB/AEA ülkeleri arasında Litvanya (100.000 kişi başına 24,3 TBE vakası), Slovenya (8,9), Çekya (7,9), Letonya (7,8), Estonya (5,3), Slovakya (3,4), Avusturya (2,8), İsveç (2,6) ve Finlandiya (1,6) yer almaktadır. En yüksek sayıda teyit edilmiş vaka Çekya (849), Almanya (705) ve Litvanya (679) tarafından bildirilmiştir. Almanya'nın doğrulanmış vaka sayısı büyük nüfusunu yansıtmaktadır ve ülkede 100.000 kişi başına düşen oran <1'dir. Diğer ülkelerde (Belçika, Bulgaristan, Hırvatistan, Fransa, Macaristan, İtalya, Norveç ve

Polonya'da tahmini 100.000 kişi başına düşen oran da <1'dir) insidans nispeten düşüktür veya bazı ülkelerde (Kıbrıs, Danimarka, İzlanda, Lihtenştayn, Malta, Portekiz ve Birleşik Krallık) hiç vaka bildirilmemiştir. ECDC verilerine göre, TBE için bildirim oranı 2016'dan 2018'e kadar 0,6'da sabit kalmış, ardından 2019'da 0,7'ye ve 2020'de 0,9'a yükselmiştir (Panatto et al., 2022; Kwasnik et al., 2023). Vaka sayısı 2015 yılında 1779 olarak bildirilmişken 2020 yılında 3626 olarak bildirilmiştir. 2020 yılında Avrupa genelinde bildirilen kümülatif TBE vakalarının 2015 yılının iki katı olması dikkat çekicidir (Dobler et al., 2021). Bu dönemde ülkelerin %76'sında (13/17) bildirilen TBE vaka sayılarında artış gözlenmiştir. En önemlisi, Almanya, İtalya, Norveç, Slovenya ve İsviçre'de 2015'ten 2020'ye üç kattan fazla bir artış olmuştur (Dobler et al., 2021; Kunze et al., 2022).

Çin'deki yıllık TBE insidansının 2007-2018 yılları arasında 100.000 kişi başına 0,09'dan 0,44'e yükseldiği bildirilmiştir (Chen et al., 2019). Japonya'da, 2016 ve 2018 yılları arasında Hokkaido'nun geniş bir bölgesinde dört TBE vakası bildirilmiştir ve bunlar 1993'ten bu yana görülen tek vakalardır. Japonya'daki Hokkaido adasında TBEV için seropozitiflik oranı yabani kemirgenlerde yaklaşık %10-20 olduğu tahmin edilmektedir (Yoshii et al., 2017). Seropozitif köpekler, atlar ve geyikler de sporadik olarak tespit edilmiştir (Uchida et al., 2018). Kore Cumhuriyeti'nde insan ensefaliti vakaları artıyor olsa da, şimdiye kadar hiçbir TBE vakası doğrulanmamıştır (Kwasnik et al., 2023).

TBEV'in ortaya çıkışı yeni bölgelerde gözlemlenmektedir. Birleşik Krallık'ta TBEV'in ilk tespiti 2018 yılında Doğu Anglia'nın Thetford Ormanı bölgesinde toplanan kenelerde teyit edilmiştir (Holding et al., 2020). Hollanda'da karacaların serolojik taramasında %2 oranında TBEV antikorları görülmüştür (Jahfari et al., 2017). 2008 yılında Avusturya'nın Alp bölgesinde pastörize edilmemiş keçi sütü yoluyla altı insana ve dört evcil domuza TBEV bulaştığı bildirilmiştir. Bu veri, TBEV'den daha önce ari olduğu düşünülen Avusturya'nın yüksek rakımlı dağlık bölgelerine doğru genişlemesinin bir örneğidir. TBE daha önce deniz seviyesine özgü olduğu söylense de Avrupa' da artık 1000-1500 m rakımlarda yayılmaktadır (Holzmann et al., 2009; De Pelsmaecker et al., 2021; Kwasnik et al., 2023).

Şu anda TBE'nin önemli bir artış kaydedildiği Çekya, Avrupa Birliği'nde en yüksek vaka sayısına sahip olup uzun süredir Baltık ülkeleri ve Slovenya ile birlikte en yüksek insidans oranıyla dikkat çekmektedir (Panatto et al., 2022).

Son yirmi yılda, iklim ve çevresel değişiklikler, kenelerin alanının önemli ölçüde genişlemesine ve Avrasya'daki popülasyon boyutlarının artmasına katkıda bulunmuştur. Orta Avrupa'da konakçılara tutunan *I. ricinus* ve *D. reticulatus* gibi kenelerin faaliyet süresi, sıcaklıkların 0°C'yi aştığı ve artık kar tabakasının olmadığı kış aylarında bile görülmektedir (Mansfield et al., 2009; Buczek et al., 2022).

Hastalık genellikle kenelerin kan ile beslenmek için aktif olarak konakçı aradıkları Nisan-Kasım ayları arasında ortaya çıkmaktadır.

1997-2008 yılları arasında Çek Cumhuriyeti'nde gıda kaynaklı 64 adet TBE vakası tespit edilmiştir. Bu oran ülkede teşhis edilen tüm TBE vakalarının %0,9'una tekabül etmektedir. Sindirim sistemi enfeksiyonunun kaynağı olarak taze keçi sütü (%56,3), koyun peyniri (%32,8) ve inek sütü (%10,9) bildirilmiştir (Kriz et al., 2009).

Gıda kaynaklı (çiğ süt, peynir vb.) TBE vakaları Polonya, Estonya, Avusturya, Macaristan, Slovenya ve Norveç'te de bildirilmiştir. Moleküler çalışmalar ile çiğ sütte virüs RNA'sı Polonya'da %11,1-22,2 arasında, Norveç'te ise %5,4 oranında tespit edilmiştir (Matuszczyk et al., 1997; Holzmann et al., 2009; Cisak et al., 2010; Paulsen et al., 2019; Salat and Ruzek, 2020).

Almanya'da koyun ve keçilerde yapılan çalışmada %0-43 arasında değişen oranlarda seropozitiflik görülmüştür. Keçiler, hastalığın tespiti için gözlemci konak olarak kullanılmıştır (Klaus et al., 2012). İsviçre TBE seroprevalansı %4,3'tür. Ayrıca, keçilerin seropozitif olduğu üç bölgenin ikisinde, keneler TBEV pozitif test edilmiştir. Benzer şekilde, Romanya'da TBE-pozitif bölgelerin tespiti için koyunlar gözcü hayvanlar olarak kullanılmış ve yüksek antikor seroprevalansı (%15) tespit edilmiştir (Salat and Ruzek, 2020). Polonya'da, Avrupa'nın en büyük otoburu olan Avrupa bizonunda (*Bison bonasus*) TBEV'e karşı seroprevalans %63,5 düzeyinde kaydedilmiştir (Krzysiak et al., 2021).

2.5.2. Ülkemizde TBEV' in Epidemiyolojisi

Ülkemiz TBEV'in yayılımı için uygun coğrafi alanlar, iklim koşulları ve vektörlere sahiptir. Fakat TBEV'in epidemiyolojisi ve endemik bölgelerin varlığı ile ilgili bilgiler kısıtlıdır (Vatansever vd., 2008; Suss, 2008; Ergunay et al., 2011; Albayrak vd., 2012).

Türkiye'de TBEV ile ilişkili enfeksiyonların ilk kanıtları 1968'de üç MSS enfeksiyonu hasta insanın serumunda hemagglütinasyon inhibisyon(HI) testi ile saptanmıştır (Serter, 1980).

1980'de Ege Bölgesinde 1074 sağlıklı insandan alınan kan örneklerinden yapılan seroprevalans çalışmasında TBEV seropozitifliği HI testi ile %1,4, nötralizasyon testi ile %1,2 olarak bulunmuş ve bu bölgede TBE'nin sporadik olarak görülebileceği belirtilmiştir (Ergunay et al., 2011).

2006 yılında kene temas öykülü serum örneklerinin (n:278) 4'ünde (%1,4) ELISA testi ile TBEV antikoru tespit edilmiştir (Uyar vd., 2007). 2007'de Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yapılan araştırmada, ELISA testi ile TBEV IgG pozitifliği %10,5 (19/181), TBEV IgM pozitifliği ise %5 (9/181) tespit edilmiştir (Ergunay et al., 2007).

2009'da Ankara, Konya, Eskişehir ve Zonguldak'ta 2454 sağlıklı insanda TBEV seroprevalansı ELISA ve IIFT ile %1,9 olarak tespit edilmiş ve bir örnek PRNT ile doğrulanmıştır (Ergunay et al., 2011). 2010'da, Sinop'ta 273 insan serumunda IIFT ile % 2,6 oranında TBEV antikoru bildirilmiştir (Güneş vd., 2010).

Samsun'da 419 insan serum örneği ELISA testi ile test edilmiş, iki örnekte TBEV'ye özgü IgG ve bir örnekte IgM pozitifliği belirlenmiştir. Ancak bu örnekler nötralizasyon testi ile doğrulanamamıştır (Başbulut et al., 2012). Amasya (n:630), Tokat (n:60) ve Ordu (n:228) illerindeki insanlardan toplanan 918 *Ixodid* kenede TBEV varlığı, RT-PCR ile tespit edilememiştir (Karan vd., 2014).

2014'de Mersin'de 920 sağlıklı insandan alınan kan serumu örneğinden IIFT ile iki örnekte seropozitiflik saptanmasına karşın, bu örnekler PRNT ile doğrulanamamıştır (Tezcan et al., 2014). Ülkemizde çocuklarda yapılan serolojik çalışmada TBEV IgM pozitif tespit edilmiştir. Aynı çalışmada moleküler tanıda örneklerin hiçbirinde TBEV-RNA'sı tespit edilememiştir (Yılmaz et al., 2019).

2019'da Samsun, Tokat ve Sivas'ta hayvanlardan toplanan kan ve kene örneklerinde TBEV genomik RNA'sı saptanamazken, ELISA ile test edilen 460 sığır, keçi ve koyun kan serum örneklerinin 83'ünde (%18,4), TBEV antikoru bulunmuştur. Hayvan türlerine göre 198 sığırın 61'inde(%30,8), 115 keçinin 7'sinde(%6,1) ve 147 koyunun 15'inde(%10,2) antikor tespit edilmiştir. İllere göre pozitiflik oranı Samsun'da %12,7, Sivas'da %35,2 ve Tokat'ta %13,2 olarak bildirilmiştir (Asal vd., 2022).

2.6. Patogenez

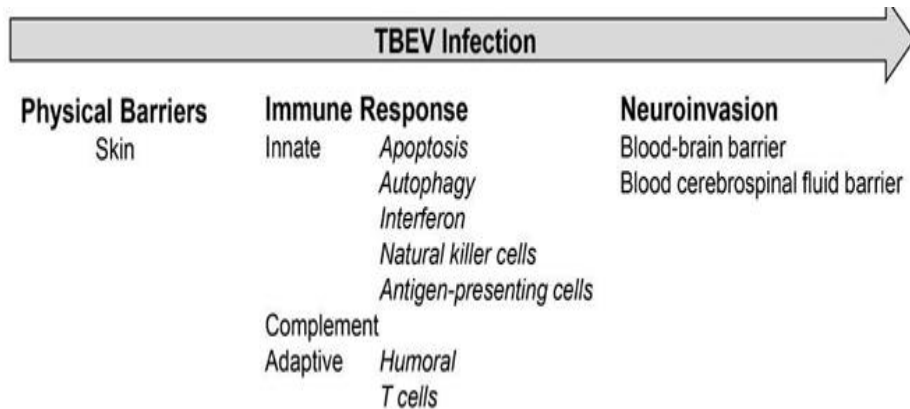
TBEV'nin enfeksiyona neden olması için;

1. Fiziksel bariyer,
2. Doğuştan gelen adaptif bağışıklık,
3. Kan beyin bariyeri.

Üç farklı bariyeri aşması gerekir.

Enfeksiyonun temizlenmesi için doğuştan gelen immün ve adaptif immün yanıtların tetiklenmesi gereklidir. TBEV, doğuştan gelen bağışıklık tepkisinden kaçmak için stratejiler kullanır (Dobler et al., 2021).

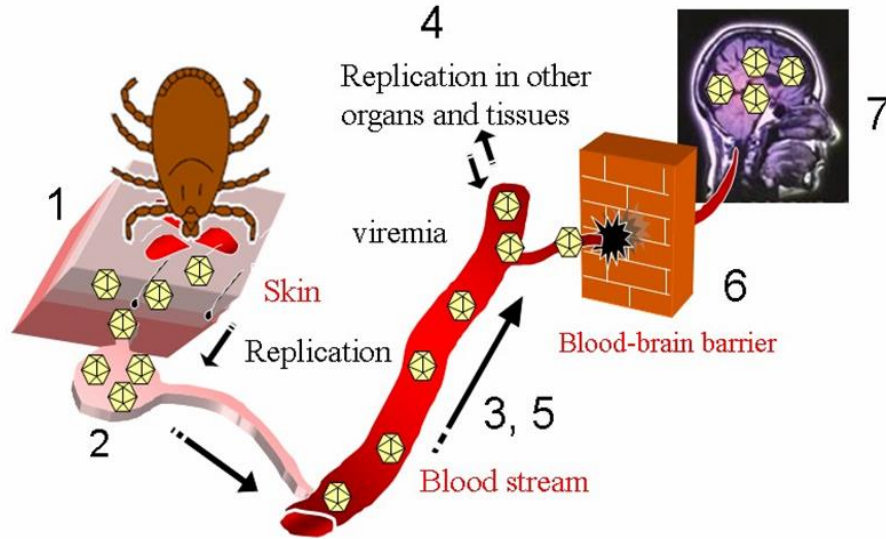
Konakçı, enfeksiyonlara karşı oldukça etkili savunma mekanizmalarına sahiptir (Şekil 2.4.). Enfeksiyonların büyük çoğunluğu deri, mukozal membranlar ve mide gibi fiziksel bariyerler tarafından engellenir. Ancak TBEV'e karşı bu ilk bariyer, kene tarafından kanla beslenme sırasında virusun konağın derisine doğrudan enjeksiyonu yoluyla aşılmış durumdadır. Bu, virusun lokal olarak deride ilk replikasyon aşamasına izin verir. İkinci bariyer, enfeksiyona tepki veren koordineli çalışan doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık tepkisidir. Doğuştan gelen bağışıklık yanıtı apoptoz, otofaji, tip I interferon (IFN) yanıtı ve doğuştan gelen hücre aracılı yanıtlar gibi hücre içi savunma mekanizmalarını içerir ve ardından virus replikasyonunu sınırlayan, patojenitede rol oynayan spesifik bir antikor yanıtı ve T hücrelerinin uyarılması ile adaptif bağışıklık yanıtları gelişir. Virus ikinci bariyeri aşarsa, periferik organlara yayılarak viremiye neden olacaktır. Üçüncü bariyer virusun BBB yoluyla, MSS girişini kontrol eder. Eğer aşılsa, virus nöronlarda çoğalır ensefalit ve menenjitte neden olur (Dobler et al., 2021).



Şekil.2.4. TBEV Enfeksiyonunun Engelleri (Dobler et al., 2021)

TBEV, vektörde (kene) taşınırken çok sayıda engelin bulunduğu bir yol kat eder (Hromnikova et al., 2022). TBEV ile enfekte olmuş bir kene yiyecek ararken bir insanı

ısırdığında, esasen ilk koruyucu bariyeri temsil eden deriyi deler (Palus et al., 2014). Beslenme sırasında kene tükürüğüyle viral partikülleri enjekte eder ve bunlar vücuda giriş noktasında deri altındaki nötrofillerde ve Langerhans hücrelerinde çoğalır (Maqbool et al., 2022). Kene tükürüğü, ağrı/kaşıntı tepkisini engelleyen, antikoagülanlar, antiplatelet bileşenler, vazodilatörler ve immünomodülatörler içeren farmakolojik olarak aktif bir bileşik görevi görür. Bu bileşikler viral bulaşmayı artırır (Kazimirova and Stibraniova, 2013; Wikel, 2013). Makrofajlar (göç eden monositler) viral partikülleri bölgesel lenf düğümlerine taşır ve burada çoğalarak viremiye neden olur. Virus kan yoluyla yayılmaya devam eder ve retiküloendotelial sisteme (dalak, karaciğer ve kemik iliği) ulaştıktan sonra viremi birkaç gün devam eder (Bogovic and Strle, 2015). Viremi sırasında, TBEV BBB' ni geçerek MSS'ye girer (Şekil 2.5) (Donoso-Mantke et al., 2011; Stone and Pinto, 2023).



Şekil 2.5. TBE Virus Enfeksiyonu Sırasındaki Adımların Şematik Çizimi (Donoso-Mantke et al., 2011). (1) TBE virusunun enfekte keneden bulaşması, (2) TBE virusunun bölgesel lenf düğümünde çoğalması, (3) birincil viremi, (4) virusun diğer organ ve dokularda çoğalması, (5) ikincil viremi, (6) TBE virusunun kan-beyin bariyerini geçmesi ve (7) beyin virus enfeksiyonu (Donoso-Mantke et al., 2011).

Nöronlar, MSS'deki TBEV enfeksiyonunun birincil hedefleri olmasına karşın MSS'ye kesin giriş şekli ve hücre reseptörleri hala tam olarak belli değildir (Fares et al., 2020; Selinger et al., 2022). Omurgalı hücreleri ile insan embriyonik hücrelerindeki laminin reseptörü ve glikozaminoglikanlar (heparan sülfat) gibi çeşitli reseptörler in vitro olarak gösterilmiştir (Pulkkinen et al., 2018). TBEV'in BBB'ni hangi mekanizma ile geçtiği tam olarak bilinmemektedir, ancak dört olası yol varsayılmıştır (Tablo 2.1.) (Marshall et al., 2022).

Tablo.2.1. TBEV'in kan-beyin bariyerini geçtiği varsayılan yollar

No.	Yol	Kaynak
1-	Periferik sinirlerin enfeksiyonundan sonra nöronlar aracılığıyla	(Stone and Pinto, 2023)
2-	Koku alma nöronlarının enfeksiyonu	(de Vries and Harding, 2023)
3-	Kapiller endotelin enfeksiyonu ve beyin parankimine transsitoz	(Marshall et al., 2022)
4-	Kapiler endotel hücrelerinden yüksek geçirgenliğe sahip kan-beyin bariyerinden difüzyon yoluyla	(Stone and Pinto, 2023)

Dendritik hücreler (DC'ler), enfeksiyondan sonra TBEV ile karşılaşan ilk bağışıklık sistemi hücreleridir. Bu ilk aşamada DC'ler, IFN- α üretimini ve antijenin sunumunu içeren doğuştan gelen bağışıklık yanıtının başlatılmasında son derece önemli bir rol oynar (Bieber and Autenrieth, 2020). TBEV DC'ler tarafından alındıktan sonra, DC olgunlaşması meydana gelir ve pro-enflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin ve tip-I IFN'lerin üretimiyle sonuçlanır (Shevtsova et al., 2016).

Makrofajlar'da TBEV'in hedefidir (Petry et al., 2021). Antijen sunan hücreler olarak işlev gören makrofajlar ana koruyucu fonksiyona sahiptirler. Sekonder lenfatik organlarda bulunan T ve B hücreleri ayrılmış TBEV'i ortaya çıkarır ve TBEV'in dolaşımdan temizlenmesinden sorumludurlar (Vincenti and Merkle, 2021).

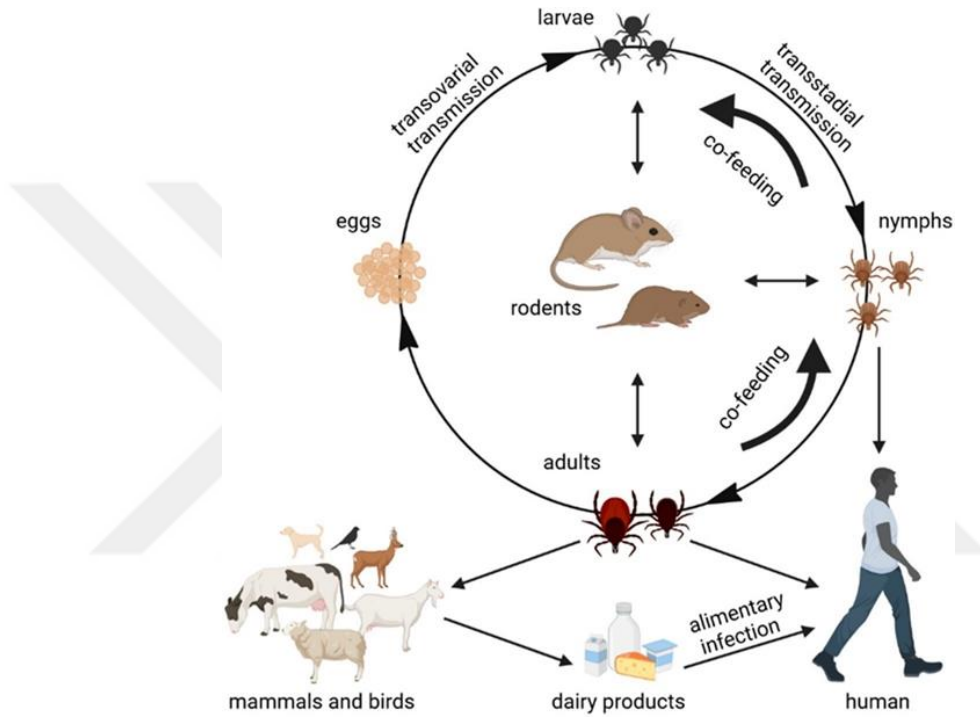
Aynı şekilde, doğal öldürücü (NK) hücreler de TBEV ile enfekte olmuş hücrelerin tanınması ve ortadan kaldırılmasına katılmaktadır, ancak rolleri tam olarak aydınlatılamamıştır (Blom et al., 2018).

TBEV ile enfeksiyonun bağırsak yolu, enfekte hayvanların (koyun, keçi, inek) pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimi ile ilişkilidir (Lickova et al., 2021). Normal mide suyunda TBEV iki saate kadar stabildir (Buczek et al., 2022). DC'ler, TBEV sindirim sistemine girdikten sonra onunla temas eden ilk bağışıklık sistemi hücreleridir; yani TBEV ile enfekte olan bağırsak epitel hücrelerinden DC'lere aktarılır (Kubinski et al., 2020). Bu enfeksiyon yolunun artmış bir bağışıklık tepkisiyle sonuçlandığı ve hastalığın daha hafif bir formu olan "bifazik süt ateşi" ile sonuçlandığı bildirilmektedir (Buczek et al., 2022; Pustijanac et al., 2023).

