

Ankara İlinde Batı Nil Virusu Köken-1 Kaynaklı Bir Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonu Olgusu*

A Case of Central Nervous System Infection Due to West Nile Virus Lineage-1 in Ankara Province, Turkey

Murat ÖCAL^{1a}, Halil ÖNDER^{2a}, Ethem M. ARSAVA², Şehnaz ALP³,
Aykut ÖZKUL⁴, Koray ERGÜNAY¹

¹ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji Ünitesi, Ankara.

¹ Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Virology Unit, Ankara, Turkey.

² Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Ankara.

² Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Neurology, Ankara, Turkey.

³ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Enfeksiyon Hastalıkları Ünitesi, Ankara.

³ Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Infectious Diseases Unit, Ankara, Turkey.

⁴ Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Ankara.

⁴ Ankara University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Virology, Ankara, Turkey.

^a Yazarlar çalışmaya eşit olarak katkıda bulunmuştur ve ilk yazarlığı paylaşmaktadır.

^a These authors have contributed equally to the study and share the first authorship.

* Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No. 012 D11 101 007).

Geliş Tarihi (Received): 27.07.2012 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 19.09.2012

ÖZET

Batı Nil virusu (BNV), bulaşmasında sıklıkla *Culex* cinsi sivrisineklerin rol aldığı *Flaviviridae* ailesinde sınıflandırılan bir virustur. Virusa maruziyet sıklıkla asemptomatik serokonversiyonla sonuçlanırken, olguların bir kısmında Batı Nil ateşi adı verilen ateşli hastalık, nadiren ise merkezi sinir sistemi bulguları ve nöroinvazif hastalık gelişir. Son yıllarda da Avrupa ve Akdeniz'e komşu ülkelerde, insan ve atlarda BNV'nin etken olduğu ağır nöroinvazif hastalık olguları ve salgınlar bildirilmektedir. Seroprevalans çalışmaları, virusun ülkemizde de enfeksiyon oluşturduğuna işaret etmiş, ancak 2009-2010 yıllarına kadar iyi tanımlanan olgular rapor edilmemiştir. Bu raporda, Ankara ilinde tespit edilen, klinik ve laboratuvar bulguları açısından özellik taşıyan bir BNV ensefaliti olgusu sunulmaktadır. Seksen yedi yaşında kadın hasta Mayıs 2012 tarihinde bilinç bulanıklığı, ekstremit ve yüzde miyoklonik atım bulguları ile Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'ne başvurmuştur. Bir hafta öncesinde ateşli hastalık ve kronik hipertansiyon öyküsü bulunan hastada hiponatremi ve artmış alanin ve aspartat aminotransferaz düzeyleri saptanmıştır. Elektroensefalogramda (EEG) yaygın yavaş dalgalar bulunan hastada, manyetik rezonans görüntülemesinde (MRG)

İletişim (Correspondence): Doç. Dr. Koray Ergünay, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Morfoloji Binası 3. Kat, 06100 Sıhhiye, Ankara, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 312 305 1562, **E-posta (E-mail):** ekoray@hacettepe.edu.tr