2.7. Bulaşma

2.7.1.Kene Kaynaklı Bulaşma

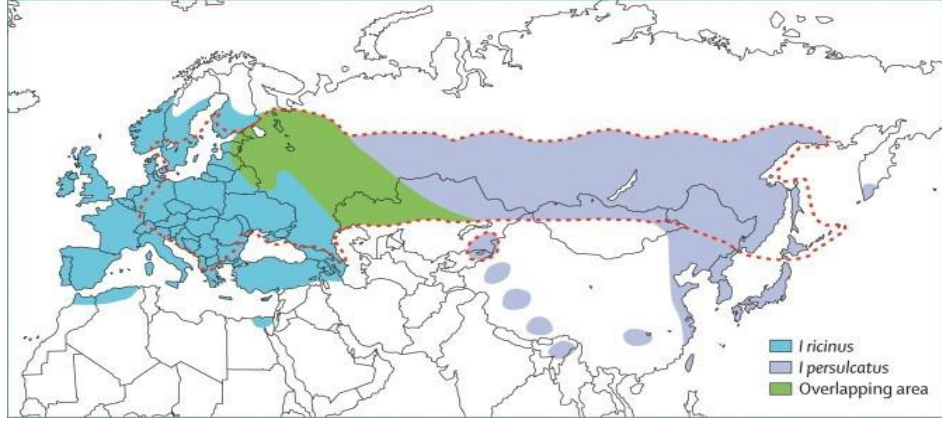
Enfekte olmuş bir kişiden kan emen keneler, doğrudan virüsü enfekte olmamış konağa bulaştırabildiği gibi yakın mesafede birlikte beslenen enfekte keneler de, enfekte olmamış kenelere bulaştırabilmektedir. TBE'nin endemik olduğu bölgelerde kenelerin rezervuar konakçı olarak kullandıkları küçük memeliler üzerinde hem larva hem nimf formları aynı anda beslenirken görülebilir (Phipps and Johnson, 2022).



Şekil.2.6. İksodid Kenelerin Yaşam Döngüsü İçinde TBEV Bulaşma Yolları (Lickova et al., 2021)

TBEV esas olarak *I. ricinus* ve *I. persulcatus* gibi enfekte sert keneler tarafından bulaştırılır. Diğer kene türleri de vektör olarak hareket edebilir. Bulaşma kene ısırmasından birkaç dakika sonra gerçekleşir (Lindquist and Vapalahti, 2008; Worku, 2023).

TBEV-Eu'nun ana vektörü *I. ricinus* kenesi olmasına rağmen başta *I. persulcatus* ve *D. reticulatus* olmak üzere diğer sert keneler de vektörlük yapabilir. Uzak Doğu ve Sibirya TBEV'inin vektörleri *I. persulcatus* ve *I. ovatus* keneleridir (Şekil 2.7.) (Worku, 2023).



Şekil 2.7. TBEV Vektörlerinin Dağılımı (Lindquist and Vapalahti., 2008)

TBEV'de *Ixodes* kenesi ana vektördür, kemirgenler (tarla fareleri) ise vireminin sürdürülmesine yardımcı olan rezervuar konakçılardır (Borde et al., 2021; Worku, 2023). Kemirgenler keneler için ara konak olarak kabul edilir. Kenelerde gerçekleşen transovarial/transtadial bulaşma ile birlikte enfekte olan kenelerin, enfekte olmayan kenelere aynı kemirgen üzerinde beslenirken bulaştırıyor olması rezervuar konak popülasyonunda TBEV'nin kalıcı olarak devamına katkı sağladığı gerçeğini açıklamaktadır (Borde et al., 2021; Worku, 2023).

Keneler viremik konakçılarla beslenerek (viremik bulaşma) veya enfekte bir keneye birlikte beslenerek (viremik olmayan bulaşma) enfekte olabilirler (Bakhvalova et al., 2006). Virusun diğer bulaşma yolları arasında dikey transovarial bulaşma (enfekte bir dişi tarafından bırakılan yumurtalar yoluyla) ve transstadial bulaşma (kenelerin gelişim aşamaları arasında) yer alır. Dikey bulaşmada, enfekte keneler virüsü yumurtalar yoluyla ve farklı yaşam evreleri boyunca yavrularına geçirir. Yatay bulaşma, enfekte olmamış keneler enfekte omurgalı konakçılardan beslendiğinde meydana gelir, ancak insanlar virusun kenelere bulaşması için gerekli olan yüksek viremi seviyelerini geliştirmedikleri için ölü uç konakçılar olarak kabul edilir (Şekil 2.6.). Yatay cinsel bulaşma hem keneler hem de sıcak kanlı konaklar arasında gerçekleşebilir (Bakhvalova et al., 2009; Pustijanac et al., 2023).

Ixodidae ailesinin sert keneleri TBEV'in hem vektörleri hem de rezervuarları olarak hareket ederler. *I. ricinus* özellikle Orta, Kuzey ve Doğu Avrupa'da görülür. *I. persulcatus* Baltık Devletleri, Finlandiya, Rusya ve Sibiry'a'nın bazı bölgelerinde bulunur (Dumpis et al., 1999). Saha çalışmaları ve deneysel bulgular, diğer kene türlerinin de etkili TBEV vektörleri olabileceğini göstermektedir. TBEV ile doğal

enfeksiyonlar 30 yıldan daha uzun bir süre önce 16 *Ixodid* kene türünde rapor edilmiştir (Kwasnik et al., 2023). Şu anda en az sekiz türün TBE virusünü bulaştırabildiği bilinmektedir ve şimdiye kadar virus en az 14 türden daha izole edilmiştir (Dobler et al., 2019). Orta Avrupa'da TBEV bazı "sert" kene türlerinde (*I. persulcatus*, *I. ricinus*, *I. hexagonus*, *I. arboricola*, *Haemaphysalis punctate*, *H. concinna*, *Dermacentor marginatus* ve *D. reticulatus*) tespit edilmiştir (Kwasnik et al., 2023). *I. gibbosus* Akdeniz bölgesinde marjinal bir vektör olarak kabul edilmektedir. *H. inermis*'in TBEV için vektör yeterliliği deneysel olarak kanıtlamıştır (Kwasnik et al., 2023).

TBEV, "doğal odaklar" olarak adlandırılan küçük, coğrafi olarak tanımlanmış alanlarda yaygındır. Bu döngü vektör keneleri ve konakçı küçük kemirgenleri, böcekçilleri, kuşları ve büyük memelileri içerir. Virusun yayılmasında göçmen kuşların rolü Birleşik Krallık, Finlandiya ve Japonya'da ispatlanmıştır (Suzuki, 2007; Jaaskelainen et al., 2016; Holding et al., 2019; Michelitsch et al., 2019; Wilhelmsson et al., 2020).

Avrupa'da, çoğunlukla karaca (*Capreolus capreolus*) gibi yabani geyikler olmak üzere daha büyük hayvanlar, yetişkin keneler için önemli konakçılardır (Hofmeester et al., 2017). Evcil hayvanlar da TBEV ile enfekte olabilir, özellikle keçiler otlama şekilleri ve çalılıkları tercih etmeleri nedeniyle TBEV ile yaygın olarak enfekte olurlar. İnsanlar için TBEV'nin ana bulaşma yolu kene ısırmasıdır veya daha az sıklıkla hayvansal gıdaların çiğ tüketilmesi yoluyla bulaşır (Kwasnik et al., 2023).

2.7.2. Gıda Kaynaklı Bulaşma

Süt başta çocuklar ve yaşlılar olmak üzere birçok insan için proteinler, yağlar, karbonhidratlar, amino asitler, mineraller, vitaminler (örneğin D vitamini) gibi değerli besin maddelerinin ve somatik hücrelerin ana kaynağıdır. Süt ayrıca laktoferrin gibi antiviral, antimikrobiyal, antikanser özelliğe sahip biyoaktif maddeler içerir. Antimikrobiyal peptidler içerisinde yer alan laktoferrin sivrisinek kaynaklı flaviviruslerin reseptör bağlanmasını bloke eder (Chien et al., 2008; Buczek et al., 2022).

TBE, Avrupa'nın (Slovakya, Çek Cumhuriyeti, Polonya, Rusya, Slovenya) ve Asya'nın çeşitli bölgelerinde keçi, koyun ve ineklerden pastörize edilmemiş süt veya peynir tüketilmesi yoluyla ortaya çıkan salgınlar ile ilişkilendirilmiştir (Elbaz et al.,

2022). İnsanlarda, enfekte keçilerden, koyunlardan ve ineklerden pastörize edilmemiş süt tüketimi yoluyla TBEV enfeksiyonunun meydana gelebildiği birçok araştırma ile ortaya konulmuştur (Gresikova et al., 1975; Sekeyova et al., 1975; Kriz et al., 2009; Cisak et al., 2010; Cains et al., 2012; Brockmann et al., 2018; Dorko et al., 2018; Paulsen et al., 2019; Ilic et al., 2020; van den Brom et al., 2020, Blomqvist et al., 2021; Buczek et al., 2022). Bu nedenle, gıda kaynaklı bulaşma için farkındalık, ailesel TBE salgınları ve endemik bölgelere seyahat yapanlar açısından büyük önem taşımaktadır (Worku, 2023).

İnsanlarda TBEV enfeksiyonu, enfekte keçilerden (Kriz et al., 2009; Cisak et al., 2010; Brockmann et al., 2018; Dorko et al., 2018; Ilic et al., 2020), koyunlardan (Gresikova et al., 1975; Cisak et al., 2010; Dorko et al., 2018; van den Brom et al., 2020) ve ineklerden (Cisak et al., 2010; Cains et al., 2012; Paulsen et al., 2019; Blomqvist et al., 2021; Buczek et al., 2022) pastörize edilmemiş süt tüketimi yoluyla meydana gelebilir (Phipps and Johnson, 2022).

Hastalığın yaygın olduğu çoğu coğrafi bölgede gıda kaynaklı TBEV enfeksiyonu vakaları bildirilmiştir. Pastörize edilmemiş keçi sütünün tüketiminden kaynaklanan en büyük TBE hastalık salgını 1951 yılında eski Çekoslovakya'da Rožňava'da meydana gelmiştir. Bu salgında 660'tan fazla kişi kontamine süt yoluyla enfekte olmuş ve bunlardan 271'i hastaneye yatırılmak zorunda kalmıştır (Salat and Ruzek, 2020). TBEV'in mevcut olduğu birçok ülkede yakın zamanda küçük ölçekli gıda kaynaklı TBE salgınları tanımlanmıştır. Slovakya'da 2007 ve 2016 yılları arasında 26 adet gıda kaynaklı TBE salgını kaydedilmiştir. Burada en yaygın olası gıda kaynaklı TBE salgınları için doğrulanmış bulaşma faktörü Slovakya'da keçi sütü ve süt ürünleridir (Kerlik et al., 2018).

Gıda kaynaklı TBEV enfeksiyonları genellikle keçi sütü veya peyniri yoluyla meydana gelse de pastörize edilmemiş inek sütü kaynaklı TBE salgınları da bildirilmiştir. Pastörize edilmemiş süt gerek yüksek besin değeri gerekse aroması nedeniyle son yıllarda bazı tüketici grupları, süt üreticileri, tarım işçileri ve aileleri tarafından pastörize süte göre daha çok tercih edilmektedir (Buczek et al., 2022).

Gıdalarda TBEV bulaşma mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Virusun virülansının korunması, süt ürünlerinin sindirim şeklinden kaynaklanabilir. Süt midede nispeten kısa bir süre için düşük pH'da kalır ve mideden birkaç dakika

içinde duodenuma ulaşır. 1,5 ila 2 saat sonra midede artık süt kalmaz (Gritsun et al., 2003). TBEV'ler normal mide suyunda (pH 1.49-1.80) 2 saate kadar enfektivitelerini korumaktadır (Buczek et al., 2022). Sütte bulunan virusların duodenuma girene kadar virülanslarını nasıl korudukları sorusuna, muhtemelen Peyer plaklarının M hücrelerine nüfuz etmeleri ve ardından lenfatik dokuya ulaşmalarıyla izah edilebilir. Böylece dolaşım sistemine ve kan yoluyla beyin dahil olmak üzere organlara ulaşabilirler (Mercer and Helenius, 2009; Balogh et al., 2012). TBE salgınları, doğrudan yerel üreticilerden satın alınanlar, pazar yerleri ve restoranlar gibi bölgesel ürünlerin satıldığı yerler gibi aynı kaynaklardan gelen süt, süt ürünleri tüketicilerini etkilemektedir (Caini et al., 2012; Brockmann et al., 2018; Dorko et al., 2018; Buczek et al., 2022). Çek Cumhuriyeti'nde 33 TBE vakası (%51,6) hayvan yetiştiricilerinden satın alınan peynir veya süt tüketiminden sonra aile salgınları olarak tespit edilmiştir (Dorko et al., 2018; Ilic et al., 2020; Buczek et al., 2022).

Gıda kaynaklı TBE enfeksiyonlarının en fazla olduğu ülke Slovakya'dır. Slovakya' da bildirilen tüm insan TBE vakalarının %17'si kontamine pastörize edilmemiş süt kaynaklıdır. Süt ürünleri tüketimi ile ilişkili TBE salgınları esas olarak bu hastalığın endemik olduğu bölgelerde ortaya çıkar (Lickova et al., 2021).

İnsanlardaki tüm TBEV enfeksiyonlarının yaklaşık %1'inin gıda yoluyla bulaştığı tahmin edilmektedir (Bogovic and Strle, 2015). Bu tür enfeksiyonlar en az 10 Avrupa ülkesinde rapor edilmiştir; en yüksek sayılar Slovakya, Macaristan, Çekya ve Polonya'dadır. Hırvatistan, Almanya ve Slovenya'da gıda yoluyla bulaşan tek TBE enfeksiyonu vakası bildirilmiştir (Lickova et al., 2021; Pustijanac et al., 2023).

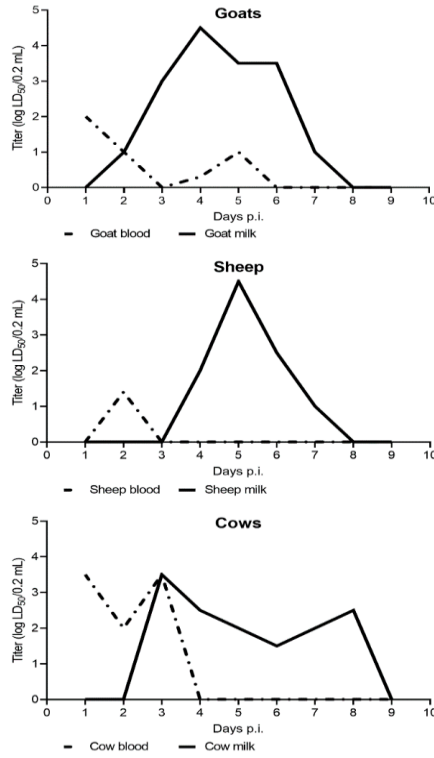
2.7.3.Diğer Yollarla Bulaşma

Organ nakli (Wondim et al., 2022) ve kan transfüzyonu (Karbowski and Biernat, 2016) yapılan hastaların yanı sıra solunum yolu veya orofaringeal epitel hücreleri yoluyla enfekte olan laboratuvar çalışanlarında TBE vakaları bildirilmiştir (Buczek et al., 2022; Worku, 2023). Karaciğer ve böbrek nakli yoluyla virusun alıcılara bulaştığı ve 17-49 gün sonra gelişen ensefalit olgusuyla ölümle sonuçlandığına dair rapor bulunmaktadır. Tek bir donörden organ alan bu üç hastada TBEV'nin donörden bulaştığı RT-PCR ve sekanslama ile teyit edilmiştir. Organ donörlerinin, özellikle de endemik bölgelerde, TBEV açısından taramaları tavsiye edilmektedir (Kwasnik et al., 2023). İnhalasyonla enfeksiyöz aerosolün solunması

veya kontamine bir iğne ile de bulaşma olabilmektedir. TBEV'in anne sütü yoluyla insanlar arası bulaşı ispatlanmamış olsa da aşılınmamış bir annenin muhtemelen emzirme yoluyla bebeğine TBEV bulaştırdığı bir vakada bildirilmiştir (Lickova et al., 2021; Kerlik et al., 2022; Pustijanac et al., 2023).

2.8. Klinik Bulgular

Evcil ruminantlar TBEV enfeksiyonu sonrasında genellikle birkaç gün süren viremi geliştirir, ancak çoğunlukla asemptomatik kalır (Paulsen et al., 2019). Bununla birlikte, viremik faz sırasında TBEV'yi süte salgılayarak pastörize edilmemiş süt veya peynir gibi çiğ süt ürünleri yoluyla insan enfeksiyonuna yol açma potansiyeline sahiptirler. Keçi sütünde, enfektif virus enfeksiyondan sonra 19 güne kadar tespit edilebilir (Balogh et al., 2012). Koyun, keçi ve sığırların TBE virusu ile enfeksiyonu genellikle asemptomatik seyirlidir ancak bu hayvanların kan serumu TBEV'ye karşı antikorlar içermektedir (Csango et al., 2004; Stjernberg et al., 2008; Frimmel et al., 2019). Bununla birlikte çiftlik hayvanlarında, virusun neden olduğu klinik vakalarına ilişkin bildirimler de bulunmaktadır (Bohm et al., 2017). Virusun gözlemci konakları olarak kabul edilen keçi ve koyunlarda, herhangi bir hastalık semptomu gözlenmeden 28 aya kadar antikorlar tespit edilebilmiştir (Casati Pagani et al., 2019). TBEV ile enfekte keçilerin sütünde enfeksiyondan sonra 5-25 gün boyunca virus tespit edilmiş ve virülansı yoğurt, peynir ve tereyağı gibi süt ürünlerinde devam ettiği tespit edilebilmiştir (Gritsun et al., 2003). Enfekte inek, keçi ve koyunların sütündeki TBEV virülansı, enfeksiyondan sonra 8 ila 19 gün boyunca devam etmektedir (Suss, 2003; Balogh et al., 2012; Springer et al., 2020; Buczek et al., 2022). Yapılan deneysel çalışmada sütte, viral yük 48. saatten itibaren maksimuma ulaştığı 4. güne kadar artmıştır. Viral yük, 5. ve 6. günlerden itibaren azalmış ve 7. günde minimuma ulaşmıştır (Şekil 2.8.).



Şekil 2.8. Deneysel olarak enfekte edilen koyun, inek ve keçilerin süt (tam çizgi) ve kanındaki (kesikli çizgi) TBEV viral titrelerinin karşılaştırılması (Lickova et al., 2021)

2015 yılında Bavyera'da beş aylık bir kuzu nörolojik bozukluk belirtileri göstermiş ve sonrasında TBEV enfeksiyonu teşhis edilmiştir (Bohm et al., 2017). Bu vakanın asıl bulaş kaynağı belirlenememiştir. Evcil ruminantlarda TBE'nin, klinik semptomlarla ortaya çıkması çok istisnai bir durumdur. Ancak enfekte hayvanlarda 19 güne kadar sürebilen viremi virusun süt yoluyla saçılımı ile sonuçlanır. Hatta viremi bir haftadan kısa bile sürse sütte virus tespit edilmiştir (Dorko et al., 2018; Dobler et al., 2021).

Köpekler, atlar ve maymunlar gibi kapalı alanda tutulan hayvanlarda TBEV enfeksiyonları insanlardaki gibi şiddetli semptomlara sahip olabilir (Salat and Ruzek, 2020). Maymunlarda (örn. *Macaca sylvanus*) insanlarda gözlenenlere benzer lezyonlar ve klinik belirtiler gelişebilir (Suss, 2008). Köpeklerde TBE klinik olarak gözlemlenirken, semptom göstermeyen çok vaka da rapor edilmiştir. Köpekler TBE'ye insanlardan daha az duyarlıdır. Köpeklerde klinik vakaların %16-50'sinde hastalığın ilk haftasında ölüm şekillenir. Hastalık, 1-2 hafta içinde semptomların tamamen gerilemesiyle birlikte akut seyre dönüşebilir (%31-59). Seyrek olarak, hastalığın kronikleştiği devreye kadar geçen sürenin uzun olduğu bir hastalık seyri tanımlanmıştır (%12-25). Bu köpeklerde sıklıkla geç sekel benzeri parezi, kas atrofisi,

epileptik nöbetler veya körlük görülebilir (Leschnik et al., 2002; Dobler et al., 2021). Nöbetler, TBEV enfeksiyonuna bağlı serebral hasarın temel bir sonucudur ve köpek vakalarının %12-33'ünde görülür (Dobler et al., 2021).

2015 yılında Bavyera'da beş aylık bir kuzu nörolojik bozukluk belirtileri göstermiş ve sonrasında TBEV enfeksiyonu teşhis edilmiştir. Bu vakanın asıl bulaş kaynağı belirlenememiştir (Bohm et al., 2017).

TBEV'in at popülasyonlarındaki etkisi hakkındaki bilgilerimiz yetersizdir. Atlardaki nörolojik bozukluğun TBEV ile ilişkilendirildiği çalışmalar bulunmaktadır. Avusturya'da klinik semptomları olan 8 at tanımlanmış ve bunlardan 2'si ciddi şekilde hastalanmıştır; Almanya'da yapılan bir çalışmada hastalıklı 3 attan 1'ine ötenazi uygulanmıştır; ve yine Almanya'da, birkaç yıl sonra, enfekte bir hayvana ötenazi uygulanmıştır (Klaus et al., 2013). Atlardaki klinik tablo, köpekler için tanımlanan nörolojik semptomların geniş bir spektrumunu yansıtmaktadır: ataksi, tonik-klonik nöbetler, apati ve stupor, inappetans, midriyazis, bacaklarda konvülsiyonlar, ürkeklik, bruksizm ve çevresel uyaranlara karşı değişen reaksiyonlar (Dobler et al., 2021).

Yaban domuzu ve geyik türleri gibi yabani hayvanlar antikor cevap oluşturmakla beraber genellikle spesifik klinik belirtiler göstermez (Paulsen et al., 2020; Topp et al., 2023). Yabani hayvanların çoğu asemptomatik (örneğin kırmızı tarla faresi, *Myodes rutilus*), bazılarında ensefalit gelişebilir (örn. banka tarla faresi, *Myodes glareolus*). Maymunlarda (örn. *Macaca sylvanus*) insanlarda gözlenenlere benzer lezyonlar ve klinik belirtiler gelişebilir (Suss, 2008).

TBEV enfeksiyonu klinik olarak insanlarda hafif abortif ve spesifik semptomlarla seyretmeyen ateşli bir hastalık olarak ortaya çıkabilir. Bununla birlikte MSS'yi etkileyen ensefalit, menenjit ve meningoensefalit, bifazik seyirli orta derece şiddetli bir hastalık olarak seyredebileceği gibi kalıcı nörolojik sekeller, ölümle sonuçlanabilen çok şiddetli bir hastalık olarak da görülebilir (Solomon, 2004; Bogovic and Strle, 2015; Taba et al., 2017; Gonzalez et al., 2022).

TBEV-Eu alt tipinin neden olduğu enfeksiyonların %70'inden fazlası asemptomatiktir. Geri kalan vakalarda, 7-14 günlük bir kuluçka döneminden sonra (1-28 gün aralığında), hastalığın klasik bifazik seyri gelişir. Enfekte koyun ve keçilerden elde edilen pastörize edilmemiş süt ve ürünlerinde, semptomlar 3-4 gün içinde ortaya çıkar (Solomon, 2004; Bogovic and Strle, 2015). TBEV enfeksiyonu, her biri spesifik

klirik belirtilerle karakterize edilen farklı evrelerden geçerek ilerler. Viremik prodromal faz olarak bilinen ilk faz tipik olarak birkaç gün sürer. Bu evrede ateş, hafif baş ağrısı, genel halsizlik, miyalji ve bulantı gibi grip benzeri bir sendroma benzeyen spesifik olmayan semptomlar görülür. Prodromal fazı takiben, 1-21 gün arasında sürebilen asemptomatik bir aralık izler. TBEV ile enfekte hastaların yaklaşık %20-30'unda, ateşin nüksetmesi, etkilenen bölgeye göre değişen menenjit, meningoensefalit, miyelit ve radikliti içerebilen MSS tutulumu belirtilerinin görüldüğü ikinci bir evre ortaya çıkar. TBEV enfeksiyonu ciddi nroenfeksiyonlardan biridir. İkinci aşamada ortaya çıkan nörolojik komplikasyonlar uzun süreli etkilere sahip olabilir ve bazı vakalarda kalıcı nörolojik sekellere yol açabilir (Gritsun et al., 2003; Bogovic and Strle, 2015; Pustijanac et al., 2023). Menenjit, TBEV ile enfekte hastaların yaklaşık %50'sinde görülen önemli bir belirtidir ve çocuklar daha sık etkilenmektedir. Ateş, baş ağrısı, kusma, ense sertliği ve fotofobi ile karakterizedir (Kaiser, 2012; Bogovic and Strle, 2015; Pustijanac et al., 2023). Hastaların yaklaşık %40'ında bilinç değişikliği (uyku eğilimi ve daha az yaygın olarak koma gibi), huzursuzluk, ajitasyon, tremor, ataksi, dilde fasikülasyonlar, konuşma bozukluğu, parestezi, fokal veya jeneralize nöbetler şeklinde ortaya çıkabilen ensefalit gelişir. Etkilenen bölgelerde kas ağrısı, fel (virusun omuriliğin servikal kısmının n boynuzlarını tercih etmesi nedeniyle genellikle omuz bölgesini ve kolları etkiler) ve potansiyel solunum kas felci görülür (Lindquist and Vapalahti, 2008; Kaiser, 2012; Bogovic and Strle, 2015; Bogovic, Lotric-Furlan et al., 2018; Pustijanac et al., 2023). Miyelit, TBEV ile enfekte hastaların yaklaşık %5-10'unda görülür. Genellikle ensefalit ile birlikte ve nadiren ayrı bir klinik tablo olarak ortaya çıkar (Lindquist and Vapalahti, 2008; Bogovic and Strle, 2015; Bogovic et al., 2018; Pustijanac et al., 2023). TBEV beyin sapını ve medulla oblongatayı etkilediğinde, ciddi komplikasyonlar nedeniyle yüksek ölüm riski oluşturur. Ensefalit ve miyelitten daha az sıklıkta görülmekle birlikte, bu durumlar yine de önemli mortaliteye neden olabilir. Nadiren TBEV ile ilişkili miyokardit, pankreatit ve hepatit vakaları bildirilmiştir, bu durum TBEV'in sistemik etkisini ve enfeksiyonun MSS'nin ötesine taşınabildiğini göstermektedir (Pustijanac et al., 2023). TBEV ile enfekte olan hastaların çoğu tamamen iyileşirken, vakaların %20'sinde post-ensefalitik sendrom gelişebilir. Bu sendrom, etkilenen bireylerin yaşam kalitesini önemli lde etkileyen bir dizi uzun vadeli nörolojik ve psikolojik sekel ile karakterizedir. Post-ensefalitik sendromun bazı yaygın belirtileri arasında inatçı baş ağrısı, zayıflama veya işitme kaybı, kulak çınlaması, ataksi,

koordine olmayan hareketler, bilişsel işlev bozukluğu, depresyon, anksiyete yer almaktadır. Genel olarak, hayatta kalanların %5'i kalıcı pareziye maruz kalır ve yaklaşık %33-60'ı TBE iyileşmesinden sonra yıllarca sürebilecek bir post-ensefalitik sendrom yaşamaktadır (Kaiser, 2012; Bogovic and Strle, 2015; Pustijanac et al., 2023; Worku, 2023). Vakaların yaklaşık %2'sini oluşturan küçük bir hasta alt grubunda, hastalığın özellikle şiddetli klinik seyri ölümcül bir sonuca yol açabilir. Bu alt küme, ileri yaş, eşlik eden hastalıkların varlığı ve hastalığın monofazik seyri gibi faktörlerle karakterize edilebilir (Bogovic and Strle, 2015; Pustijanac et al., 2023).

2.9. Teşhis

Flaviviridae ailesi içindeki *Flavivirus* cinsinin üyeleri arasındaki yakın genetik ilişki nedeniyle, mevcut serolojik testlerde çapraz reaksiyonlar görülmektedir. Bu serolojik çapraz reaksiyonlar flaviviruslerin E proteinine karşıdır ve mevcut serolojik testlerin çoğu için bilinmektedir ve bu durumda serolojik tanıda zorluklara neden olmaktadır (Salat and Ruzek, 2020; Dobler et al., 2021; Phipps and Johnson, 2022).

ELISA gibi yapısal test formatları özellikle serolojik çapraz reaksiyonlara yatkındır. Hemagglütinasyon inhibisyon ve indirek immüno floresan test sistemleri de flavivirus enfeksiyonları veya flavivirus aşıları arasında değişen derecelerde çapraz reaksiyonlar gösterir. Diğer flaviviruslere karşı en yüksek özgüllüğe sahip test, ilgili flavivirus için oldukça spesifik olduğuna inanılan nötralizasyon testidir (Dobler et al., 2021; Kwasnik et al., 2023; WOA, 2024).

Ruminantların enfeksiyonu halk sağlığı açısından önemli olduğundan, TBEV'in erken teşhisi önem kazanmaktadır. TBEV'in serolojik tanısı özgüllükten yoksundur ve serum nötralizasyon testi (SNT) ile ek doğrulama gerektirir (Klaus et al., 2019). Hedef numunelerde viral RNA'yı tespit eden nükleik asit testleri mevcuttur. Singleplex PCR'in yanı sıra, multipleks testler de tarama testleri olarak kullanılabilir (Garcia et al., 2022).

Serolojik testlerin yanı sıra, farklı immüno globulin sınıfları da değişen derecelerde çapraz reaktivite sergilemektedir. Farklı IgG sınıfı antikorlar flavivirus üyeleri arasında yüksek çapraz reaksiyonlar gösterirken, IgM sınıfı antikorlar oldukça spesifiktir ve genellikle düşük çapraz reaksiyon gösterir veya hiç göstermez (Dobler et al., 2021).

2.9.1. Laboratuvar Teşhis

Sahipleri tarafından sıkı gözetim altında tutulan hastalıklı köpekler ve atlar haricinde, TBEV için herhangi bir doğrudan tespit yöntemini (izolasyon veya gerçek zamanlı RT-PCR) kullanmak için zaman aralığı genellikle pratik bir anlam ifade etmeyecek kadar kısadır. Serolojik testler kolaylıkla uygulanabilir. Bu amaçla sıklıkla ELISA, IFA (immünofloresan testi) ve serum nötralizasyon testi (SNT) olmak üzere üç test kullanılmaktadır. ELISA, köpekler, sığırlar, koyunlar, keçiler, domuzlar, geyikgiller ve fareler için mevcut olan türe özgü bir konjugat ile gerçekleştirilebilir. SNT altın standarttır ve diğer 2 testin sonuçlarını doğrulamak için gereklidir. Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi'ne göre, bir SNT titresi =1:10 tanıyı doğrular (Klaus et al., 2014; Salat and Ruzek, 2020; Dobler et al., 2021).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi moleküler testler kullanılmaya başlanmasından önce, TBEV enfeksiyonunu tespit etmek için mevcut olan tek metot virus izolasyonuydu, ancak bu yöntem günümüzde nadiren kullanılmaktadır (Dobler et al., 2021; Garcia et al., 2022).

Günümüzde TBEV enfeksiyonunu tespit etmenin en yaygın yöntemi, kompleman fiksasyon, hemagglütinasyon inhibisyon testlerinden tutunda, Ig spesifik testlere kadar gelişen ELISA'lar ve immünofloresan (IF) testleri gibi serolojik testlerdir (Dobler et al., 2021).

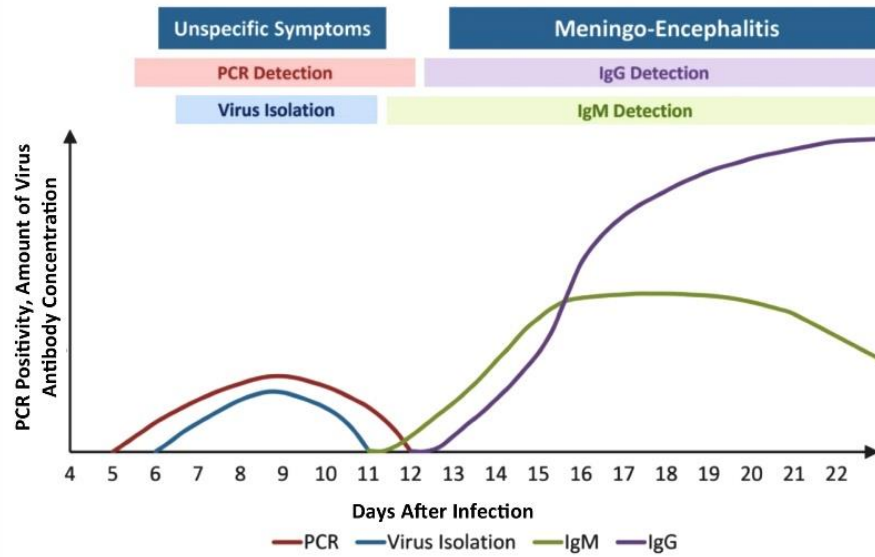
• TBEV Enfeksiyonunun Doğrudan Tespiti

Virus izolasyonu: TBEV izolasyonu, TBE gibi klinik olarak şüpheli MSS enfeksiyonlarının doğrulanması için oluşturulan ilk tanı tekniğidir. Geçmişte, kan ve beyin örneklerinden virus izolasyonu yenidoğan farelerde gerçekleştirilmiş ve TBEV suşlarının çoğu (Scharl, Absettarov, Sofjin, KEM II, Alsace, Schaffhausen, vb.) hasta materyalinin veya kene süspansiyonlarının intraserebral inokülasyonu ile izole edilmiştir. Daha sonra hücre kültürü kullanılmaya başlanmış olup TBEV'i hasta materyalinden izole etmek için kullanılabilecek bir dizi devamlı hücre hattı bulunmaktadır. En sık kullanılan hücre hatları Vero hücreleri (yeşil maymun fetal böbrek hücreleri), PS hücreleri (domuz fetal böbrek hücreleri), BHK-21 (bebek hamster böbrek hücreleri) ve A549 (insan akciğer adenokarsinom hücreleri) ve insan nöroblastom hücreleridir (Boelke et al., 2019; Dobler et al., 2021).

Virus, hastalığın ilk ateşli evresinde kanda, nörolojik semptomları içeren ikinci

evrede ise ağırlıklı olarak beyin dokusunda tespit edilebilir. Beyin omurilik sıvısı (BOS) genellikle canlı virus içermez ve bu nedenle virus izolasyonu için yalnızca özel koşullar altında kullanılmalıdır. Virus izolasyonu artık TBE enfeksiyonunun rutin teşhisi için kullanılmamakla beraber alt tiplerini belirlemek için hala gereklidir (Dobler et al., 2021).

PCR: PCR gibi moleküler tanı yöntemleri hastalığın erken evresinde TBEV alt tiplerinin tanımlanmasını sağlar (Donoso Mantke et al., 2007). Viral RNA, hastaların asemptomatik olduğu veya semptomların spesifik olmadığı enfeksiyonun ilk evresinde kanda veya serumda tespit edilebilir. Nörolojik semptomların başlamasından sonra, TBEV RNA'sı kanda veya BOS'ta nadiren tespit edilir (Şekil 2.9.) (Saksida et al., 2005). TBEV enfeksiyonunu tespiti etmek için konvansiyel PCR çeşidi olan nested RT-PCR kullanıldığı gibi daha özgün ve duyarlı olan real time RT-PCR testi de kullanılmaktadır (Whitby et al., 1993; Schwaiger and Cassinotti, 2003).



Şekil 2.9. Klinik semptomlar, virüs replikasyonu ve spesifik anti-TBE antikorlarının gelişimi ile TBE'nin doğal seyri (Dobler et al., 2021)

PCR testleri, MSS semptomlarını içeren evrede TBEV enfeksiyonunun teşhisinde hatalara neden olmaktadır çünkü hastalığın bu evresinde viral RNA genellikle kan veya BOS örneklerinde tespit edilemez. Ancak TBEV, TBE'nin ilk ateşli evresinde kan örneklerinde ve MSS semptomlarını içeren evrede beyin dokusunda (varsa) tespit edilebilir. Bu nedenle RT-PCR kene ısırığını takiben erken

dönemde TBEV enfeksiyonunun doğrulanması gerektiğinde değerli bir tanı aracıdır (Caracciolo et al., 2015; Dobler et al., 2021).

• TBEV Enfeksiyonunun Dolaylı Tespiti

Kompleman fiksasyon testi: Kompleman fiksasyon deneyi (CFA) TBEV ve diğer flaviviruslara karşı antikorları tespit etmek için kullanılan en eski testlerden biridir ve potansiyel bir enfeksiyonun erken evresinde anti-virus antikorlarını tespit etmek için kullanılmıştır. Modern, standartlaştırılmış, daha az zaman alan tahlillerin kullanıma girmesi ve uygun kalitede antijen bulunamaması CFA'nın artık geçerliliğini yitirdiği anlamına gelmektedir (Dobler et al., 2021).

Hemagglütinasyon inhibisyon (HI) testi: HI testi, TBEV ve diğer flavivirusların E proteininin erkek kazlardan izole edilen eritrositleri aglütine etme yeteneğinin inhibe edilmesinden yararlanılmaktadır. HI testinin bir dezavantajı, tüm flaviviruslarla geniş bir çapraz reaktiviteye sahip olmasıdır ve bu nedenle 1'den fazla flavivirusla enfekte olan hastalardan veya yakın zamanda aşılananlardan alınan numuneler, spesifik olmayan çapraz reaksiyona ve titrenin yanlış belirlenmesine yol açabilir. HI testi halen birçok ülkede kullanılmaktadır ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından birincil ve ikincil flavivirus enfeksiyonunu ayırt etmek için önerilmektedir (Dobler et al., 2021).

İmmünofloresan testi: TBEV'e karşı antikorları tespit etmek için IF kullanımı genellikle TBEV ile enfekte olmuş hücrelerin slaytlar üzerinde lekelenmesini, sabitlenmesini ve permeabilize edilmesini gerektiren dolaylı analizleri içerir. Flavivirus enfeksiyonu veya aşılama kaynaklı yüksek ve geniş çapraz reaktif titre olarak tespit edilebilir (Sonnenberg et al., 2004).

Nötralizasyon Testi

Mikro yöntemle virus nötralizasyon testi: Bu yöntem serum örneklerinde (şüpheli serum) belli bir virusa karşı antikor varlığının kalitatif olarak belirlenmesini sağlar. Testte şüpheli serum ile bilinen virus karşılaştırılır ve nötralizasyon şekillenip şekillenmediği in vitro şartlarda tespit edilir (Yeşilbağ, 2014).

Plak redüksiyon testi: Plak oluşturma yeteneği bulunan bir virusun bu yeteneğinin azalması ya da ortadan kalkmasına dayanılarak serumda antikor varlığının saptanmasında kullanılan bir yöntemdir. Antikor varlığı veya antikor titresinin tespitinde ise serum (veya sulandırılmaları) öncelikle 200 POU oranında sulandırılan

virusla reaksiyona sokulur. Takiben petrilerde hazırlanmış hücre kültürlerine inokule edilir. Test basamaklarının uygulanması plak testle aynıdır. Testin değerlendirilmesinde ise virus kontrol olarak ayrılan kültürlerdeki plak sayıları ile antikor aranan kültürlerdeki plak sayıları karşılaştırılır. Test için kullanılan kültürlerde plak sayısındaki azalma pozitif reaksiyona işaret eder (Yeşilbağ, 2014).

ELISA: ELISA testi, TBEV'e karşı antikorları tespit etmek için en yaygın kullanılan testtir. Piyasadaki çeşitli anti-TBEV ELISA kitleri, Avrupa alt tip suşları (Hypr, K23, Neudoerfl, K 1074) veya Uzak Doğu alt tip suşları (Moskova B-4) gibi farklı antijenler kullanır. ELISA yüksek düzeyde duyarlılık gösterirken, dang virusuna, sarı humma virusuna ve diğer flaviviruslara karşı antikorlarla çapraz reaksiyon nedeniyle orta düzeyde özgüllük gösterir (Phipps and Johnson, 2022; Vilibic-Cavlek et al., 2022; Kwasnik et al., 2023).

TBEV, Batı Nil virusu (WNV), Usutu virusu ve Louping ill virusu gibi diğer flaviviruslarla bilinen çapraz reaktivite nedeniyle yanlış pozitif ELISA sonuçları ortaya çıkabilir (Topp et al., 2023).

ELISA çeşitleri farklı antikor izotipleri arasında ayırım yapabilir. TBEV enfeksiyonu tanısı için genellikle IgM ve IgG önemlidir (IgA tanıda herhangi bir rol oynamaz, ancak serum ve BOS'ta tespit edilebilir). IgM antikorları genellikle klinik MSS hastalığının başlangıcında veya nörolojik semptomların başlangıcından en az birkaç gün sonra mevcuttur ve MSS semptomlarının başlangıcından yaklaşık 6 hafta sonra tespit edilebilir. Bir mikro capture ELISA, IgM testi için en yüksek özgüllüğe sahiptir. Sandwich ELISA kullanıldığında, yanlış negatif sonuçlardan kaçınmak için testten önce IgG'nin uzaklaştırılması gerekir. Anti-TBEV IgM için tanısal testler, diğer flaviviruslarla çapraz reaksiyon açısından genellikle IgG testlerinden daha spesifiktir (Dobler et al., 2021; Vilibic-Cavlek et al., 2022).

IgG antikorlarını değerlendiren testler genellikle geleneksel iki katmanlı sandviç ELISA olarak üretilir. Anti-TBEV IgG, diğer anti-flavivirus IgG antikorları ile geniş ölçüde çapraz reaksiyona girer. TBEV'e karşı IgG antikorları genellikle MSS semptomlarının başlangıcında ortaya çıkar, yaklaşık 6 hafta sonra maksimum titreye ulaşır ve yıllarca devam eder. Doğal enfeksiyonlardan sonra mevcut olan antikor titreleri genellikle aşılama sonrası gelişenlerden çok daha yüksektir (Dobler et al., 2021; Vilibic-Cavlek et al., 2022; Worku, 2023).

Diğer flaviviruslara yönelik tanı testlerinde olduğu gibi, testin duyarlılığını ve özgüllüğünü artırmak için ELISA'larda farklı antijen türleri araştırılmıştır. Tespit edilecek antijen olarak NS1 proteininin kullanılması, özgüllükte bir miktar artış gösterirken, duyarlılıkta bir azalma göstermektedir. Yapısal olmayan protein 1'e (NS1) karşı antikorlar yüksek bir özgüllük göstermiştir. TBE'ye karşı NS1 antikorlarının saptanması aynı zamanda aktif bir viral replikasyonun kanıtıdır ve bu nedenle geçmiş veya yeni TBE virusu enfeksiyonunu göstermektedir (Giriş et al., 2020; Salat et al., 2020).

2.10. Tedavi

TBEV enfeksiyonunun spesifik bir tedavi seçeneği yoktur. Nörolojik semptomlar mevcut olduğunda, virus zaten ortadan kalktığı için antiviral tedavi kullanılmaz. İnsanlarda tedavi öncelikle semptomatiktir ve nonsteroid anti-inflamatuar ilaçları içerir. Semptomların ciddiyetine göre, hastaların tipik olarak hastaneye yatırılması ve ateş düşürücü, analjezik, antiemetik verilmesi, sıvı-elektrolit dengesinin korunması ve gerekirse antikonvülsif ajanlar verilmesini içeren destekleyici bakıma ihtiyacı vardır. Solunum yetmezliği olan nöromusküler felçli hastalar için entübasyon ve ventilasyon desteği gereklidir. Komada olan veya nefes almakta zorluk çeken hastalar için reanimasyon tedavileri uygulanmaktadır (Bohm et al., 2017). Akut viral ensefalitin olası bir sonucu, klinik tabloyu kötüleştiren ve kötü bir nörolojik sonucun habercisi olan serebral ödemdir. İntravenöz mannitol ve/veya steroidler, intrakraniyal basıncın önemli ölçüde arttığı hastalara sıklıkla uygulanır. Mannitol ödemli beyindeki sıvının intravasküler alana geri dönmesini sağlayarak serebral perfüzyon basıncını güçlendirir, dolaşım hacmini artırır ve serebral otoregülasyon yoluyla kafa içi basıncını düşürür. Ayrıca, eritrosit membranının akışkanlığını etkileyerek kan akışını ve kan viskozitesini düşürerek oksijen iletimini artırır. Serebral hipertansiyonu olan hastaların yüzde beşinde rebound fenomeni görülür. Serum ozmolalitesi 320 mOsm/L'yi aştığında, komplikasyonları önlemek için genellikle mannitol uygulamasının kesilmesi tavsiye edilir. Aşırı derecede artmış kafa içi basıncından muzdarip kişilere intravenöz mannitol uygulamak oldukça yaygın bir klinik uygulama olmasına rağmen, hiçbir güvenilir (karşılaştırmalı) araştırma TBE hastalarında mannitol kullanımını desteklememektedir (Fuzik et al., 2018; Pustijanac et al., 2023; Worku, 2023).