sağ dorsal talamik bölgede difüzyon kısıtlılığı saptanmıştır. Uygulanan antiepileptik ve destekleyici tedaviye rağmen, hastanın nörolojik durumunda düzelme olmamış; EEG’de paroksizmal lateralize epileptiform deşarjlar (PLED) ve MRG’de temporoparietal korteks, insula ve talamus bölgelerinde hiperintens lezyonlar, ayrıca sitotoksik ve vazojenik ödem ortaya çıkmıştır. Ensefalit ön tanısı ile lomber ponksiyon uygulanan hastada beyin omurilik sıvısı (BOS)’nda düşük glukoz düzeyi saptanmış; mikroskopi, bakteri ve mantar kültürleri, hızlı antijen testleri ve herpes simpleks tip 1 ve tip 2 virusları polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) negatif olarak izlenmiştir. Vektör kaynaklı virusların saptanması amacıyla BOS ve eşzamanlı serum örneğine, BNV, kene ensefaliti virusu (Tick-borne encephalitis virus, TBEV) ve Toskana virusu (TOSV) IgM ve IgG antikorları açısından ticari ELISA, immüno Floresans (Euroimmun, Almanya) ve BNV plak redüksiyon nötralizasyon testleri uygulanmıştır. Örnekler ayrıca BNV, TOSV ve diğer fleboviruslar açısından PCR yöntemiyle incelenmiştir. BNV ve TBEV serolojisi ve flebovirus PCR tüm örneklerde negatif olarak izlenmiş; serumda TOSV IgG antikorları reaktif olarak saptanmış, BNV PCR ise BOS ve serum örneğinin her ikisinde tekrarlayan testlerle pozitif bulunmuş, ampikonlar dizi analizi ile BNV “Lineage 1 Clade 1a” olarak tanımlanmıştır. Pozitif örnekleme ardından 23 gün süresince alınan dört serum örneği BNV RNA ve özgül antikorlar için negatif olarak değerlendirilmiştir. Olgunun klinik takibinde nörolojik belirtilerinde düzelme, kontrol EEG ve MRG önceki lezyonlarda gerileme izlenmesine karşın, yatışının 10. haftasında nozokomiyal enfeksiyonlar nedeniyle eksitus olmuştur. Bulgularımız, İç Anadolu bölgesinde 2011 yılında tanımlanan BNV “Lineage 1” viruslarının varlığını doğrulamıştır. BNV serokonversiyonu, alta yatan immün yetmezlikle ilişkili bir hastalığı bulunmayan ileri yaştaki olgularda da gecikebilmekte ya da izlenemeyebilmektedir. Bu nedenle şüpheli olgularda viral RNA incelemesi serolojik testlerle birlikte kesin tanının konulmasında katkı sağlayacaktır.

Anahtar sözcükler: *Batı Nil virusu; ensefalit; flavivirus enfeksiyonları; Ankara.*

ABSTRACT

West Nile virus (WNV) is a mosquito-borne Flavivirus (family *Flaviviridae*), maintained in an enzootic cycle between birds as amplifying hosts and mosquito vectors. While WNV exposure in humans frequently remain subclinical, a febrile illness called West Nile fever occurs in about 20% and neuroinvasive disease in less than 1% of the affected individuals. For the last two decades, WNV has caused outbreaks of severe neuroinvasive disease in humans and horses in Europe, the Mediterranean Basin and emerged in the American continent. Although, previous serosurveillance reports have revealed human WNV exposure in various regions in Turkey; well-characterized clinical cases have only been reported after 2009-2010. In this report, a case of WNV encephalitis caused by a Lineage 1 virus strain and identified in Ankara province, Central Anatolia, Turkey, was presented. An 87 year-old woman with a history of hypertension and a recent febrile episode was admitted to Hacettepe University Hospital in late May 2012, with altered consciousness, myoclonic jerks in facial muscles and left extremity. Hyponatremia and increased alanine and aspartate aminotransferase levels were noted in blood analyses. Initial electroencephalogram (EEG) demonstrated diffuse slow waves. Areas of restricted diffusion in right dorsal thalamus was observed in cranial magnetic resonance imaging (MRI). Despite supportive therapy, the patient’s neurological condition worsened. Follow-up EEG displayed paroxysmal lateralizing epileptiform discharges (PLEDs) in the right hemisphere and T2-hyperintense lesions in the right temporoparietal cortex, insula and thalamus with components of cytotoxic and vasogenic edema were observed in MRI. A cerebrospinal fluid (CSF)-serum pair was evaluated to identify potential causes of encephalitis. CSF biochemical and microscopic findings were within normal limits except for decreased glucose levels. Bacterial, mycobacterial and fungal cultures, antigen assays and polymerase chain reaction (PCR) employed for Herpes simplex virus types 1 and 2 were negative. Commercial and in house assays for WNV, tick-borne encephalitis virus, Toscana virus (TOSV) antibodies revealed TOSV IgG in serum. Previously described nested PCRs targeting WNV envelope glycoprotein and phlebovirus consensus sequences demonstrated WNV positive results in serum and CSF, which were further characterized via cycle sequencing of amplicons as WNV Lineage 1 Clade 1a. Four serum samples obtained within 23 days after the diagnosis were negati-

ve for viral RNA and specific antibodies via commercial assays and WNV plaque reduction neutralization assay. During follow-up with supportive therapy and anti-epileptics, the patient's general and neurological condition improved mildly and control EEG and MRI demonstrated regression of previous lesions. However, the patient passed away on the 10th week of hospital admission due to nosocomial infections. These findings confirmed the initial data which indicated the circulation of WNV Lineage 1 strains in Central Anatolia, Turkey. WNV seroconversion may be delayed or absent in elderly individuals without overt diseases associated with immunosuppression. Thus investigation of WNV RNA together with the specific serological tests may help the accurate diagnosis of suspected cases.