2.11. Koruma ve Kontrol

TBEV enfeksiyonunun önlenmesi için sütün pastörize edilmesi, kene popülasyonunun azaltılması ve kişisel korunma önlemlerinin alınması (kovucuların kullanılması; açıkta kalan cildi en aza indirmek ve kenelerin tutunmasını zorlaştırmak için uzun kollu, uzun pantolonlu ve burnu kapalı ayakkabılar gibi uygun kıyafetlerin giyilmesi; doğada, özellikle de kene istilasına uğramış bölgelerde vakit geçirdikten sonra vücutta kapsamlı kene kontrollerinin yapılması gibi kenelerin dikkatli bir şekilde incelenmesi ve derhal çıkarılması) gibi genel önlemlerin uygulanmasını içermektedir. Bu önlemler, maruz kalma ve bulaşma riskini en aza indirmeyi amaçlamaktadır. Keneler, ince uçlu cımbızlar kullanılarak derhal ve uygun şekilde çıkarılmalıdır (Bogovic and Strle, 2015; Markovinovic et al., 2016; Pustijanac et al., 2023; WOA, 2024).

Gıda kaynaklı TBEV bulaşması pastörize keçi, koyun ve inek sütü tüketimiyle etkili bir şekilde azaltılabilir. Hem hızlı (72°C, 15 sn) hem de yavaş (63°C , 30 dk) pastörizasyonun TBE'i inaktive ettiği bilinmektedir (Ronai and Egyed, 2020). Pastörizasyona ek olarak, peynir üretimi sırasında tuz ilavesi tüketiciyi TBEV enfeksiyonundan koruyabilir (Suss, 2003; Amicizia et al., 2013; Hudopisk et al., 2013).

Aşılama, TBE'ye karşı en etkili korunma yöntemi olmaya devam etmektedir. Aktif bağışıklama, endemik bölgelerde TBE'nin önlenmesinde en uygun ve oldukça etkili bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Bağışıklama programı belirli aralıklarla (0, 1-3 ve 9-12 ay) uygulanan tam bağışıklama için üç dozluk bir seriyi içerir. Birincil bağışıklamanın ardından 3 yıl sonra bir rapel doz önerilmektedir. Sonraki rapel dozlar 3-5 yılda bir uygulanır ve rapel doz aralığı hastanın yaşına göre belirlenir (Who, 2011; Buczek et al., 2022; Kunze et al., 2022; Pustijanac et al., 2023).

TBE aşısı tolere edilebilirliği, güvenliği ve %96-%98,7 arasında değişen yüksek etkinliği ile tanınmaktadır. Avusturya, kırk yıl boyunca 35 milyondan fazla kişiye TBE aşısı uygulayarak TBE insidansında önemli bir düşüş sağlamış ve TBEV'in neden olduğu hastalığı neredeyse ortadan kaldırmıştır (Lindquist and Vapalahti, 2008; Who, 2011; Bogovic and Strle, 2015; Pustijanac et al., 2023).

Piyasada, TBEV'in Avrupa, Sibirya ve Uzak Doğu alt tiplerine karşı koruma sağlayan inaktive virus suşları içeren FSMEIMMUN®, Encepur®, EnceVir ve IPVE

(TBE aşısı Moskova olarak da adlandırılır) isimli ticari aşıları bulunmaktadır (Who, 2011; Zavadska et al., 2013; Domnich et al., 2014; Panatto et al., 2022).

Dünya’da ikisi Batı Avrupa’dan, üçü Rusya’dan ve biri Çin’den olmak üzere 6 farklı TBE aşısı bulunmaktadır. İki Batı Avrupa aşısı ve bir Rus aşısının bir yetişkin ve bir pediatrik formülasyonu vardır (Dobler et al., 2021). Avrupa’da, kullanılan mevcut her iki aşı için %92-100 serokonversiyon oranları bildirmektedir. İlk nesil TBE aşıları Rusya’da üretilmiştir. Bu aşılar TBEV-FE Sofjin suşunu içermekte ve farelerin beyinde çoğaltılmaktaydı (Dobler et al., 2021; Hennechart-Collette et al., 2022; Angulo et al., 2023).

FSME-IMMUN: Bu aşı Avusturya TBE suşu Neudörfl’i (TBEV-EU) içermektedir ve ilk olarak 1976 yılında ruhsatlandırılmıştır. Virus öncelikle spesifik patojen içermeyen (SPF) bebek farelerin beyinlerinde pasajlanmış ve daha sonra primer SPF tavuk embriyo hücrelerinde çoğaltılmıştır. Aşı formülasyonu 2000 yılına kadar çeşitli değişikliklere uğramıştır. Asıl lisanslı aşı, formaldehit ile inaktive edilmiş, alüminyum hidroksit ile adjuvanlanmış ve temel stabilizatörü Human serum albümin (HSA) olan ve tam partikül aşısıdır (doz başına 2,4 mcg antijen) (Dobler et al., 2021; Panatto et al., 2022).

Encepur: Bu aşı, Almanya’nın güneyindeki Karlsruhe’de izole edilen ve ilk olarak 1991 yılında Almanya’da (Chiron Behring, Marburg, Almanya) Encepur olarak ruhsatlandırılan Avrupa alt tipi virus suşu K23’i içermektedir. FSME-IMMUN’a benzer şekilde, primer SPF tavuk embriyo hücrelerinde çoğaltılmıştır. Virus formaldehit ile inaktive edilmiş, alüminyum hidroksit üzerine adsorbe edilmiş ve 1,5 mcg antijen içermektedir (Dobler et al., 2021; Panatto et al., 2022).

Rus aşıları: Rusya’da üç TBE aşısı geliştirilmiş ve pazarlanmaktadır. Bunların hepsi civciv embriyo hücreleri üzerinde kültürlenmiş ve formalinle inaktive edilmiştir. EnceVir (NPO Microgen, Tomsk, Russia), TBEV-FE alt tip suşu 205’i içermektedir (Dobler et al., 2021; Buczek et al., 2022; Panatto et al., 2022).

Sen Tai Bao: Sen Tai Bao (Changchun Institute of Biological Products Co. Ltd: CIBP; Changchun, Jilin Eyaleti, Çin) TBE aşısı Changchun Biyolojik Ürünler Enstitüsü (CIBP) tarafından üretilmekte ve sadece Çin’de pazarlanmaktadır. TBE’ye karşı ilk aşı 1953 yılında, TBEV’nin fare beyin dokusu üzerinde çoğaltılması ve ardından inaktivasyonu yoluyla geliştirilmiştir. Mevcut formalinle inaktive edilmiş aşı

formülasyonu TBEV-FE suşu Senzhang'ı içermektedir. Aşı tohum suşu, primer hamster böbrek hücrelerinde üretilir. Stabilizatör olarak HSA ve adjuvan olarak alüminyum hidroksit kullanır (Lu et al., 2008; Dobler et al., 2021).

Çiftlik hayvanlarının aşılınması, tüketicileri gıda yoluyla bulaşan TBEV enfeksiyonu riskinden korumanın bir başka yoludur. Keçilerin TBE'ye karşı bir insan aşısıyla deneysel olarak aşılınması, sonraki TBEV enfeksiyonuna karşı tam koruma sağlamış sonuç olarak aşılınmış ve TBEV'ye maruz kalmış hayvanların sütünde virus tespit edilmemiştir (Salat and Ruzek, 2020; Omazic et al., 2023).

Yakın zamanda, TBE'ye karşı hayvan sağlığında kullanılmak üzere yeni bir aşı adayı geliştirilmiştir (Salat and Ruzek, 2020). Aşı, tam partikül inaktive edilmiş virus içermektedir. Aşının güvenliği ve immünojenitesi farelerde ve koyunlarda değerlendirilmiş ve yüksek düzeyde virus nötralize edici antikorların ürettiği ve iyi tolere edildiği bildirilmiştir. Aşılama farelerde ölümcül TBE'ye karşı tam koruma sağlamış ve koyunlarda viremi gelişimini emziren koyunların sütünde ise TBEV varlığını önlemiştir. Dolayısıyla bu aşı, insanlarda süt yoluyla bulaşan TBEV enfeksiyonunu önlemek amacıyla geviş getiren hayvanların aşılınması için iyi bir adaydır (Salat et al., 2018; Salat and Ruzek, 2020).

Köpeklerde TBEV enfeksiyonundan kaçınmak için önleyici tedbirler, öncelikle enfekte kenelerin istilasını azaltmaya dayanmaktadır. Uzun süreli kovucu ve akarisidal özelliklere sahip ürünler hayvanların tüylerine uygulanabilir. Avrupa'da kullanılan mevcut TBE aşıları sadece insan kullanımı için ruhsatlandırılmıştır. Bu aşıların evcil hayvanlarda TBEV enfeksiyonlarına karşı koruyucu etkisi deneysel olarak gösterilmiştir. Bu nedenle, yüksek endemik bölgelerde köpeklerin TBE'ye karşı aşılınması düşünülmelidir (Dobler et al., 2021; Buczek et al., 2022).

2.12. Amaç

Bu tez çalışması ile Avrupa ve Asya'da endemik alanlarda yayılma gösteren gıda kaynaklı TBEV'nin Orta ve Doğu Karadeniz bölgesinde evcil ruminantların sütlerinde varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Bölgemizde TBEV'e vektörlük eden *Ixoid* keneler mevcut olup iklim ve coğrafi yapı bu tür kenelerin yaşamlarına uygundur. Bölgemizde daha önce yapılan çalışmalarda TBEV'e ait antikorlar tespit edildiğinden ve dünya'da artan gıda kaynaklı TBEV vakaları böyle bir çalışmaya yönlendirmiştir.

Araştırmada Samsun, Giresun, Trabzon, Amasya, Tokat ve Sivas illerinde merada otlayan, kene enfestasyonlu sığır, koyun ve keçilerden taze çiğ süt toplanması ve rRT PCR ile TBEV RNA'sının varlığının incelenmesi hedeflenmiştir. TBEV ile enfekte kenelerin ruminantlara (sığır, koyun, keçi) tutunması, TBE enfeksiyonu oluşturması, bu hayvanlarda gelişen viremi sonrası TBEV'nin süt ile insanlara (zoonoz) bulaşmanın incelenmesi amaçlanmıştır. TBEV'nin çalışma yapılan bölgelerdeki halk sağılığı açısından risk durumunu ortaya koymak hedeflenmiştir.



3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Sütlerin Temini: Samsun, Giresun, Trabzon, Amasya, Tokat ve Sivas olmak üzere 6 ilden süt örnekleri steril 50 ml hacimli falkon tüpler içerisine tüm meme loblarını örnekleyecek şekilde toplandı (Şekil 3.1). Her ildeki kene enfestasyonlu, herhangi bir flavivirusa karşı aşılınmamış, akarisid uygulanmamış, merada otlayan hayvan türlerinden 50’şer olmak üzere, her ilden toplam 150 (50 sığır, 50 koyun, 50 keçi), çalışmanın tamamında ise 900 (300 sığır, 300 koyun, 300 keçi) süt örneği toplandı. Toplanan süt örnekleri soğuk zincirde (+4°C) laboratuvara transfer edildi. Kene enfestasyonlu sığır, koyun ve keçilerden Rnase, Dnase ve Pyrogen free, steril 50 ml falkon tüplere alınan tam yağlı süt örnekleri, 15 ml lik falkon tüplere aktarıldı.



Şekil 3.1. Örnek Toplanan Bölgeler (Kuruçay vd., 2023’ten uyarlanmıştır)

Tablo: 3.1. Örneklenen bölgeler ve rakımlar

Bölge	Rakım(m)
Samsun (Atakum)	4
Amasya (Gümüşhacıköy-Merzifon)	850-750
Tokat (Merkez)	620
Sivas (Şarkışla)	1180
Giresun (Şebinkarahisar)	1352
Trabzon (Of-Yomra)	10-37

Tablo 3.2. Örneklenen hayvan ırkları ve yaşları

Bölge	Tür	İrk	Yaş(yıl)
Samsun (Atakum)	Sığır	Jersey	4-8
	Koyun	Bafra	3-6
	Keçi	Kıl Keçisi	3-6
Amasya (Gümüşhacıköy-Merzifon)	Sığır	Holstein	4-6
	Koyun	Bafra	3-6
Tokat (Merkez)	Keçi	Kıl Keçisi	3-6
	Sığır	Simental	4-7
	Koyun	Karayaka	2-5
Sivas (Şarkışla)	Keçi	Kıl Keçisi	3-7
	Sığır	Brown Swiss	4-8
	Koyun	Kangal	3-6
Giresun (Şebinkarahisar)	Keçi	Saanen	3-6
	Sığır	Brown Swiss	3-7
	Koyun	Karayaka	2-5
Trabzon Of-Yomra	Keçi	Kıl Keçisi	2-6
	Sığır	Jersey M.	3-8
	Koyun	Of, Çepni	3-7
	Keçi	Kıl Keçisi	2-8

3.1.2. RNA Ekstraksiyon kiti, Real-Time PCR Kiti, Primerler ve Prob

RNA ekstraksiyonu için, ticari olarak temin edilen High Pure Viral Nucleic Acid Kiti (Roche, Mannheim, Almanya) kullanıldı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda süt numunelerinden viral nükleik asit ekstraksiyonu yapıldı.

Real-Time PCR (rt-PCR) için, ticari olarak temin edilen iTaq Universal Probes One-Step PCR kiti prospektüsüne uygun (Biorad Kaliforniya, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak viral nükleik asit tespiti yapıldı. Real Time PCR reaksiyonunda Schwaiger ve Cassinotti'nin (2003) TBEV için tasarladıkları primer çiftleri ve probu kullanıldı (Schwaiger and Cassinotti, 2003). Kullanılan primer ve prob dizilimine ilişkin bilgiler Tablo 3.3.'de belirtilmiştir. Testte pozitif kontrol olarak Prof. Dr. Manfred Weidmann'dan (Eski adres: Institute for Virology of the University of Gottingen, Germany; Yeni Adres: Institute of Microbiology and Virology, Medical School Brandenburg Theodor Fontane, D-01968 Senftenberg, Germany) temin edilen TBEV plazmidi ve negatif kontrol olarak ise distile su kullanıldı.

Tablo.3.3. TBE için primerler ve probler (Schwaiger and Cassinotti, 2003)

Primer ve Prob Adı	Dizin 5'-3'	Lokalizasyon bölgesi(bp)
F-TBE 1	5'-GGG CGG TTC TTG TTC TCC-3'	11054-11071
F-TBE 2	5'- ACA CAT CAC CTC CTT GTC AGA CT-3'	11099-11121
F-TBE probe	5'FAM-TGA GCC ACC ATC ACC CAG ACA CA-TAMRA3'	11073-11095

3.2. Metot

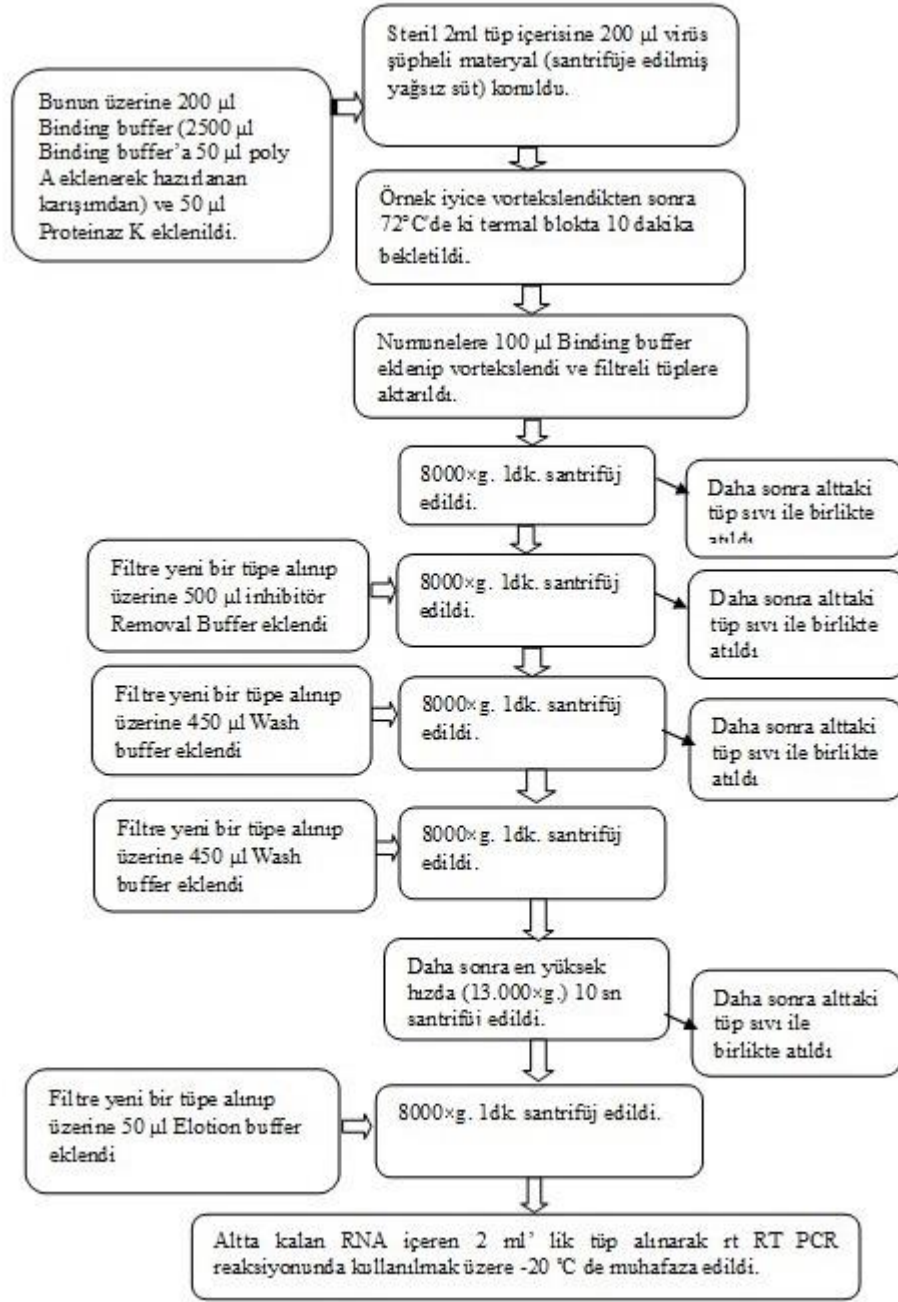
3.2.1. Süt Örneklerinin Hazırlanması

Süt örneklerinden, TBEV RNA'sı tespit edilmesi amacıyla +4°C'de 1.000 × g'de 10 dakika santrifüj edildi. Otomatik pipet yardımıyla santrifüj sonrası üstte oluşan krema tabakasının altındaki yağsız süttten 200 µl alınarak başka bir 2ml' lik mikro tüpe aktarıldı (Cisak et al., 2010).

3.2.2. RNA Ekstraksiyonu

RNA ekstraksiyonu için ticari olarak temin edilen High Pure Viral Nucleic Acid Kiti (Roche, Mannheim, Almanya) kullanıldı (Tablo 3.4.).

Tablo.3.4. RNA Ekstraksiyonu



3.2.3. Minimum Teşhis Limitinin Belirlenmesi

Real-time RT-PCR testinin duyarlılığın hesaplanması amacıyla 3' UTR bölgesinde bulunan ve bu çalışmadan kullandığımız primerlerin gen bölgesini kapsayan 177 bp uzunluktaki pGL II plazmitine klonlanmış plazmitler kullanıldı. Kullanılacak plazmitin konsantrasyonu nanodropta ölçüldü. Ölçüm sonucu aşağıdaki formülde yerine koyularak plazmit solüsyonunda µl'deki viral kopya sayısı

hesaplandı. Plazmid, log₁₀ tabanına göre 9 kez sulandırılarak testin minimum tespit limitini bulmak amacıyla rRT PCR’da standart olarak kullanıldı.

$$\text{Viral partikül (1}\mu\text{l)} = \frac{\text{Miktar } \left(\frac{\text{ng}}{\mu\text{l}}\right) \times 6,022 \times 10^{23}}{[\text{Plazmid + insert edilen gen uzunluğu (bp)}] \times 1 \times 10^9 \times 650}$$

Bu amaçla real-time RT-PCR, Biorad CFX Connect cihazında gerçekleştirildi. Cihaza yukarıdaki formüle göre hazırlanan standartların değeri girildikten sonra üretici firma (Biorad, iTaq Universal Probes One-Step kiti, North Carolina, ABD) talimatları doğrultusunda toplam hacim 20 μl olacak şekilde, her bir standart ve negatif kontrol için; 10 μl 2X iTaq buffer 0.8 μl ileri primer (400 μM), 0.8 μl geri primer (400 μM), 0.4 μl prob (200 μM) (Tablo 3.3.), 0.5 μl reverse transkriptaz, 2,5 μl distile su ve 5 μl örneklerin RNA’sı karıştırıldı (Tablo 3.5.). Amplifikasyonun sıcaklık koşulları: 50°C’de 10 dk RT aşaması, 95°C’de 3 dk ön denatürasyonu takiben, 95 °C’de 5 saniye, 60 °C’de 15 saniye 40 tekrar döngüsünden sonra 12 °C’de soğutma olarak ayarlandı. Bu reaksiyon 3 kez tekrarlandı.

3.2.4. Real-Time RT-PCR

Süt örneklerinden real time RT-PCR için de yukarıdaki reaksiyon şartları ve sıcaklık koşulları uygulandı. Süt dokularından elde edilen RNA’lar, pozitif kontrol olarak standartlarda kullandığımız gen bölgemizi içeren pGL II plazmit ve negatif kontrol olarak steril ultra distile su kullanıldı.

Real Time PCR için ticari olarak temin edilen Biorad, iTaq Universal Probes One-Step kiti kullanılarak mastermiks hazırlandı. PCR işlemi Biorad CFX Connect Real Time System (Biorad, North Carolina, ABD) cihazında gerçekleştirildi.

Tablo 3.5. Real Time PCR miks bileşenleri

Karışım	Hacim (μl)
2x Master Mix	10 μl
Forward Primer (10 pmol)	0,8 μl
Reverse Primer (10 pmol)	0,8 μl
Prob	0,4 μl
Revers Transkriptaz	0,5 μl
Nükleaz Free H ₂ O	2,5 μl
RNA	5 μl
Toplam	20 μl

Tablo 3.5.’te belirtilen oranlarda PCR master miksi hazırlanıp 0,2 ml hacimli tüplere 15’er μl dağıtıldıktan sonra her tüpe 5’er μl örnek RNA’sı ve kontrol tüplerine

pozitif ve negatif kontrol eklendi. Daha sonra kapakları kapatılarak Real-Time PCR cihazına yerleştirildi. Sıcaklık koşulları revers transkripsiyon basamağı için 50°C’de 10 dakika, reverse transkriptaz enzim inaktivasyonu için 95°C’de 3dk inkübe edildi, 1 döngü, ön denatürasyon için 95°C’de 5 saniye, annealing basamağı için 60°C’de 15 saniye süreli inkübasyona bırakıldı, program toplam 40 döngü tekrarlanacak şekilde ayarlandı. Sonuçlar gerçek zamanlı olarak bilgisayar ekranında takip edildi.

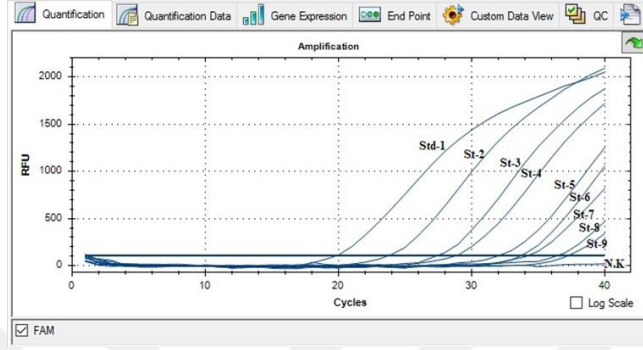
3.2.5. Hücre Kültürü ve Virus İzolasyonu

-80°C’de bekletilen Vero hücre kültürü, içerisinde %20 Fötal sığır serumu ve %1 antibiyotik bulunan 5 ml DMEM hücre üretme vasatı ile 25 cm² yüzey alanına sahip hücre kültürü flasklarında çözdürüldü ve 37°C’ye ve %5 CO₂’ye ayarlı etüvlerde günlük takibi yapıldı. Hücreler flask tabanını kapladıktan sonra 1 flasktan 2 flask olacak şekilde subkültüre edildi. 24 saat sonra flask yüzeyini %80 oranında kaplayan hücreler virus ekimi için ayrıldı. PCR testi sonucunda TBEV yönünden şüpheli tespit edilen örneklerin homojenizatlarından hazırlanan süpernatantlar 0,2 µm çapındaki membran filtrelerinden süzülerek steril edildi. Elde edilen süpernatant ekim için ayrılan hücrelere adsorbsiyonlu yöntemle inoküle edildi. Bu amaçla, hücrelerin içerisindeki vasat döküldü ardından flask hacminin %1’i olacak şekilde steril hale getirilen süpernatant eklendi ve 1 saat 37°C’de inkübe edildi. İnkübasyonun ardından flasklara 5 ml DMEM besi yeri eklendi ve 37°C’lik %5 CO₂’li etüvlerde inkübasyona bırakıldı. Virus ekili hücreler her gün mikroskop altında sitopatik etki (CPE) yönünden takip edildi. Hücreler 5. günün sonunda -80°C’lik derin donduruculara kaldırıldı.

4. BULGULAR

4.1. Minimum Teşhis Limitinin Hesaplanması

Real-time RT-PCR testinin minimum tespit limitini belirlemek amacıyla hazırlanan standartların reaksiyonu gerçekleştirildi. Gerçekleştirilen 3 reaksiyonda da 2 viral kopya/ μl tespiti yapılabildi (Şekil 4.1).

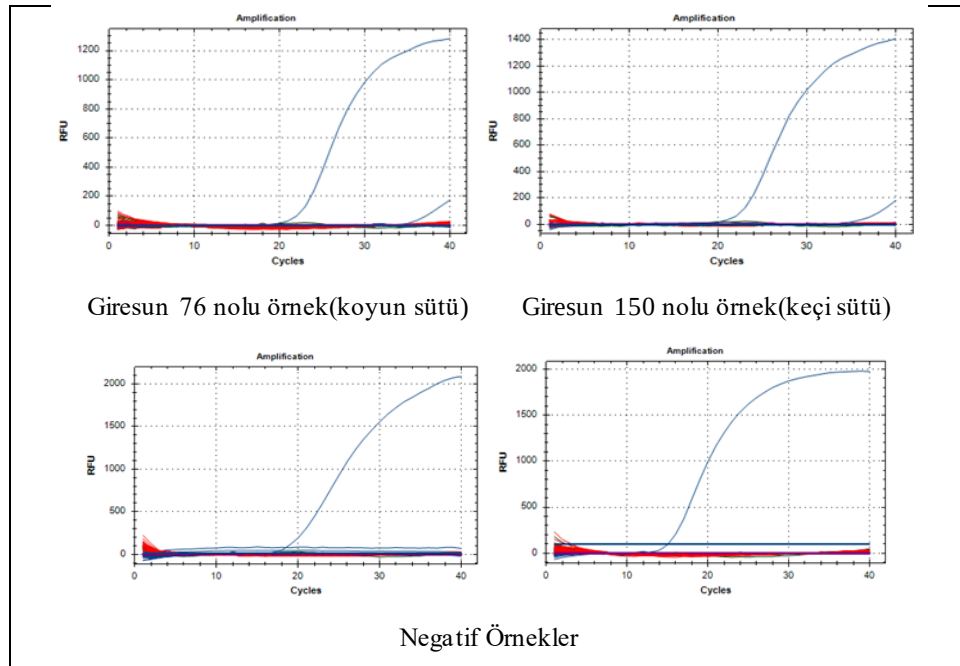


Şekil 4.1. Minimum Teşhis Limitinin Hesaplanması ve Real Time RT-PCR Sonuçları

Std-1: $10^9/\mu\text{l}$, Std-2: $10^8/\mu\text{l}$, Std-3: $10^7/\mu\text{l}$, Std-4: $10^6/\mu\text{l}$, Std-5: $10^5/\mu\text{l}$, Std-6: $10^4/\mu\text{l}$, Std-7: $10^3/\mu\text{l}$, Std-8: $10^2/\mu\text{l}$, Std-9: $10^1/\mu\text{l}$. N.K: Negatif kontrol.

4.2. Real Time RT-PCR Sonuçları

Toplanan süt örneklerinden hazırlanan homojenatlardan RNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra rtRT-PCR işlemi, Tablo 3.5.'de belirtilen karışımla ve bahsi geçen sıcaklık koşullarda tamamlanmasının ardından Şekil 4.2.'deki grafik elde edilmiştir.



Şekil 4.2. Örneklere ait rRT PCR sonuçları

6 ilde toplanan ruminantlara ait toplam 900 süt örneğinde yapılan rRT PCR'da pozitif saptanamamış tamamı negatif sonuç vermiştir. Giresun -76 nolu (koyun sütü) ve Giresun-150 nolu (keçi sütü) rneklerinde rRT PCR sonucu yukarıdaki şüpheli grafikler oluşmuştur (şekil 4.2).

4.3. Hücre Kültürü ve Virus İzolasyonu Sonuçları

rRT-PCR ile şüpheli tespit edilen Giresun-76 nolu (koyun sütü) ve Giresun-150 nolu (keçi sütü) rnekleri virüs izolasyonu için VERO hücre hattında iki pasaj gidildi. İki pasaj sonucunda hücre hattı süpernatantlarında yapılan rRT PCR sonucunda negatif tespit edilmiştir (şekil 4.3).



5. TARTIŞMA

TBEV, arbovirus olarak bilinen kene kaynaklı zoonoz bir patojendir. Virus Asya ve Avrupa’da endemik olup her yıl binlerce kişi TBE hastalığına yakalanmaktadır. TBEV, başlıca vektörleri olan *Ixoides* cinsi sert keneler ile “rezervuar konakçı” olarak adlandırılan bazı küçük memeliler arasında dolaşır (Dobler et al., 2021). Son yirmi yılda, bu virusun yayılımı önemli ölçüde yoğunlaşmış ve mevcut görülme aralığında yeni odaklar ortaya çıkmıştır. İnsan TBEV enfeksiyonlarının çoğunluğu konakçı derisinden beslenen kenelerle ilişkilidir, ancak çiğ sütün faydaları, aroması vb. nedenlerle artan tüketimine bağlı olarak süt yoluyla bulaşma da uzun süredir bildirilmektedir. TBE son yıllarda sadece Avrupa’da değil, tüm dünyada giderek artan bir sağlık sorunu haline gelmiştir (Buczek et al., 2022).

Kene kaynaklı ensefalit (TBE) Avrasya’da en sık görülen viral nörolojik hastalıktır. Genellikle kene ısırması yoluyla bulaşır ancak TBEV ile enfekte süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi yoluyla da ortaya çıkmaktadır. Küresel çiğ süt tüketimindeki artış, TBE’nin gıda kaynaklı yayılmasına katkıda bulunmaktadır (Jayarao et al., 2006; Chien et al., 2008; Buczek et al., 2022).

Gıda kaynaklı TBEV enfeksiyonları, Avrupa’da endemik olmayan bölgelerde tespit edilmesi giderek büyüyen bir endişe kaynağıdır. TBEV’nin eko-epidemiolojik durumu hakkında veteriner gözetiminin, tıbbi gözetimden daha fazla bilgi sağlayacağına inanılmaktadır. Ruminantlar (sığır, koyun ve keçi), yabani hayvanlar (yaban domuzu, karaca ve kızıl tilki), TBEV’ nin tespiti ve sürveyansı için uygun gözcü hayvanlardır. Küçük ruminantlarda TBEV enfeksiyonu genellikle asemptomatiktir, ancak TBEV antikorları bu hayvanlarda yıllarca sürdüğü bildirilmiştir (Adjadj et al., 2022).

Bir grup insan, çiğ sütün bazı hastalıkları önleyebileceğine ve tedavi edebileceğine inanmaktadır (Balogh et al., 2012). Çiğ keçi sütü Avrupa’da son zamanlarda bağışıklık sistemi üzerinde bilinen faydalarından dolayı daha fazla tercih edilmektedir. Bazı tüketiciler çiğ sütün tadının ya da lezzetinin, pastörize süttten daha iyi ve besleyici olduğuna inanmaktadır. Çiğ keçi, koyun ve inek sütü tüketimi TBEV ile enfeksiyon riski ile ilişkili olabilir. Bu nedenle, özellikle meralarda otlayan keçi, koyun ve ineklerin bulunduğu yerlerde kene ısırığına maruz kaldığından çiğ sütlerin tüketilmeden önce TBEV’ den arındırılması için pastörizasyon şiddetle tavsiye edilir (Dorko et al., 2018).

Avrupa ülkelerinde keçi, koyun ve ineklerde süt örneklerinde yapılan bazı çalışmalarda virus tespiti yapılamamasına rağmen, TBE'nin seropozitif durumu gıda kaynaklı salgın şüphesini doğrulamıştır (Zeman et al., 2004; Cains et al., 2012). Antikorların kanda, virustan daha uzun süre kalması ve tespitinin daha ucuz olması nedeniyle saha taramalarında antikor tespit eden testlerin kullanılması önerilmektedir (Kerlik et al., 2018). Gıda kaynaklı TBE salgınlarının çoğu pastörize edilmemiş keçi sütü ve süt ürünleri ile bağlantılı daha az sıklıkla koyun, inek sütü ve süt ürünleri bağlantılıdır (Gresikova et al., 1975; Holzmann et al., 2009; Kriz et al., 2009; Hudopisk et al., 2013; Zoldi et al., 2013). Bunun nedeni muhtemelen iki tür arasındaki hayvan yetiştirme yöntemlerindeki farklılıklardır. Süt sığırları kapalı alanlarda, entegre işletmelerde, suni yemlerle beslenir ve sığırlara ait sütler süt endüstrisinde her zaman pastörize edilerek kullanılır. Sığırlardan elde edilen peynirlere de TBEV' i inaktive eden tuz katılmaktadır. Buna karşılık, keçiler küçük aile çiftliklerinde meralarda otlatılarak beslenmekte ve çiftçiler peynir yapımında çeşitli kontrolsüz tarifler uygulamaktadır. Keçi sütü ve süt ürünleri üreticileri ürünlerini dükkanlarda veya pazarlarda değil genellikle gayri resmi rotalarda kontrolsüz olarak satmaktadır. Keçiler, kenelerle sıklıkla karşılaşabileceği çalılık alanlarda, ormanların sınırlarında otlatılır. Bir sorun da tüketicilerin keçi sütünü kaynatmanın sütün biyolojik değerini bozacağı düşünüldüğünden kaynatma eğiliminde olmamalarıdır. Keçilerin bakım, beslenme ve keçi sütünün kaynatılmama alışkanlığı virus ile insanlar arasındaki rotayı oluşturmaktadır (Ronai and Egyed, 2020). Keçiler diğer türlere oranla daha sıkı bir kıl yapısına sahiptir. Keçiler, koyunları kenelerden ve diğer ektoparazitlerden koruyabilen lanolinden yoksundur (Kerlik et al., 2018). Enfekte keçilerin sütünde enfeksiyon sonrası 19 güne kadar ölçülebilir virus bulunmuştur, ancak aşılanmış keçiler süt yoluyla TBEV saçmamıştır.

Tüm bu dezavantajların bir araya geldiği keçilerin neden gıda kaynaklı TBE için ana bulaş kaynağı olduğu daha kolay anlaşılmaktadır (Balogh et al., 2012; Paulsen et al., 2019).

Çalışma bölgelerimizde keçiler ve koyunlar iklim şartları müsaade ettiği sürece yılın yaklaşık 10 ayı açık alanlarda meralarda otlatılmaktadır. Sığırlar yılda yaklaşık 6 ay otlatılmakta olup koyun ve keçilere göre daha az otlatılmaktadır. Koyun ve keçiler, sığırlara göre bölgemizde bulunan ve TBEV'e vektörlük eden *Ixodes* kenelere maruz

kalma olasılığı daha fazladır. Çalışmamıza merada otlayan ve kene enfestasyonlu ruminantlar (sığır, koyun, keçi) dahil edilmiştir.

Süt işleme sırasında sütün sıcaklığı peynir üretiminde 35°C'yi aşmamaktadır. Bölgemizde de sığır, koyun ve keçi süt işletmelerinde yöresel süt ürünleri olarak adlandırdığımız yeterli sıcaklığın uygulanmadığı süt, taze peynir, kaymak, tereyağı yapılmakta ve tüketilmektedir. Buna bağlı olarak gıda kaynaklı TBEV riski bulunmaktadır. TBE virusu 4-8°C' de enfektivitesini sürdürdüğü ve tam virülansı koruduğu bildirilmiştir. Peynir üretiminde yaygın olarak kullanılan oda sıcaklığında (22-24°C) soğutma, virus sayısını azaltmasına rağmen kalan viral yük hala hastalığa neden olmak için yeterlidir (Offerdahl et al., 2016).

Yüksek sıcaklık ve kısa süreli pastörizasyon protokolleri virusu tamamen inaktive etmiştir (Offerdahl et al., 2016). Pastörizasyon yöntemi olarak adlandırılan "yüksek sıcaklık, kısa zaman" (HTST), sütün pastörizasyonu için en yaygın ticari yöntemlerden biridir (Dorko et al., 2018). HTST pastörizasyonu sütün 15 saniye boyunca 72°C'ye ısıtılması gerektiğini belirtir ve ardından hemen soğutma sıcaklığına (4°C) soğutulur (Offerdahl et al., 2016).

Sütün pastörize edilmesi TBEV' i inaktive etmenin etkili bir yolu olup TBE' in gıda kaynaklı riskini ortadan kaldırmaktadır. Pastörizasyon ayrıca *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Salmonella* ve *Listeria monocytogenes* gibi diğer gıda kaynaklı patojenleri de önler. Bununla birlikte, pastörize edilmemiş ürünlerin tüketimine yönelik hala birçok savunucu vardır (Omazic et al., 2023).

TBE'in gıda yoluyla bulaşması en çok Slovakya, Çekya, Macaristan, Rusya ve Slovenya'da bildirilmiştir (Caini et al., 2012; Hudopisk et al., 2013; Kerlik et al., 2018).

Slovakya'da 1951-2000 yılları arasında, 1951 yılındaki Roznava'daki en büyük salgın da dahil olmak üzere 10 gıda kaynaklı TBE salgınında hiçbirinde virus izole edilememesine rağmen, salgınlarla ilişkili keçi ve koyunlar her zaman seropozitif tespit edilmiştir. Antikor prevalansı %2,4-%100 arasında değişmiştir. 2007-2016 yılları arasında Slovakya'da bildirilen TBE vakalarının %17'si gıda yoluyla bulaşmadan kaynaklanmıştır. Slovakya'da 2007-2008 yılları arasında gıda yoluyla bulaşan TBE salgınlarına yol açan 26 gıda kaynaklı yerel TBE salgını rapor edilmiştir (Kerlik et al., 2018).

Norveç'te, TBE yönünden endemik ve endemik olmayan bölgelerden toplanan çiğ inek sütünde TBEV RNA'sı %5,4 oranında tespit edilmiştir (Paulsen et al., 2019). Norveç'te ineklerin sütünde (%13,4 seropozitiflik), seruma kıyasla daha düşük antikor seviyeleri elde edilmiştir (Paulsen et al., 2019). Norveç'te yapılan çalışmada geyikler, özellikle de karacalar (*Capreolus capreolus*) yaygın bir konakçı olduğu ve bu nedenle TBE sürveyansında gözlemci türler olarak bildirilmiştir (Holding et al., 2020; Paulsen et al., 2020; Krzysiak et al., 2021). 2007 yılında Macaristan'da bir çiftlikte keçi sütü tüketen 154 kişiden 25'i TBEV'e yakalanmıştır (Balogh et al., 2010).

2008 yılında Avusturya'da yedi kişiden dördü keçi peyniri tüketerek TBEV'e yakalandığı bildirilmiştir (Holzmann et al., 2009). Romanya'da TBE-pozitif bölgeleri tespit etmek için koyunlar gözcü olarak kullanılmış ve ülkenin kuzeybatısında koyunlarda %15 seropozitiflik tespit edilmiştir (Salat et al., 2017).

Çekya'da 1997 ve 2008 yılları arasında pastörize edilmemiş süt tüketimi sonucu 64 hastada TBE vakası tespit edilmiştir. Pastörize edilmemiş süt veya süt ürünleri tükettiğini bildiren hastalarda keçi sütü veya peyniri (%56,3), koyun sütü veya peyniri (%32,8) ve inek sütü (%10,9) kaynaklı olduğu kaydedilmiştir (Kriz et al., 2009). Çekya'da toplam seroprevalans keçiler %19,7 ve koyunlar %32,5 arasında önemli ölçüde farklılık göstermiştir. Bu fark keçi ve koyun yetiştiriciliğinde işletmeler arasındaki farklı uygulamalardan kaynaklanmaktadır. Çekya'da, koyun sürüleri genellikle geniş meralarda otlatılır. Keçiler genellikle yıl boyunca ağıllarda tutulurken günlük otlatma veya sadece padoklarda beslenmektedir. Bu nedenle koyunlar daha çok meralarda otlarken kenelere maruz kalma dolayısıyla TBEV ile enfekte olmaları daha büyük ihtimaldir (Bauer et al., 2021).

Avrupa'da sığırlar'da yapılan 8 çalışmada (ikisi Norveç'ten, birer tanesi Belçika, Finlandiya, Macaristan, Litvanya, Hollanda ve Polonya'dan) Hollanda'da %0,0 ile Macaristan'da %26,5 arasında değişen seroprevalanslar bildirmiştir (Springer et al., 2020).

Almanya'da yapılan bir araştırma keçilerde TBEV seroprevalansının koyunlardan daha düşük olduğunu ortaya koymuştur (Klaus et al., 2012). Ayrıca, başka yazarlar da yakın zamanda yaptıkları çalışmalarda merada beslenen koyun sürülerinin *I. ricinus* kenelerin doğal yaşam alanları ile temasta olduklarından TBEV-seropozitifliği koruma altında beslenen koyunlara göre daha yaygındır (Bauer et al.,

2021). Almanya'da koyun ve keçilerde sürü içi TBE seroprevalans oranı %2,3-25 arasında değişmektedir (Bauer et al., 2021). Almanya'da yakın zamanda yapılan bir çalışmada, yüksek seroprevelansa sahip koyun ve keçi dökme tank sütlerinde TBEV RNA'sı aranmıştır. Koyun ve keçilerden toplanan 104 dökme tank sütü örneğinin hiçbirinde TBEV RNA'sı tespit edilmemiştir. Bu nedenle, sütte TBEV'in sürveyans ve enfeksiyon risk değerlendirmesi için TBEV'e özgü antikorların serolojik test edilmesi, TBEV RNA'nın doğrudan tespit edilmesine tercih edilir (Klaus et al., 2012; Kerlik et al., 2018; Bauer et al., 2021).

Litvanya'da yakın zamanda keçi ve koyun süt toplama tankları kullanan işletmelerde RT-PCR ile yapılan bir çalışmada keçilerde %4,3, koyunlarda %4,5 TBEV RNA' sı tespit edilmiştir (Pautienius et al., 2021).

Polonya'da TBEV varlığı için rastgele seçilmiş çiğ süt ve süt ürünlerinde RT-PCR ile çalışma yapılmıştır. En fazla TBEV, koyun sütünde (%22,2) rastlanmış olup, bunu keçi sütü (%20,7) ve inek sütü (%11,1) izlemektedir (Cisak et al., 2010). Çalışmada özellikle koyun ve keçilerde elde edilen sonuçlar TBE'nin endemik alanlardaki prevelansı halk sağlığı açısından kayda değerdir. İnek sütünün yaygın tüketimi nedeniyle yüzde 10'undan fazlasında TBEV varlığının çiğ inek sütü örnekleri epidemiyolojik önem taşımaktadır. İncelenen 27 inekten 1'inin sütünden TBEV'i izole edilmiştir. TBEV'in keçi sütü veya peynirinde görülmesi, yapılan çalışmalarda insanlarda klinik vakalarla eş zamanlı olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (Holzmann et al., 2009; Kriz et al., 2009; Balogh et al., 2010; Cisak et al., 2010). Aynı çalışmada, TBEV'ne spesifik antikorların ELISA ile test edilen örnekler RT-PCR ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Süt örneklerinin incelenmesinin sonuçları spesifik anti-TBEV antikorlarının varlığı için ELISA testi RT-PCR ile elde edilenlerle korelasyon göstermemiştir. Bu durum ELISA testinin, sütte TBEV varlığını tespit etmek için RT-PCR ile karşılaştırıldığında daha az uygun olduğunu göstermektedir (Cisak et al., 2010). Polonya'da geviş getiren hayvanlarda TBE haricinde başka bir flavivirus enfeksiyonu bildirilmemiştir. Bu nedenle tespit edilen seropozitif sonuçların çapraz nötralizasyona bağlı olarak başka bir flavivirus enfeksiyonu akla getirmesi olası değildir (Krzysiak et al., 2021).