Key words: West Nile virus; encephalitis; flavivirus infections; Turkey.

GİRİŞ

Batı Nil virusu (BNV), *Flaviviridae* ailesi *Flavivirus* cinsi Japon ensefaliti serokompleksinde sınıflandırılan, bulaşmasında sıklıkla *Culex* cinsi sivrisineklerin rol oynadığı bir virustur¹. İnsanda BNV enfeksiyonlarının önemli bir kısmı asemptomatik serokonversiyonla sonuçlanır; etkilenen olguların yaklaşık %20'sinde "Batı Nil ateşi" adı verilen ateşli hastalık tablosu oluşurken, %1'den azında merkezi sinir sistemi bulguları ve nöroinvazif hastalık gelişir². Son 20 yılda kıta Avrupa'sı ve Akdeniz'e komşu ülkelerde, insan ve atlarda BNV'nin etken olduğu ağır nöroinvazif hastalık olguları ve salgınlar bildirilmiştir³. Virus, 1999 yılında ilk defa Amerika Birleşik Devletleri'nde saptanmış, aradan geçen zamanda tüm kıtaya yayılarak önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir². Ülkemiz Asya-Avrupa hattı ve Akdeniz havzasında bulunan yerleşimi ile BNV için endemik sayılan bir bölgede yer almaktadır. Günümüze kadar yapılan serolojik tarama çalışmalarından elde edilen veriler, virusun ülkemizde bulunduğu ve insanları enfekte ettiğini göstermektedir⁴. Buna karşın 2009-2010 yıllarına kadar, ülkemizde iyi tanımlanmış BNV enfeksiyonu olgularına rastlanmamıştır. 2009 yılında rapor edilen olgular ve 2010 yılında Ege bölgesinde izlenen BNV salgını, semptomatik ve nöroinvazif olguların varlığını ortaya koymuştur⁵⁻⁸. Bu raporda, Ankara ilinde izlenen, klinik ve laboratuvar bulguları açısından özellik taşıyan bir BNV merkezi sinir sistemi olgusu sunulmaktadır.