İsveç'te 554 süt çiftliğinden hem ilkbaharda (Mayıs) hem de sonbaharda (Kasım) alınan dökme tank sütü örneklerinin TBEV antikor analizleri yapılmıştır. Sonbaharda (%4,8) toplanan dökme tank sütlerinin TBEV antikorları insidansı,

ilkbahara (%3,0) kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir. Bu nedenle süt çiftliklerinde elde edilen süt ve süt ürünlerinde TBEV' in prevalansının izlenmesi için süt toplama tanklarında yapılan çalışmalar daha kolay, daha az maliyetli ve daha kapsamlı bir yaklaşımdır (Blomqvist et al., 2021). Dökme tank sütündeki antikor seviyeleri ile sürünün ortalama serum antikor seviyeleri arasında makul öngörülebilir bir korelasyonun olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmada serolojik çalışmaların yararlı olabileceği bildirilmiştir (Blomqvist et al., 2021).

Her ne kadar tank sütü örneklerinin gözlemci olarak çalışılması sınırlı olsa da yine de önemli avantajlar sunmaktadır. Uygulamada örnekleme kolaydır; bir örnek enfeksiyona maruz kalmış olabilecek çok sayıda bireyleri temsil eder. Örnekleme otlatma sezonuna veya vektörlerin aktif olduğu enfeksiyona maruz kalma ihtimalinin daha fazla olabileceği döneme göre düzenlenebilir (Blomqvist et al., 2021).

TBE'in gıda kaynaklı enfeksiyon riskini azaltmak için çiftlik hayvanlarının TBEV' e karşı aşılması gerekmektedir. Keçilerin, insan TBEV aşısı ile deneysel bağışıklanması hayvanları enfeksiyondan korur ve virusun süt ve süt ürünleri ile atılmasını önler (Balogh et al., 2012). Ayrıca, yakın zamanda veteriner kullanımı için aşı geliştirilmiştir. Geliştirilen bu aşının deneysel olarak enfekte edilmiş laktasyondaki koyunlarda, virusun sütle atılımını önlediği bildirilmiştir (Salat et al., 2018; Salat et al., 2022).

TBEV-Eu'nun vektörü *Ixodes ricinus* keneleridir. Ülkemiz ve çalışmamızın yürütüldüğü Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi TBEV endemik alanlar ile benzer coğrafi, iklim koşullarına sahip olup *I. ricinus* keneleri bölgemizde görülmektedir. Fakat TBEV' nin epidemiyolojisi ve endemik bölgelerin varlığı ile ilgili bilgiler kısıtlıdır (Suss, 2008; Vatansever vd., 2008; Ergunay et al., 2011; Albayrak vd., 2012).

Ülkemizde TBEV ile ilgili ilk çalışma 1968'de nedeni bilinmeyen üç MSS hastanın serumunda HI testi ile TBEV antikor titresi tespit edilmiştir (Serter, 1968). 1980 yılında, Ege Bölgesi'nde 1074 sağlıklı insanda yapılan seroprevalans çalışmasında TBEV seropozitifliği HI testi ile %1,4, nötralizasyon testi ile %1,2 olarak bulunmuştur ve bu bölgede TBE'nin sporadik olarak görülebileceği belirtmiştir (Serter, 1980).

2006 yılında kene ısırığı şikayetiyle gönderilen 278 insan serum örneklerinde ELISA ile TBEV IgG antikorlarına bakılmıştır. Dört olguda (%1,4) TBEV IgG

antikorlarına rastlanmıştır (Uyar et al., 2007). 2007'de Şanlıurfa'da insanlarda ELISA yöntemi ile yapılan bir araştırmada TBEV IgG pozitifliği %10,5, TBEV IgM pozitifliği ise %5 olarak bildirilmiştir (Ergunay et al., 2007). 2009 yılında Ankara, Konya, Eskişehir ve Zonguldak'tan temin edilen 2454 sağlıklı kan donöründe KKEV seroprevalansı ELISA ile %1.9 oranında saptanmış ve ormanda çalıştığı belirtilen bir kişinin pozitif örneği PRNT ile doğrulanmıştır (Ergunay et al., 2011). Sinop' ta 2010'da 273 kişinin serumunda IIFT ile yapılan çalışmada %2,6 TBEV IgG pozitifliği bildirilmiştir (Güneş et al., 2010).

Samsun ili Tekkeköy İlçesinde ELISA ile yapılan çalışmada 419 örneğin ikisinde TBEV'ye özgü IgG ve birinde IgM pozitifliği tespit edilmiştir. Sonuçlar nötralizasyon testi ile doğrulanamamıştır (Başbulut et al., 2012). Karadeniz bölgesinde ruminantlardan toplanan kenelerde RT PCR ile flavivirus genomik RNA'sı aranmış ve tespit edilememiştir (Albayrak vd., 2013). Orta Karadeniz bölgesinde bulunan Amasya (n.630), Tokat (n:60) ve Ordu (n:228) illerinde kene tutunması şikayetiyle sağlık kuruluşlarına başvuran insanlardan toplanan *I. ricinus* veya diğer *ixodid* kene türlerinde RT-PCR ile TBEV RNA'sı aranmış ve tespit edilememiştir (Karan et al., 2014).

Mersin'de 2010-2011 yılları arasında asemptomatik 920 kan donöründe IIFT ile yapılan çalışmada iki örnekte TBEV IgG pozitifliği tespit edilmiş ancak PRNT ile negatif sonuç alınmıştır (Tezcan et al., 2014). Ülkemizde çocuklarda yapılan çalışmada TBEV' ye karşı IgM antikorları, 3-5 yaş arasındaki beş çocukta tespit edilmiştir. Moleküler tanıda, örneklerinin hiçbirinde (IgM' ye özgü antikorları olan çocuklarda dahil), TBEV-RNA'sı tespit edilememiştir. Serolojik sonuçlar, Türkiye' deki çocukların TBEV'ye maruz kaldığını göstermiştir (Yılmaz et al., 2019).

2019 yılında Samsun, Tokat ve Sivas'ta yapılan çalışmada; çeşitli ruminant türlerinden (sığır, keçi ve koyun) toplanan tam kan, serum örnekleri ve sert keneler, TBEV-RNA'sı ve TBEV IgG antikorlarının varlığı açısından araştırılmıştır. Toplam 2625 kene ve 708 kan örneğinde TBEV genomik RNA'sına rastlanmamıştır. Bununla birlikte, anti-TBEV antikorları için yapılan serolojik incelemede, TBEV IgG antikoru şu şekilde bulunmuştur: 198 sığırın 61'inde (%30,8), 115 keçinin 7'sinde (%6,1) ve 147 koyunun 15'inde (%10,2) ve ELISA testi ile doğrulanmıştır (Asal et al., 2022).

Anadolu ve Trakya'da çeşitli bölgelerde yapılan kene araştırmalarında şimdiye kadar hiçbir örnekte virus RNA'sı tespit edilememiştir. Bu nedenle, geçmişte ya da halen devam eden TBEV dolaşımı konusu halen belirsizliğini korumaktadır (Ergunay et al., 2020).

Bu çalışma Ülkemizde gıda kaynaklı TBEV'nin durumu ile ilgili yapılan ilk çalışmadır. Çalışmamızda, Samsun (150), Tokat (150), Amasya (150), Sivas (150), Giresun (150) ve Trabzon (150) illerinden örneklenen toplam 900 (koyun, keçi, sığır) hayvanın sütünde rt RT PCR ile TBEV RNA'sı aranmış ve tespit edilememiştir. Ülkemizde daha önce insanlarda, hayvanlarda, kenelerde yapılan çalışmalarda seropozitiflikler tespit edilmiş olup, TBEV RNA'sı tespit edilememiştir. Bunun nedeni olarak insanlarda ve hayvanlarda TBEV RNA'sı 2-7 gün arasında değişen viremi dönemi dışında direkt PCR ile kan, BOS ve sütte tespit edilememesi olarak düşünmekteyiz. Direkt PCR ile tespit edilebilecek viremi döneminde insanlarda ve hayvanlarda klinik semptomların görülmemesi TBEV RNA tespitini zorlaştıran bir başka nedendir. Süt örneklerinin toplandığı dönemde hayvanların viremi döneminde olmaması nedeniyle TBEV RNA'sı tespit edilememiştir. Çalışmadaki bu sonuçlar Almanya'da yapılan çalışma ile uyumludur. Almanya'da 2017-2018 yılları arasında koyun ve keçilerde yapılan çalışmalarda %2,2-12,5 sürü içi seropozitiflik tespit edilmiştir. Aynı çalışmanın bir parçası olarak Temmuz-2020'de 70 keçi, 39 koyun sütünde qRT-PCR ile TBEV RNA'sı tespit edilememiştir(Bauer et al., 2021).

Ülkemizde ve bölgemizde daha önce TBEV ile ilgili yapılan, serum antikor çalışmalarının bir tanesi dışında hiçbir PRNT ile doğrulanmaması seropozitiflerin flaviviruslerde yaygın görülen çapraz reaksiyondan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Sütte, TBEV-RNA'nın RT PCR ile doğrudan tespiti evcil ruminantlarda viremi döneminin kısa olması (2-7gün), maliyetli ve yoğun emek gerektirmesi nedeniyle başarı oranı düşüktür. Yani RT PCR inkübasyon fazının bitiminden sonraki 2-7 gün içinde pratikte yararlıdır.

Bölgemizdeki keneler TBEV ile enfekte olmadığından ruminantlara enfeksiyonu bulaştırmamış ve süt örneklerinde TBEV RNA'sı tespit edilememiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Flaviviridae ailesi, *Ortoflavivirus* cinsi içerisinde yer alan TBEV keneler aracılığıyla bulaşmaktadır. Zoonoz olan TBE enfeksiyonu insanlara kenelerin direkt tutunması veya enfekte kenelerin ruminantlara (sığır, koyun, keçi) tutunması esnasında bulaşmaktadır. Enfekte ruminantlarda asemptomatik seyreden enfeksiyon bu hayvanların sütleri ile gıda kaynaklı TBE enfeksiyonlarına yol açmaktadır. Samsun, Giresun, Trabzon, Tokat, Amasya ve Sivas illerini kapsayan ruminant sütlerinde TBEV' nin varlığı ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmada TBEV RNA'sına rastlanmamıştır. Halk sağlığı açısından olumlu bir durum olarak görmekteyiz.

TBEV'nin ruminant sütlerinde rRT-PCR ile direkt tespitinde viremi dönemi önemlidir. Ruminantlarda asemptomatik seyreden TBE'nin viremi dönemi 2-7 gün arasında değişmekte olup bu dönemi yakalamak için kene enfestasyonlarının yaygın olduğu dönemlerde süt toplama tanklarında bir hafta aralıklarla örnek toplanması daha uygun olacaktır. TBEV ile ilgili yapılacak çalışmaların tek sağlık yönünden yaklaşılması, insanlarda görülen menenjit, ensefalit, meningo ensefalit ve miyelit gibi nörolojik belirtilerde gıda kaynaklı TBE gözardı edilmemelidir. TBEV'in bulaşmasına vektörlük eden *I. ricinus* keneleri çalışma bölgemizde mevcut olup buna karşılık ruminantlar ektoparazitlere karşı ilaçlanmalıdır. Gıda kaynaklı TBEV'e karşı alınabilecek en önemli tedbir ruminant sütlerinin uygun koşullarda pastörizasyonudur.

KAYNAKLAR

- Adjadj, N. R., Vervaeke, M., Sohler, C., Cargnel, M. and De Regge, N. (2022). Tick-Borne Encephalitis Virus Prevalence in Sheep, Wild Boar and Ticks in Belgium. *Viruses*, 14(11). doi:10.3390/v14112362
- Albayrak, H., Ozan, E. and Kurt, M. (2012). Serosurvey and molecular detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV) in northern Turkey. *Trop Anim Health Prod*, 44(7), 1667-1671. doi:10.1007/s11250-012-0122-4
- Albayrak, H., Ozan, E., Cavunt, A., Kadi, H., et al. (2013). Investigation of Tick- and Mosquito-Borne Flaviviruses in Blacksea Region. *Ataturk Univ Vet Bilim Derg.* 8(2), 105-111.
- Amicizia, D., Domnich, A., Panatto, D., Lai, P. L., Cristina, M. L., Avio, U., & Gasparini, R. (2013). Epidemiology of tick-borne encephalitis (TBE) in Europe and its prevention by available vaccines. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 9(5), 1163-1171.
- Angulo, F. J., Zhang, P., Halsby, K., Kelly, P., Pilz, A., Madhava, H., Jodar, L. (2023). A systematic literature review of the effectiveness of tick-borne encephalitis vaccines in Europe. *Vaccine*, 41(47), 6914-6921. doi:10.1016/j.vaccine.2023.10.014
- Asal, G., Tamer, C., and Albayrak, H. (2022). Serological survey and molecular investigation of tick-borne encephalitis virus in Northern Turkey. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 33(1), 34-39.
- Bakhvalova, V.N., Dobrotvorsky, A.K., Panov, V.V., Matveeva, V.A., Tkachev, S.E., and Morozova, O.V. (2006). Natural tick-borne encephalitis virus infection among wild small mammals in the southeastern part of western Siberia, Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 6(1), 32-41. doi:10.1089/vbz.2006.6.32
- Bakhvalova, V.N., Potapova, O.F., Panov, V.V., and Morozova, O.V. (2009). Vertical transmission of tick-borne encephalitis virus between generations of adapted reservoir small rodents. *Virus Res*, 140(1-2), 172-178. doi:10.1016/j.virusres.2008.12.001
- Balogh, Z., Ferenczi, E., Szeles, K., Stefanoff, P., Gut, W., Szomor, K. N., Takacs, M., and Berencsi, G. (2010). Tick-borne encephalitis outbreak in Hungary due to consumption of raw goat milk. *J Virol Methods*, 163(2), 481-485. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2009.10.003>
- Balogh, Z., Egyed, L., Ferenczi, E., Ban, E., Szomor, K.N., Takacs, M. and Berencsi, G. (2012). Experimental infection of goats with tick-borne encephalitis virus and the possibilities to prevent virus transmission by raw goat milk. *Intervirology*, 55(3), 194-200. doi:10.1159/000324023
- Banovic, P., Diaz-Sanchez, A. A., Duric, S., Sevic, S., Turkulov, V., Lendak, D., Mikic, S. S., Simin, V., Mijatovic, D., Bogdan, I., Potkonjak, A., Savic, S., Obregon, D., and Cabezas-Cruz, A. (2022). Unexpected TBEV Seropositivity in Serbian Patients Who Recovered from Viral Meningitis and Encephalitis. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 11(3), 371. <https://doi.org/10.3390/pathogens11030371>
- Başbulut, E.A., Gözalan, A., Sönmez, C., Çöplü, N., Körhasan, B., Esen, B. ve Ertek, M. (2012). Samsun kırsalında *Borrelia burgdorferi* ve kene ensefaliti virüsü seroprevalansının araştırılması. *Mikrobiyol Bul*, 46(2), 247-256.
- Bauer, B.U., Konenkamp, L., Stoter, M., Wolf, A., Ganter, M., Steffen, I. and Runge, M. (2021). Increasing awareness for tick-borne encephalitis virus using small ruminants as suitable sentinels: Preliminary observations. *One Health*, 12, 100227. doi:10.1016/j.onehlt.2021.100227

- Beaute, J., Spiteri, G., Warns-Petit, E. and Zeller, H. (2018). Tick-borne encephalitis in Europe, 2012 to 2016. *Euro Surveill*, 23(45). doi:10.2807/1560-7917.ES.2018.23.45.1800201
- Bieber, K. and Autenrieth, S.E. (2020). Dendritic cell development in infection. *Mol Immunol*, 121, 111-117. doi:10.1016/j.molimm.2020.02.015
- Blom, K., Cuapio, A., Sandberg, J.T., Varnaite, R., Michaëlsson, J., Björkström, N.K., Sandberg, J.K., Klingström, J., Lindquist, L., Gredmark Russ, S., and Ljunggren, H.G. (2018). Cell-Mediated Immune Responses and Immunopathogenesis of Human Tick-Borne Encephalitis Virus-Infection. *Frontiers in immunology*, 9, 2174. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02174>
- Blomqvist, G., Naslund, K., Svensson, L., Beck, C., and Valarcher, J. F. (2021). Mapping geographical areas at risk for tick-borne encephalitis (TBE) by analysing bulk tank milk from Swedish dairy cattle herds for the presence of TBE virus-specific antibodies. *Acta Vet Scand*, 63(1), 16. doi:10.1186/s13028-021-00580-4
- Boelke, M., Bestehorn, M., Marchwald, B., Kubinski, M., Liebig, K., Glanz, J., Schulz, C., Dobler, G., Monazahian, M. and Becker, S.C. (2019). First Isolation and Phylogenetic Analyses of Tick-Borne Encephalitis Virus in Lower Saxony, Germany. *Viruses*, 11(5), 462. <https://doi.org/10.3390/v11050462>
- Bogovic, P. and Strle, F. (2015). Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management. *World J Clin Cases*, 3(5), 430-441. doi:10.12998/wjcc.v3.i5.430
- Bogovic, P., Lotric-Furlan, S., Avsic-Zupanc, T., Lusa, L., and Strle, F. (2018). Factors associated with severity of tick-borne encephalitis: A prospective observational study. *Travel Med Infect Dis*, 26, 25-31. doi:10.1016/j.tmaid.2018.10.003
- Böhm, B., Schade, B., Bauer, B., Hoffmann, B., Hoffmann, D., Ziegler, U., Beer, M., Klaus, C., Weissenböck, H. and Böttcher, J. (2017). Tick-borne encephalitis in a naturally infected sheep. *BMC veterinary research*, 13(1), 267. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1192-3>
- Borde, J.P., Kaier, K., Hehn, P., Matzarakis, A., Frey, S., Bestehorn, M., Chitimia-Dobler, L. (2021). The complex interplay of climate, TBEV vector dynamics and TBEV infection rates in ticks-Monitoring a natural TBEV focus in Germany, 2009-2018. *PLoS One*, 16(1), e0244668. doi:10.1371/journal.pone.0244668
- Brockmann, S.O., Oehme, R., Buckenmaier, T., Beer, M., Jeffery-Smith, A., Spannenkrebs, M., Dobler, G. (2018). A cluster of two human cases of tick-borne encephalitis (TBE) transmitted by unpasteurised goat milk and cheese in Germany, May 2016. *Euro Surveill*, 23(15). doi:10.2807/1560-7917.ES.2018.23.15.17-00336
- Buczek, A. M., Buczek, W., Buczek, A., and Wysokinska-Miszcuk, J. (2022). Food-Borne Transmission of Tick-Borne Encephalitis Virus-Spread, Consequences, and Prophylaxis. *Int J Environ Res Public Health*, 19(3). doi:10.3390/ijerph19031812
- Caini, S., Szomor, K., Ferenczi, E., Szekelyne Gaspar, A., Csohan, A., Krisztalovics, K., Molnar, Z., and Horvath, J. (2012). Tick-borne encephalitis transmitted by unpasteurised cowmilk in western Hungary, September to October 2011. *Euro Surveill*, 17(12). Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22490310>.
- Caracciolo, I., Bassetti, M., Paladini, G., Luzzati, R., Santon, D., Merelli, M., Sabbata, G. D., Carletti, T., Marcello, A., and D'Agaro, P. (2015). Persistent viremia and urine shedding of tick-borne encephalitis virus in an infected immunosuppressed patient from a new epidemic cluster in North-Eastern Italy. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 69, 48-51. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2015.05.019>

- Casati Pagani, S., Frigerio Malossa, S., Klaus, C., Hoffmann, D., Beretta, O., Bomio-Pacciorini, N., Lazzaro, M., Merlani, G., Ackermann, R., & Beuret, C. (2019). First detection of TBE virus in ticks and sero-reactivity in goats in a non-endemic region in the southern part of Switzerland (Canton of Ticino). *Ticks and tick-borne diseases*, 10(4), 868–874. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.04.006>
- Chambers, T.J., and Diamond, M.S. (2003). Pathogenesis of flavivirus encephalitis. *Adv Virus Res*, 60, 273-342. doi:10.1016/s0065-3527(03)60008-4
- Chao, L.H., Klein, D.E., Schmidt, A.G., Pena, J.M., and Harrison, S.C. (2014). Sequential conformational rearrangements in flavivirus membrane fusion. *Elife*, 3, e04389. doi:10.7554/eLife.04389
- Chen, X., Li, F., Yin, Q., Liu, W., Fu, S., He, Y., Lei, W., Xu, S., Liang, G., Wang, S., Yang, G., Qi, X., and Wang, H. (2019). Epidemiology of tick-borne encephalitis in China, 2007- 2018. *PloS one*, 14(12), e0226712.
- Chien, Y.J., Chen, W.J., Hsu, W.L., and Chiou, S.S. (2008). Bovine lactoferrin inhibits Japanese encephalitis virus by binding to heparan sulfate and receptor for low density lipoprotein. *Virology*, 379(1), 143-151. doi:10.1016/j.virol.2008.06.017
- Chitimia-Dobler, L., Lemhofer, G., Krol, N., Bestehorn, M., Dobler, G., and Pfeffer, M. (2019). Repeated isolation of tick-borne encephalitis virus from adult Dermacentor reticulatus ticks in an endemic area in Germany. *Parasit Vectors*, 12(1), 90. doi:10.1186/s13071-019-3346-6
- Cisak, E., Wojcik-Fatla, A., Zajac, V., Sroka, J., Buczek, A., and Dutkiewicz, J. (2010). Prevalence of tick-borne encephalitis virus (TBEV) in samples of raw milk taken randomly from cows, goats and sheep in eastern Poland. *Ann Agric Environ Med*, 17(2), 283-286. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21186771>
- Cruz-Oliveira, C., Freire, J. M., Conceicao, T. M., Higa, L. M., Castanho, M. A., and Da Poian, A. T. (2015). Receptors and routes of dengue virus entry into the host cells. *FEMS Microbiol Rev*, 39(2), 155-170. doi:10.1093/femsre/fuu004
- Csango, P.A., Blakstad, E., Kirtz, G.C., Pedersen, J.E., and Czettel, B. (2004). Tick-borne encephalitis in southern Norway. *Emerg Infect Dis*, 10(3), 533-534. doi:10.3201/eid1003.020734
- De Boer, S.M., Kortekaas, J., de Haan, C.A., Rottier, P.J., Moormann, R.J., and Bosch, B.J. (2012). Heparan sulfate facilitates Rift Valley fever virus entry into the cell. *J Virol*, 86(24), 13767-13771. doi:10.1128/JVI.01364-12
- De Pelsmaeker, N., Korslund, L., and Steifetten, O. (2021). High-elevational occurrence of two tick species, *Ixodes ricinus* and *I. trianguliceps*, at their northern distribution range. *Parasit Vectors*, 14(1), 161. doi:10.1186/s13071-021-04604-w
- De Vries, L., and Harding, A. T. (2023). Mechanisms of Neuroinvasion and Neuropathogenesis by Pathologic Flaviviruses. *Viruses*, 15(2). doi:10.3390/v15020261
- Deviatkin, A.A., Kholodilov, I.S., Vakulenko, Y.A., Karganova, G.G., and Lukashev, A.N. (2020). Tick-Borne Encephalitis Virus: An Emerging Ancient Zoonosis? *Viruses*, 12(2). doi:10.3390/v12020247
- Dobler, G., Erber, W., Bröcker, M., and Schmitt, H. J. (2021). *THE TBE BOOK* (F. X. Heinz Ed. Fourth ed.).
- Domnich, A., Panatto, D., Arbuzova, E. K., Signori, A., Avio, U., Gasparini, R., and Amicizia, D. (2014). Immunogenicity against Far Eastern and Siberian subtypes of tick-borne encephalitis (TBE) virus elicited by the currently available vaccines based on the European subtype: systematic review and meta-analysis. *Hum Vaccin Immunother*, 10(10), 2819-2833. doi:10.4161/hv.29984