OLGU SUNUMU

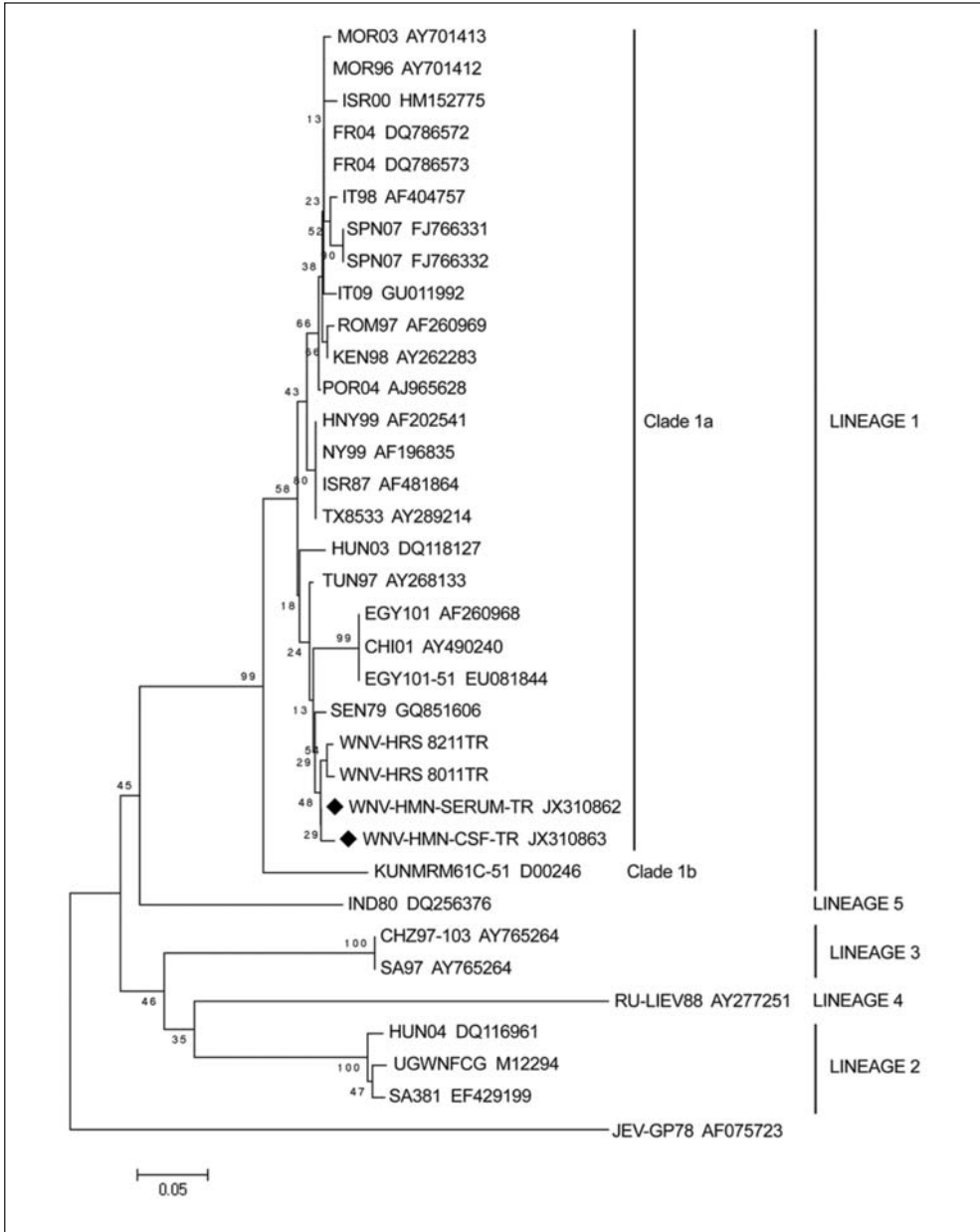
Tıbbi öyküsünde hipertansiyon dışında sorunu olmayan 87 yaşındaki kadın hasta, Mayıs 2012 tarihinde Hacettepe Üniversitesi Acil Servisine bilinç bulanıklığı, sol el ve yüzde miyoklonik atım şikayetleri ile kabul edilmiştir. Hasta yaklaşık bir hafta öncesinde, tanı almamış ateşli bir hastalık geçirmiş; nörolojik bulgular ya da döküntü bulunmayan anoreksi, aşırı yorgunluk/bitkinlik şikayetleri olmuştur. İlk değerlendirmesinde subfebril (ateş: 37.5°C) ve letarjik olarak izlenen hastada sol üst kolda parezi saptanmış, patolojik refleksi, ense sertliği ya da diğer meningeal bulgular kaydedilmemiştir. Laboratuvar incelemesinde hiponatremi (Na: 116 mEq/L) ve artmış alanin aminotransferaz (ALT: 41 U/L) ile aspartat aminotransferaz (AST: 81 U/L) düzeyleri dikkati çekmiş, diğer parametreler normal olarak bulunmuştur. Elektroensefalogramında (EEG) yaygın yavaş dalgalar bulunan hastada, kraniyal bilgisayarlı tomografi (BT) normal sınırlarda olarak izlenmiş; manyetik rezonans görüntülemesinde (MRG) ise sağ dorsal talamik bölgede, öncelikle post-iktal bulgu olarak