- Donoso Mantke, O., Aberle, S. W., Avsic-Zupanc, T., Labuda, M., and Niedrig, M. (2007). Quality control assessment for the PCR diagnosis of tick-borne encephalitis virus infections. *J Clin Virol*, 38(1), 73-77. doi:10.1016/j.jcv.2006.09.001
- Donoso-Mantke, O., Karan, L. S., and Ruzek, D. (2011). Tick-borne encephalitis virus: a general overview. *Flavivirus encephalitis*, 133, 156.
- Dorko, E., Hockicko, J., Rimarova, K., Busova, A., Popadak, P., Popadakova, J., and Schreter, I. (2018). Milk outbreaks of tick-borne encephalitis in Slovakia, 2012-2016. *Cent Eur J Public Health*, 26 Suppl, S47-S50. doi:10.21101/cejph.a5272
- Dumpis, U., Crook, D. and Oksi, J. (1999). Tick-borne encephalitis. *Clin Infect Dis*, 28(4), 882-890. doi:10.1086/515195
- Elbaz, M., Gadoth, A., Shepshelovich, D., Shasha, D., Rudoler, N., and Paran, Y. (2022). Systematic Review and Meta-analysis of Foodborne Tick-Borne Encephalitis, Europe, 1980-2021. *Emerg Infect Dis*, 28(10), 1945-1954. doi:10.3201/eid2810.220498
- Ergunay, K., Ozer, N., Us, D., Ozkul, A., Simsek, F., Kaynas, S., and Ustacelebi, S. (2007). Seroprevalence of West Nile virus and tick-borne encephalitis virus in southeastern Turkey: first evidence for tick-borne encephalitis virus infections. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 7(2), 157-161. doi:10.1089/vbz.2006.0574
- Ergünay, K., Saygan, M.B., Aydoğan, S., Litzba, N., Sener, B., Lederer, S., Niedrig, M., Hasçelik, G., and Us, D. (2011). Confirmed exposure to tick-borne encephalitis virus and probable human cases of tick-borne encephalitis in Central/Northern Anatolia, Turkey. *Zoonoses and public health*, 58(3), 220–227. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2010.01342.x>
- Ergünay, K., Polat, C., and Özkul, A. (2020). Vector-borne viruses in Turkey: a systematic review and bibliography. *Antiviral Research*, 183, 104934.
- Fares, M., Cochet-Bernoin, M., Gonzalez, G., Montero-Menei, C.N., Blanchet, O., Benchoua, A., Boissart, C., Lecollinet, S., Richardson, J., Haddad, N., and Coudrier, M. (2020). Pathological modeling of TBEV infection reveals differential innate immune responses in human neurons and astrocytes that correlate with their susceptibility to infection. *Journal of neuroinflammation*, 17(1), 76. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01756-x>
- Fares, W., Dachraoui, K., Chemi, S., Barhoumi, W., Slimane, T. B., Younsi, H., and Zhioua, E. (2021). Tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) ticks, Tunisia. *Ticks Tick Borne Dis*, 12(1), 101606. doi:10.1016/j.ttbdis.2020.101606
- Frimmel, S., Lobermann, M., Feldhusen, F., Seelmann, M., Stiasny, K., Suss, J., and Reisinger, E. C. (2019). Detection of tick-borne encephalitis virus antibodies in sera of sheep and goats in Mecklenburg-Western Pomerania (north-eastern Germany). *Ticks Tick Borne Dis*, 10(4), 901-904. doi:10.1016/j.ttbdis.2019.04.012
- Fuzik, T., Formanova, P., Ruzek, D., Yoshii, K., Niedrig, M., and Plevka, P. (2018). Structure of tick-borne encephalitis virus and its neutralization by a monoclonal antibody. *Nat Commun*, 9(1), 436. doi:10.1038/s41467-018-02882-0
- Garcia-Vozmediano, A., Krawczyk, A.I., Sprong, H., Rossi, L., Ramassa, E. and Tomassone, L. (2020). Ticks climb the mountains: Ixodid tick infestation and infection by tick-borne pathogens in the Western Alps. *Ticks Tick Borne Dis*, 11(5), 101489. doi:10.1016/j.ttbdis.2020.101489
- Garcia, K., Weakley, M., Do, T., and Mir, S. (2022). Current and Future Molecular Diagnostics of Tick-Borne Diseases in Cattle. *Vet Sci*, 9(5). doi:10.3390/vetsci9050241

- Gilbert, L. (2016). Louping ill virus in the UK: a review of the hosts, transmission and ecological consequences of control. *Exp Appl Acarol*, 68(3), 363-374. doi:10.1007/s10493-015-9952-x
- Gir, P., Bestehorn-Willmann, M., Zange, S., Borde, J.P., Dobler, G., and von Buttlar, H. (2020). Tick-Borne Encephalitis Virus Nonstructural Protein 1 IgG Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Differentiating Infection versus Vaccination Antibody Responses. *J Clin Microbiol*, 58(4). doi:10.1128/JCM.01783-19
- Gonzalez, G., Bournez, L., Moraes, R. A., Marine, D., Galon, C., Vorimore, F., Cochin, M., Nougairède, A., Hennechart-Collette, C., Perelle, S., Leparç-Goffart, I., Durand, G. A., Grard, G., Bénét, T., Danjou, N., Blanchin, M., Lacour, S. A., Franck, B., Chenut, G., Mainguet, C., ... Lecollinet, S. (2022). A One-Health Approach to Investigating an Outbreak of Alimentary Tick-Borne Encephalitis in a Non-endemic Area in France (Ain, Eastern France): A Longitudinal Serological Study in Livestock, Detection in Ticks, and the First Tick-Borne Encephalitis Virus Isolation and Molecular Characterisation. *Frontiers in microbiology*, 13, 863725. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.863725>
- Gresikova, M., Sekeyova, M., Stupalova, S., and Necas, S. (1975). Sheep milk-borne epidemic of tick-borne encephalitis in Slovakia. *Intervirology*, 5(1-2), 57-61. doi:10.1159/000149880
- Gritsun, T.S., Lashkevich, V.A., and Gould, E.A. (2003). Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res*, 57(1-2), 129-146. doi:10.1016/s0166-3542(02)00206-1
- Güneş, T., Poyraz, Ö., Ataş, M. ve Alim, A. (2010). Sinop'ta kırsal kesimde yaşayan kişilerde kene kaynaklı ensefalit virusu (TBEV) seroprevalansı. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 44(4), 585-591.
- Heinz, F. X. and Allison, S. L. (2003). Flavivirus structure and membrane fusion. *Adv Virus Res*, 59, 63-97. doi:10.1016/s0065-3527(03)59003-0
- Hennechart-Collette, C., Gonzalez, G., Fourniol, L., Fraisse, A., Beck, C., Moutailler, S., Bournez, L., Dheilly, N. M., Lacour, S. A., Lecollinet, S., Martin-Latil, S., and Perelle, S. (2022). Method for tick-borne encephalitis virus detection in raw milk products. *Food microbiology*, 104, 104003. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104003>
- Hofmeester, T.R., Sprong, H., Jansen, P.A., Prins, H.H.T. and van Wieren, S.E. (2017). Deer presence rather than abundance determines the population density of the sheep tick, *Ixodes ricinus*, in Dutch forests. *Parasit Vectors*, 10(1), 433. doi:10.1186/s13071-017-2370-7
- Holding, M., Dowall, S. D., Medlock, J. M., Carter, D. P., McGinley, L., Curran-French, M., Pullan, S. T., Chamberlain, J., Hansford, K. M., Baylis, M., Vipond, R., & Hewson, R. (2019). Detection of new endemic focus of tick-borne encephalitis virus (TBEV), Hampshire/Dorset border, England, September 2019. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 24(47), 1900658. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.47.1900658>
- Holding, M., Dowall, S.D., Medlock, J.M., Carter, D.P., Pullan, S.T., Lewis, J., Vipond, R., Rocchi, M.S., Baylis, M., and Hewson, R. (2020). Tick-Borne Encephalitis Virus, United Kingdom. *Emerging infectious diseases*, 26(1), 90–96. <https://doi.org/10.3201/eid2601.191085>
- Holzmann, H., Aberle, S.W., Stiasny, K., Werner, P., Mischak, A., Zainer, B., Netzer, M., Koppi, S., Bechter, E., and Heinz, F. X. (2009). Tick-borne encephalitis from eating goat cheese in a mountain region of Austria. *Emerging infectious diseases*, 15(10), 1671–1673. <https://doi.org/10.3201/eid1510.090743>

- Hromnikova, D., Furka, D., Furka, S., Santana, J. A. D., Ravingerova, T., Klocklerova, V., and Zitnan, D. (2022). Prevention of tick-borne diseases: challenge to recent medicine. *Biologia (Bratisl)*, 77(6), 1533-1554. doi:10.1007/s11756-021-00966-9
- Hudopisk, N., Korva, M., Janet, E., Simetinger, M., Grgič-Vitek, M., Gubenšek, J., Natek, V., Kraigher, A., Strle, F., and Avšič-Županc, T. (2013). Tick-borne encephalitis associated with consumption of raw goat milk, Slovenia, 2012. *Emerging infectious diseases*, 19(5), 806–808. <https://doi.org/10.3201/eid1905.121442>
- <https://ictv.global/taxonomy>(Erişim tarihi:20.06.2024).
- Ilic, M., Barbic, L., Bogdanic, M., Tabain, I., Savic, V., Kosanovic Licina, M. L., Kaic, B., Jungic, A., Vucelja, M., Angelov, V., Kovacevic, M., Roncevic, D., Knezevic, S., Stevanovic, V., Slavuljica, I., Lakoseljic, D., Vickovic, N., Bubonja-Sonje, M., Hansen, L. and Vilibic-Cavlek, T. (2020). Tick-borne encephalitis outbreak following raw goat milk consumption in a new micro-location, Croatia, June 2019. *Ticks and tick-borne diseases*, 11(6), 101513. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101513>
- Jaaskelainen, A., Tonteri, E., Pieninkeroinen, I., Sironen, T., Voutilainen, L., Kuusi, M., Vaheri, A. and Vapalahti, O. (2016). Siberian subtype tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* in a newly emerged focus, Finland. *Ticks and tick-borne diseases*, 7(1), 216–223. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.10.013>
- Jahfari, S., de Vries, A., Rijks, J.M., Van Gucht, S., Vennema, H., Sprong, H. and Rockx, B. (2017). Tick-Borne Encephalitis Virus in Ticks and Roe Deer, the Netherlands. *Emerg Infect Dis*, 23(6), 1028-1030. doi:10.3201/eid2306.161247
- Jayarao, B.M., Donaldson, S.C., Straley, B.A., Sawant, A.A., Hegde, N.V., and Brown, J.L. (2006). A survey of foodborne pathogens in bulk tank milk and raw milk consumption among farm families in pennsylvania. *J Dairy Sci*, 89(7), 2451-2458. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72318-9
- Kaiser, R. (2012). Tick-borne encephalitis: Clinical findings and prognosis in adults. *Wien Med Wochenschr*, 162(11-12), 239-243. doi:10.1007/s10354-012-0105-0
- Karan, T., Tekin, S., Bursalı, A. and Keskin, A. (2014). Investigation of Tick-Borne Encephalitis Virus (TBEV) in Ixodid Ticks Collected from Central Black Sea Region in Turkey. *Journal of New Results in Science*, 4(8), 30-35.
- Karbowiak, G., and Biernat, B. (2016). The role of particular tick developmental stages in the circulation of tick-borne pathogens affecting humans in Central Europe. 2. Tick-borne encephalitis virus. *Ann Parasitol*, 62(1), 3-9. doi:10.17420/ap6201.25
- Kazimirova, M., & Stibraniöva, I. (2013). Tick salivary compounds: their role in modulation of host defences and pathogen transmission. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 3, 43.
- Kerlik, J., Avdicova, M., Stefkovicova, M., Tarkovska, V., Pantikova Valachova, M., Molcanyi, T., and Mezencev, R. (2018). Slovakia reports highest occurrence of alimentary tick-borne encephalitis in Europe: Analysis of tick-borne encephalitis outbreaks in Slovakia during 2007-2016. *Travel Med Infect Dis*, 26, 37-42. doi:10.1016/j.tmaid.2018.07.001
- Kerlik, J., Avdicova, M., Musilova, M., Beresova, J., and Mezencev, R. (2022). Breast Milk as Route of Tick-Borne Encephalitis Virus Transmission from Mother to Infant. *Emerg Infect Dis*, 28(5), 1060-1061. doi:10.3201/eid2805.212457
- Kim, S.Y., Jeong, Y.E., Yun, S.M., Lee, I.Y., Han, M.G., and Ju, Y.R. (2009). Molecular evidence for tick-borne encephalitis virus in ticks in South Korea. *Med Vet Entomol*, 23(1), 15-20. doi:10.1111/j.1365-2915.2008.00755.x

- Klaus, C., Beer, M., Saier, R., Schubert, H., Bischoff, S. and Suss, J. (2011). Evaluation of serological tests for detecting tick-borne encephalitis virus (TBEV) antibodies in animals. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 124(11-12), 443-449. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22191165>
- Klaus, C., Beer, M., Saier, R., Schau, U., Moog, U., Hoffmann, B., Diller, R., and Süß, J. (2012). Goats and sheep as sentinels for tick-borne encephalitis (TBE) virus—epidemiological studies in areas endemic and non-endemic for TBE virus in Germany. *Ticks and tick-borne diseases*, 3(1), 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2011.09.011>
- Klaus, C., Horugel, U., Hoffmann, B., and Beer, M. (2013). Tick-borne encephalitis virus (TBEV) infection in horses: clinical and laboratory findings and epidemiological investigations. *Vet Microbiol*, 163(3-4), 368-372. doi:10.1016/j.vetmic.2012.12.041
- Klaus, C., Ziegler, U., Kalthoff, D., Hoffmann, B., and Beer, M. (2014). Tick-borne encephalitis virus (TBEV) - findings on cross reactivity and longevity of TBEV antibodies in animal sera. *BMC Vet Res*, 10, 78. doi:10.1186/1746-6148-10-78
- Klaus, C., Ziegler, U., Hoffmann, D., Press, F., Fast, C. and Beer, M. (2019). Tick-borne encephalitis virus (TBEV) antibodies in animal sera - occurrence in goat flocks in Germany, longevity and ability to recall immunological information after more than six years. *BMC Vet Res*, 15(1), 399. doi:10.1186/s12917-019-2157-5
- Ko, S., Kang, J.G., Kim, S.Y., Kim, H.C., Klein, T.A., Chong, S.T., Sames, W.J., Yun, S. M., Ju, Y.R. and Chae, J.S. (2010). Prevalence of tick-borne encephalitis virus in ticks from southern Korea. *Journal of veterinary science*, 11(3), 197–203. <https://doi.org/10.4142/jvs.2010.11.3.197>
- Kriz, B., Benes, C. and Daniel, M. (2009). Alimentary transmission of tick-borne encephalitis in the Czech Republic (1997-2008). *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 58(2), 98-103. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19526924>
- Kroschewski, H., Allison, S.L., Heinz, F.X., and Mandl, C.W. (2003). Role of heparan sulfate for attachment and entry of tick-borne encephalitis virus. *Virology*, 308(1), 92-100. doi:10.1016/s0042-6822(02)00097-1
- Krzysiak, M.K., Anusz, K., Konieczny, A., Rola, J., Salat, J., Strakova, P., Olech, W., and Larska, M. (2021). The European bison (*Bison bonasus*) as an indicatory species for the circulation of tick-borne encephalitis virus (TBEV) in natural foci in Poland. *Ticks and tick-borne diseases*, 12(6), 101799. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101799>
- Kubinski, M., Beicht, J., Gerlach, T., Volz, A., Sutter, G., and Rimmelzwaan, G. F. (2020). Tick-Borne Encephalitis Virus: A Quest for Better Vaccines against a Virus on the Rise. *Vaccines (Basel)*, 8(3). doi:10.3390/vaccines8030451
- Kunze, M., Banović, P., Bogovič, P., Briciu, V., Čivljak, R., Dobler, G., Hristea, A., Kerlik, J., Kuivanen, S., Kynčl, J., Lebech, A. M., Lindquist, L., Paradowska-Stankiewicz, I., Roglić, S., Smíšková, D., Strle, F., Vapalahti, O., Vranješ, N., Vynograd, N., Zajkowska, J. M., Erber, W. (2022). Recommendations to Improve Tick-Borne Encephalitis Surveillance and Vaccine Uptake in Europe. *Microorganisms*, 10(7), 1283. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071283>
- Kuruçay, H.N., Müftüoğlu, B. ve Tamer, C. (2023). Türkiye’de Karadeniz Bölgesindeki Koyunlarda Mavdil Enfeksiyonunun Seroprevalansı. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 12(1), 9-13. <https://doi.org/10.31196/huvfd.1200399>
- Kwasnik, M., Rola, J., and Rozek, W. (2023). Tick-Borne Encephalitis-Review of the Current Status. *J Clin Med*, 12(20). doi:10.3390/jcm12206603
- Leschnik, M.W., Kirtz, G.C., and Thalhammer, J.G. (2002). Tick-borne encephalitis (TBE) in dogs. *Int J Med Microbiol*, 291 Suppl 33, 66-69. doi:10.1016/s1438-4221(02)80014-5

- Lickova, M., Fumacova Havlikova, S., Slavikova, M., and Klempa, B. (2021). Alimentary Infections by Tick-Borne Encephalitis Virus. *Viruses*, 14(1). doi:10.3390/v14010056
- Lindquist, L. and Vapalahti, O. (2008). Tick-borne encephalitis. *The Lancet*, 371(9627), 1861-1871. doi:10.1016/S0140-6736(08)60800-4
- Lindqvist, R., Rosendal, E., Weber, E., Asghar, N., Schreier, S., Lenman, A., Johansson, M., Dobler, G., Bestehorn, M., Kröger, A. and Överby, A. K. (2020). The envelope protein of tick-borne encephalitis virus influences neuron entry, pathogenicity, and vaccine protection. *Journal of neuroinflammation*, 17(1), 284. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01943-w>
- Lu, Z., Broker, M., and Liang, G. (2008). Tick-borne encephalitis in mainland China. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 8(5), 713-720. doi:10.1089/vbz.2008.0028
- Mansfield, K.L., Johnson, N., Phipps, L.P., Stephenson, J.R., Fooks, A.R. and Solomon, T. (2009). Tick-borne encephalitis virus - a review of an emerging zoonosis. *J Gen Virol*, 90(Pt 8), 1781-1794. doi:10.1099/vir.0.011437-0
- Maqbool, M., Sajid, M.S., Saqib, M., Anjum, F.R., Tayyab, M.H., Rizwan, H.M., Rashid, M.I., Rashid, I., Iqbal, A., Siddique, R.M., Shamim, A., Hassan, M.A., Atif, F.A., Razzaq, A., Zeeshan, M., Hussain, K., Nisar, R.H.A., Tanveer, A., Younas, S., Kamran, K., Rahman, S.U. (2022). Potential Mechanisms of Transmission of Tick-Borne Viruses at the Virus-Tick Interface. *Frontiers in microbiology*, 13, 846884. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.846884>
- Markovinic, L., Kosanovic Licina, M.L., Tesic, V., Vojvodic, D., Vladusic Lucic, I., Kniewald, T., Krajcinovic, L.C. (2016). An outbreak of tick-borne encephalitis associated with raw goat milk and cheese consumption, Croatia, 2015. *Infection*, 44(5), 661-665. doi:10.1007/s15010-016-0917-8
- Marshall, E.M., Koopmans, M.P.G., and Rockx, B. (2022). A Journey to the Central Nervous System: Routes of Flaviviral Neuroinvasion in Human Disease. *Viruses*, 14(10). doi:10.3390/v14102096
- Matuszczyk, I., Tarnowska, H., Zabicka, J., and Gut, W. (1997). [The outbreak of an epidemic of tick-borne encephalitis in Kielec province induced by milk ingestion]. *Przegl Epidemiol*, 51(4), 381-388. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9562785>
- Mercer, J. and Helenius, A. (2009). Virus entry by macropinocytosis. *Nat Cell Biol*, 11(5), 510-520. doi:10.1038/ncb0509-510
- Michelitsch, A., Wernike, K., Klaus, C., Dobler, G. and Beer, M. (2019). Exploring the Reservoir Hosts of Tick-Borne Encephalitis Virus. *Viruses*, 11(7). doi:10.3390/v11070669
- Miller, S. and Krijnse-Locker, J. (2008). Modification of intracellular membrane structures for virus replication. *Nat Rev Microbiol*, 6(5), 363-374. doi:10.1038/nrmicro1890
- Miorin, L., Romero-Brey, I., Maiuri, P., Hoppe, S., Krijnse-Locker, J., Bartenschlager, R. and Marcello, A. (2013). Three-dimensional architecture of tick-borne encephalitis virus replication sites and trafficking of the replicated RNA. *J Virol*, 87(11), 6469-6481. doi:10.1128/JVI.03456-12
- Morozova, O. V., Bakhvalova, V. N., and Morozov, I. V. (2007). Heterogeneity of 3'-Untranslated Region of Genome RNA of the Tick-Borne Encephalitis Virus (TBEV) Strains Isolated from Ticks in the Western Siberia, Russia. *Int J Biomed Sci*, 3(3), 206-210. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23675045>

- Neufeldt, C. J., Cortese, M., Acosta, E. G., and Bartenschlager, R. (2018). Rewiring cellular networks by members of the Flaviviridae family. *Nat Rev Microbiol*, 16(3), 125-142. doi:10.1038/nrmicro.2017.170
- Ocias, L. F., Waldeck, M., Hallen, I., Norgaard, M., and Krogfelt, K. A. (2019). Transnational exchange of surveillance data reveals previously unrecognized TBEV microfocus. *Eur J Public Health*, 29(4), 631-633. doi:10.1093/eurpub/ckz059
- Offerdahl, D. K., Clancy, N. G., and Bloom, M. E. (2016). Stability of a Tick-Borne Flavivirus in Milk. *Front Bioeng Biotechnol*, 4, 40. doi:10.3389/fbioe.2016.00040
- Omazic, A., Wallenhammar, A., Lahti, E., Asghar, N., Hanberger, A., Hjertqvist, M., Johansson, M., and Albiñ, A. (2023). Dairy milk from cow and goat as a sentinel for tick-borne encephalitis virus surveillance. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 95, 101958. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2023.101958>
- Palus, M., Bily, T., Elsterova, J., Langhansova, H., Salat, J., Vancova, M., and Ruzek, D. (2014). Infection and injury of human astrocytes by tick-borne encephalitis virus. *J Gen Virol*, 95(Pt 11), 2411-2426. doi:10.1099/vir.0.068411-0
- Panatto, D., Domnich, A., Amicizia, D., Reggio, P., and Iantomasi, R. (2022). Vaccination against Tick-Borne Encephalitis (TBE) in Italy: Still a Long Way to Go. *Microorganisms*, 10(2). doi:10.3390/microorganisms10020464
- Paulsen, K. M., Stuenkel, S., das Neves, C. G., Suhel, F., Gurung, D., Soleng, A., Stiasny, K., Vikse, R., Andreassen, Å. K., and Granquist, E. G. (2019). Tick-borne encephalitis virus in cows and unpasteurized cow milk from Norway. *Zoonoses and public health*, 66(2), 216–222. <https://doi.org/10.1111/zph.12554>
- Paulsen, K. M., das Neves, C. G., Granquist, E. G., Madslie, K., Stuenkel, S., Pedersen, B. N., . . . Andreassen, Å. K. (2020). Cervids as sentinel-species for tick-borne encephalitis virus in Norway - A serological study. *Zoonoses Public Health*, 67(4), 342-351. doi:10.1111/zph.12675
- Pautienius, A., Dudas, G., Simkute, E., Grigas, J., Zakienė, I., Paulauskas, A., Armonaitė, A., Zienius, D., Slyzius, E., and Stankevicius, A. (2021). Bulk Milk Tank Samples Are Suitable to Assess Circulation of Tick-Borne Encephalitis Virus in High Endemic Areas. *Viruses*, 13(9), 1772. <https://doi.org/10.3390/v13091772>
- Petry, M., Palus, M., Leitzner, E., Mitterreiter, J. G., Huang, B., Kröger, A., Verjans, G. M. G. M., Baumgärtner, W., Rimmelzwaan, G. F., Růžek, D., Osterhaus, A., and Prajeeth, C. K. (2021). Immunity to TBEV Related Flaviviruses with Reduced Pathogenicity Protects Mice from Disease but Not from TBEV Entry into the CNS. *Vaccines*, 9(3), 196. <https://doi.org/10.3390/vaccines9030196>
- Phipps, L. P., and Johnson, N. (2022). Tick-borne encephalitis virus. *J Med Microbiol*, 71(5). doi:10.1099/jmm.0.001492
- Pogodina, V. V., Bochkova, N. G., Karan', L. S., Frolova, M. P., Trukhina, A. G., Malenko, G. V., Levina, L. S., and Platonov, A. E. (2004). Sravnitel'nyĭ analiz virulentnosti sibirskogo i dal'nevostochnogo podtipov virusa kleshchevogo entsefalita [Comparative analysis of virulence of the Siberian and Far-East subtypes of the tick-borne encephalitis virus]. *Voprosy virusologii*, 49(6), 24–30.
- Pulkkinen, L. I. A., Barrass, S. V., Domanska, A., Overby, A. K., Anastasina, M., and Butcher, S. J. (2022). Molecular Organisation of Tick-Borne Encephalitis Virus. *Viruses*, 14(4). doi:10.3390/v14040792
- Pulkkinen, L. I. A., Butcher, S. J., and Anastasina, M. (2018). Tick-Borne Encephalitis Virus: A Structural View. *Viruses*, 10(7). doi:10.3390/v10070350

- Pustijanac, E., Bursic, M., Talapko, J., Skrlec, I., Mestrovic, T., and Lisnjic, D. (2023). Tick-Borne Encephalitis Virus: A Comprehensive Review of Transmission, Pathogenesis, Epidemiology, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Prevention. *Microorganisms*, 11(7). doi:10.3390/microorganisms11071634
- Rathore, A. P. S., and St John, A. L. (2020). Cross-Reactive Immunity Among Flaviviruses. *Front Immunol*, 11, 334. doi:10.3389/fimmu.2020.00334
- Ronai, Z., and Egyed, L. (2020). Survival of Tick-Borne Encephalitis Virus in Goat Cheese and Milk. *Food Environ Virol*, 12(3), 264-268. doi:10.1007/s12560-020-09427-z
- Ruzek, D., Dobler, G., and Donoso Mantke, O. (2010). Tick-borne encephalitis: pathogenesis and clinical implications. *Travel Med Infect Dis*, 8(4), 223-232. doi:10.1016/j.tmaid.2010.06.004
- Saksida, A., Duh, D., Lotric-Furlan, S., Strle, F., Petrovec, M., and Avsic-Zupanc, T. (2005). The importance of tick-borne encephalitis virus RNA detection for early differential diagnosis of tick-borne encephalitis. *J Clin Virol*, 33(4), 331-335. doi:10.1016/j.jcv.2004.07.014
- Salat, J., Mihalca, A. D., Mihaiu, M., Modry, D., and Ruzek, D. (2017). Tick-Borne Encephalitis in Sheep, Romania. *Emerg Infect Dis*, 23(12), 2065-2067. doi:10.3201/eid2312.170166
- Salat, J., Formanova, P., Hunady, M., Eyer, L., Palus, M., and Ruzek, D. (2018). Development and testing of a new tick-borne encephalitis virus vaccine candidate for veterinary use. *Vaccine*, 36(48), 7257-7261. doi:10.1016/j.vaccine.2018.10.034
- Salat, J., Mikulasek, K., Larralde, O., Pokorna Formanova, P., Chrdle, A., Haviernik, J., Elsterova, J., Teislerova, D., Palus, M., Eyer, L., Zdrahal, Z., Petrik, J., and Ruzek, D. (2020). Tick-Borne Encephalitis Virus Vaccines Contain Non-Structural Protein 1 Antigen and may Elicit NS1-Specific Antibody Responses in Vaccinated Individuals. *Vaccines*, 8(1), 81. <https://doi.org/10.3390/vaccines8010081>
- Salat, J., and Ruzek, D. (2020). Tick-borne encephalitis in domestic animals. *Acta Virol*, 64(2), 226-232. doi:10.4149/av_2020_212
- Salat, J., Strakova, P., Stefanik, M., Slosarkova, S., and Ruzek, D. (2022). Sero-epidemiology of tick-borne encephalitis in small ruminants in the Czech Republic. *Ticks Tick Borne Dis*, 13(5), 101996. doi:10.1016/j.ttbdis.2022.101996
- Schwaiger, M., and Cassinotti, P. (2003). Development of a quantitative real-time RT-PCR assay with internal control for the laboratory detection of tick borne encephalitis virus (TBEV) RNA. *J Clin Virol*, 27(2), 136-145. doi:10.1016/s1386-6532(02)00168-3
- Selinger, M., Vechtova, P., Tykalova, H., Oslejskova, P., Rumlova, M., Sterba, J., and Grubhoffer, L. (2022). Integrative RNA profiling of TBEV-infected neurons and astrocytes reveals potential pathogenic effectors. *Comput Struct Biotechnol J*, 20, 2759-2777. doi:10.1016/j.csbj.2022.05.052
- Serter, F., 1968: Tick-borne meningo-encephalitis cases in Izmir area. *E.U. Tıp Fak. Mecmuası* 7, 1-13.
- Serter, D. (1980). Present status of arbovirus sero-epidemiology in the Aegean region of Turkey. *Zentralbl Bakteriol*, 9, 155-161.
- Shevtsova, A. S., Motuzova, O. V., Kuragina, V. M., Akhmatova, N. K., Gmyl, L. V., Kondrat'eva, Y. I., Karganova, G. G. (2016). Lethal Experimental Tick-Borne Encephalitis Infection: Influence of Two Strains with Similar Virulence on the Immune Response. *Front Microbiol*, 7, 2172. doi:10.3389/fmicb.2016.02172
- Solomon, T. (2004). Flavivirus encephalitis. *N Engl J Med*, 351(4), 370-378. doi:10.1056/NEJMra030476

- Sonnenberg, K., Niedrig, M., Steinhagen, K., Rohwader, E., Meyer, W., Schlumberger, W., Stocker, W. (2004). State-of-the-art serological techniques for detection of antibodies against tick-borne encephalitis virus. *Int J Med Microbiol*, 293 Suppl 37, 148-151. doi:10.1016/s1433-1128(04)80028-7
- Springer, A., Glass, A., Topp, A. K., and Strube, C. (2020). Zoonotic Tick-Borne Pathogens in Temperate and Cold Regions of Europe-A Review on the Prevalence in Domestic Animals. *Frontiers in veterinary science*, 7, 604910. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.604910>
- Springer, A., Lindau, A., Probst, J., Drehmann, M., Fachet, K., Thoma, D., Rose Vineer, H., Noll, M., Dobler, G., Mackenstedt, U., and Strube, C. (2022). Update and prognosis of Dermacentor distribution in Germany: Nationwide occurrence of Dermacentor reticulatus. *Frontiers in veterinary science*, 9, 1044597. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1044597>
- Stiasny, K., Fritz, R., Pangerl, K., and Heinz, F. X. (2011). Molecular mechanisms of flavivirus membrane fusion. *Amino Acids*, 41(5), 1159-1163. doi:10.1007/s00726-009-0370-4
- Stjernberg, L., Holmkvist, K., and Berglund, J. (2008). A newly detected tick-borne encephalitis (TBE) focus in south-east Sweden: a follow-up study of TBE virus (TBEV) seroprevalence. *Scand J Infect Dis*, 40(1), 4-10. doi:10.1080/00365540701522934
- Stone, E. T., and Pinto, A. K. (2023). T Cells in Tick-Borne Flavivirus Encephalitis: A Review of Current Paradigms in Protection and Disease Pathology. *Viruses*, 15(4). doi:10.3390/v15040958
- Suss, J. (2003). Epidemiology and ecology of TBE relevant to the production of effective vaccines. *Vaccine*, 21 Suppl 1, S19-35. doi:10.1016/s0264-410x(02)00812-5
- Suss, J. (2008). Tick-borne encephalitis in Europe and beyond--the epidemiological situation as of 2007. *Euro Surveill*, 13(26). Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18761916>
- Suss, J., and Kahl, O. (2011). Ticks and tick-borne diseases--the successful story goes on. *Ticks Tick Borne Dis*, 2(1), 1. doi:10.1016/j.ttbdis.2011.01.001
- Suzuki, Y. (2007). Multiple transmissions of tick-borne encephalitis virus between Japan and Russia. *Genes Genet Syst*, 82(3), 187-195. doi:10.1266/ggs.82.187
- Taba, P., Schmutzhard, E., Forsberg, P., Lutsar, I., Ljøstad, U., Mygland, Å., Levchenko, I., Strle, F., and Steiner, I. (2017). EAN consensus review on prevention, diagnosis and management of tick-borne encephalitis. *European journal of neurology*, 24(10), 1214–e61. <https://doi.org/10.1111/ene.13356>
- Tezcan, S., Kizildamar, S., Ulger, M., Aslan, G., Tiftik, N., Ozkul, A., Ergunay, K. (2014). [Flavivirus seroepidemiology in blood donors in Mersin province, Turkey]. *Mikrobiyol Bul*, 48(4), 606-617. doi:10.5578/mb.8301
- Topp, A.K., Springer, A., Mischke, R., Rieder, J., Feige, K., Ganter, M., Nagel-Kohl, U., Nordhoff, M., Boelke, M., Becker, S., Pachnicke, S., Schunack, B., Dobler, G., and Strube, C. (2023). Seroprevalence of tick-borne encephalitis virus in wild and domestic animals in northern Germany. *Ticks and tick-borne diseases*, 14(6), 102220. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2023.102220>
- Uchida, L., Hayasaka, D., Tun, M. M. N., Morita, K., Muramatsu, Y., & Hagiwara, K. (2018). Survey of tick-borne zoonotic viruses in wild deer in Hokkaido, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 80(6), 985-988.
- Upstone, L., Colley, R., Harris, M., and Goonawardane, N. (2023). Functional characterization of 5' untranslated region (UTR) secondary RNA structures in the replication of tick-

- borne encephalitis virus in mammalian cells. *PLoS Negl Trop Dis*, 17(1), e0011098. doi:10.1371/journal.pntd.0011098
- Uyar, Y., Akçalı, A., Çarhan, A., Özkaya, E., and Ertek, M. (2007). Türkiye'de Kene Isırığı Öykülü Olgularda Tick-Borne Encephalitis Virusünün Seroprevalansı. *Türkiye Hijyen ve Deneyisel Biyoloji Dergisi* 2007;64 (2): 21-25.
- van den Brom, R., de Jong, A., van Engelen, E., Heuvelink, A., and Vellema, P. (2020). Zoonotic risks of pathogens from sheep and their milk borne transmission. *Small Rumin Res*, 189, 106123. doi:10.1016/j.smallrumres.2020.106123
- Van der Schaar, H. M., Rust, M. J., Chen, C., van der Ende-Metselaar, H., Wilschut, J., Zhuang, X., and Smit, J. M. (2008). Dissecting the cell entry pathway of dengue virus by single-particle tracking in living cells. *PLoS Pathog*, 4(12), e1000244. doi:10.1371/journal.ppat.1000244
- Vatansever, Z., Gargili, A., Aysul, N. S., Sengoz, G., and Estrada-Pena, A. (2008). Ticks biting humans in the urban area of Istanbul. *Parasitol Res*, 102(3), 551-553. doi:10.1007/s00436-007-0809-z
- Vilibic-Cavlek, T., Ferenc, T., Vujica Ferenc, M., Bogdanic, M., Potocnik-Hunjadi, T., Sabadi, D., Savic, V., Barbic, L., Stevanovic, V., Monaco, F., Listes, E., and Savini, G. (2022). Cross-Reactive Antibodies in Tick-Borne Encephalitis: Case Report and Literature Review. *Antibodies (Basel, Switzerland)*, 11(4), 72.
- Vincenti, I., and Merkler, D. (2021). New advances in immune components mediating viral control in the CNS. *Curr Opin Virol*, 47, 68-78. doi:10.1016/j.coviro.2021.02.001
- Wallenhammar, A., Lindqvist, R., Asghar, N., Gunaltay, S., Fredlund, H., Davidsson, Å., Andersson, S., Överby, A. K., and Johansson, M. (2020). Revealing new tick-borne encephalitis virus foci by screening antibodies in sheep milk. *Parasites and vectors*, 13(1), 185. https://doi.org/10.1186/s13071-020-04030-4
- Whitby, J. E., Ni, H., Whitby, H. E., Jennings, A. D., Bradley, L. M., Lee, J. M., Lloyd, G., Stephenson, J. R., and Barrett, A. D. (1993). Rapid detection of viruses of the tick-borne encephalitis virus complex by RT-PCR of viral RNA. *Journal of virological methods*, 45(1), 103–114. https://doi.org/10.1016/0166-0934(93)90144-g
- Who, P. (2011). Vaccines against tick-borne encephalitis: WHO position paper–recommendations. *Vaccine*, 29(48), 8769-8770. doi:10.1016/j.vaccine.2011.07.024
- Wikel, S. (2013). Ticks and tick-borne pathogens at the cutaneous interface: host defenses, tick countermeasures, and a suitable environment for pathogen establishment. *Frontiers in microbiology*, 4, 68236.
- Wilhelmsson, P., Jaenson, T. G. T., Olsen, B., Waldenstrom, J., and Lindgren, P. E. (2020). Migratory birds as disseminators of ticks and the tick-borne pathogens *Borrelia* bacteria and tick-borne encephalitis (TBE) virus: a seasonal study at Ottenby Bird Observatory in South-eastern Sweden. *Parasit Vectors*, 13(1), 607. doi:10.1186/s13071-020-04493-5
- WOAH. (2024). Flavivirus-causing-tick-borne-encephalitisinfection-with.pdf Erişim Tarihi:02.05.2024 https://www.woah.org/app/uploads/2021/05
- Wondim, M. A., Czapryna, P., Pancewicz, S., Kruszezewska, E., Groth, M., and Moniuszko-Malinowska, A. (2022). Epidemiological Trends of Trans-Boundary Tick-Borne Encephalitis in Europe, 2000-2019. *Pathogens*, 11(6). doi:10.3390/pathogens11060704
- Worku, D. A. (2023). Tick-Borne Encephalitis (TBE): From Tick to Pathology. *J Clin Med*, 12(21). doi:10.3390/jcm12216859
- Yeşilbağ, K. (2014). Viroloji Laboratuvar Uygulamaları. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları. Yayın No:2004-1, 3. Baskı

- Yilmaz, H., Barut, K., Karakullukcu, A., Kasapcopur, O., Kocazeybek, B., Altan, E., Cizmecigil, U. Y., Yilmaz, A., Bilgin, Z., Ulutas Esatgil, M., Klaus, C., Richt, J. A., and Turan, N. (2019). Serological Evidence of Tick-Borne Encephalitis and West Nile Virus Infections Among Children with Arthritis in Turkey. *Vector borne and zoonotic diseases* (Larchmont, N.Y.), 19(6), 446–449. <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2349>
- Yoshii, K., Song, J. Y., Park, S. B., Yang, J., and Schmitt, H. J. (2017). Tick-borne encephalitis in Japan, Republic of Korea and China. *Emerg Microbes Infect*, 6(9), e82. doi:10.1038/emi.2017.69
- Yoshii, K. (2019). Epidemiology and pathological mechanisms of tick-borne encephalitis. *J Vet Med Sci*, 81(3), 343–347. doi:10.1292/jvms.18-0373
- Zavadská, D., Anca, I., André, F., Bakir, M., Chlibek, R., Cižman, M., Ivaskeviciene, I., Mangarov, A., Mészner, Z., Pokorn, M., Prymula, R., Richter, D., Salman, N., Simurka, P., Tamm, E., Tešović, G., Urbancikova, I., and Usonis, V. (2013). Recommendations for tick-borne encephalitis vaccination from the Central European Vaccination Awareness Group (CEVAG). *Human vaccines and immunotherapeutics*, 9(2), 362–374. <https://doi.org/10.4161/hv.22766>
- Zeman, P., Januska, J., Orolinova, M., Stuen, S., Struhar, V., and Jebavy, L. (2004). High seroprevalence of granulocytic ehrlichiosis distinguishes sheep that were the source of an alimentary epidemic of tick-borne encephalitis. *Wien Klin Wochenschr*, 116(17-18), 614–616. doi:10.1007/s00508-004-0191-0
- Zoldi, V., Juhasz, A., Nagy, C., Papp, Z., and Egyed, L. (2013). Tick-borne encephalitis and Lyme disease in Hungary: the epidemiological situation between 1998 and 2008. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 13(4), 256–265. doi:10.1089/vbz.2011.0905

ÖZ GEÇMİŞ

Sedat ORMANCI, Bafra Lisesini bitirdikten sonra Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesinden 05.07.1997 tarihinde mezun oldu. 10.12.2000 yılında YYÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi Cerrahi Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans yaptı. 2001-2004 yılları arasında Van Tarım ve Orman İl Müdürlüğü, 2004-2019 yılları arasında Samsun Tarım ve Orman İl Müdürlüğünde Uzm. Veteriner Hekim olarak görev yaptı. 2019 yılında Anadolu Üniversitesi Kamu Yönetimini bitirdi. 04.02.2020 yılında OMÜ Veteriner Fakültesi Viroloji Ana Bilim Dalı Doktora programına girdi. 2019 yılından bu yana Tarım ve Orman Bakanlığı Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Seroloji Laboratuvarında çalışmakta olan S.O. orta derecede İngilizce bilmektedir (KPDS:50, YÖKDİL:57,5).

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0009-0009-8659-6282

Yayınlar:

- 1-Ormancı., S, Belge., A, 2001: Van ve yöresinde süt sığırlarında ayak hastalıklarının nedenleri, dağılımı ve sağaltımı üzerinde çalışmalar. YYÜ Sağ Bil Derg, 7(1-2), 139-145.
- 2- Belge., A, Gönenci., R, Biricik., HS, Ormancı., S, Buzağılarda doğmasal anomali olguları.,Van Veterinary Journal,2000
- 3-Belge., A, Bakır., B, Gönenci., R, Ormancı., S, Subclinical laminitis in dairy cattle: 205 selected cases, Turk J Vet Anim Sci, 29, (2005), 9-15
- 4-Belge., A., Bakır, B., Üstün, R., Ormancı, S., Köpeklerde Pethidine HCl(Aldolan) Premedikasyonunun Klinik ve Hematolojik Parametreler Üzerine Etkileri Vet. Cer. Der., Cilt:1, Sayı:3-4, 2001
- 5-Ormancı., S, Albayrak., H. Ruminantlarda Tick Born Encephalitis. Eduvet Uluslararası Veteriner Bilimler Kongresi Poster Sunumu. 25-27 Haziran 2021 Samsun
- 6-Ozgen, E. K., Kilicoglu, Y., Yanmaz, B., Ozmen, M., Ulucan, M., Serifoglu Bagatir, P., Karadeniz Putur, E., Ormanci, S., Okumus, B., Iba Yilmaz, S., Karasahin, O., Aslan, M. H., Ozturk, M., Birinci, A., Bilgin, K., Tanriverdi Cayci, Y., and Tanyel, E. (2022). Molecular epidemiology of Coxiella burnetii detected in humans and domestic ruminants in Turkey. *Veterinary microbiology*, 273, 109519. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2022.109519>
- 7-Ormancı., S, Albayrak., H, Balıklarda Mukus Tabakası ve İmmun Sistem İlişkisi. V. International Cappadocia Scientific Research Congress 1683-1697 November 5-7, 2023 / Cappadocia-Nevsehir