yorumlanan bir difüzyon kısıtlılığı saptanmıştır. Uygulanan rehidrasyon ve antiepileptik tedavisine rağmen, hastanın nörolojik durumu kötüleşmiş, stupor ve sağ el ve yüzde miyoklonik atımlar ortaya çıkmıştır. Takip EEG’inde sağ yarıkürede paroksizmal lateralize epileptiform deşarjlar (paroxysmal lateralizing epileptiform discharge, PLED) saptanmış; T2 ağırlıklı MRG kesitlerinde sağ temporoparietal korteks, insula ve talamus bölgelerinde hiperintens lezyonlar ile sitotoksik ve vazojenik komponentli ödem izlenmiştir. Artan ensefalit şüphesi nedeniyle tedavi rejimine asiklovir eklenen olguya lomber ponksiyon uygulanmıştır. Düşük glukoz düzeyi (24 mg/dl) saptanan beyin omurilik sıvısında (BOS) diğer biyokimyasal ve mikroskopik incelemeler normal sınırlarda değerlendirilmiştir. BOS örneğinin bakteri ve mantar kültürlerinde üreme olmamış, hızlı antijen testleri ve herpes simpleks tip 1-2 virusları için uygulanan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) negatif olarak izlenmiştir. Etiyolojide vektör kaynaklı viral enfeksiyonların saptanması amacıyla BOS ve eşzamanlı alınan serum örneği, BNV, kene ensefaliti virusu (Tick-borne encephalitis virus, TBEV) ve Toskana virusu (TOSV) IgM ve IgG antikorları açısından ticari ELISA ve immüno Floresans testleriyle (Euroimmun, Almanya) incelenmiştir. Aynı örnekler, standart saflaştırma ve cDNA sentezinin ardından BNV için zarf glikoproteinlerini hedefleyen bir “nested” PCR⁹ ve TOSV için jenerik flebovirus “nested” PCR yöntemi¹⁰ ile test edilmiştir. BNV ve TBEV serolojisi ve flebovirus PCR tüm örneklerde negatif olarak izlenmiş; serumda ise TOSV IgG antikorları reaktif olarak saptanarak, daha önce meydana gelmiş bir maruziyeti ortaya koymuştur. BNV PCR ise BOS ve serum örneğinin her ikisinde tekrarlayan testlerle pozitif bulunmuş, amplikonlar dizi analizi ile BNV lineage 1 olarak tanımlanmış, elde edilen diziler Gen bankasına yüklenmiştir [GenBank ulaşım no. JX310862 (serum) ve JX310863 (BOS), Şekil 1]. Dizilerin “neighbor-joining” yöntemi ile filogenetik analizi, saptanan virusun “Lineage 1 Clade 1a” izolatlarına yakınlığını ortaya koymuştur (Şekil 1).

Hastanın BNV tanısı sonrasındaki klinik takibinde nörolojik belirtilerinde düzelme izlenmiş, kontrol MRG önceden saptanan lezyonlarda kısmi gerileme ve hafif atrofi izlenirken EEG’lerde PLED’ler ortadan kalkmıştır. Ancak araya giren pnömoni ve takip eden solunum yetmezliği nedeniyle genel durumu bozulan hasta, tüm tıbbi desteğe rağmen yatışının 10. haftasında sepsis ve çoklu organ yetmezliğine bağlı olarak kaybedilmiştir. Post-mortem doku incelemesi ya da otopsi uygulanmamıştır. İzlem süresince lomber ponksiyon tekrarlanmamış, yeni BOS örnekleri test edilmemiştir. BNV PCR pozitif olan örnekleme sonrasında 6, 13, 17 ve 23. günlerde alınan serum örneklerinde TOSV IgG reaktivitesi saptanmış, ancak BNV antikorları ve viral RNA negatif olarak izlenmiştir. Seronegatifliğin doğrulanması amacıyla tüm örnekler, önceden tarif edildiği şekilde BNV plak redüksiyon nötralizasyon testi ile değerlendirilmiş¹¹ ve negatif olarak saptanmıştır. Çalışmalar için hasta yakınlarından bilgilendirilmiş onay alınmış, çalışma protokolü Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından FON.12/05-5 karar sayısı ile onaylanmıştır.

TARTIŞMA

BNV’ye bağlı merkezi sinir sistemi (MSS) tutulumu, ensefalit, menenjit ya da miyelit bulguları ile seyrebilmekte, ancak ensefalit bulguları daha ziyade 55 yaşın üzerindeki



Şekil 1. Tanımlanan olguda serum ve BOS örneklerinde saptanan kısmi BNV dizilerinin analizi. Filogenetik ağaç "Neighbor-joining" yöntemi ve MEGA v.5 yazılımı (www.megasoftware.net) ile, tanıda uygulanan PCR amplikonlarından elde edilen 223 nükleotidlik bölge ele alınarak oluşturulmuştur. "Bootstrap" değerleri ağaçta gösterilmiş ve 1000 replikasyon için hesaplanmıştır. Karşılaştırmada kullanılan BNV dizileri için izolat isimleri ve GenBank ulaşım kodları belirtilmiştir. Japon ensefaliti virüsü (JEV) izolat GP78'ye ait dizi "outlier" olarak analize eklenmiştir. (◆: Çalışmada elde edilen diziler, GenBank ulaşım kodları JX310862 ve JX310863; WNV-HRS 8011 ve WNV-HRS 8211: 2011 yılında İç Anadolu bölgesinde atlardan elde edilen BNV "Lineage 1" dizileri).

kişiler veya altta yatan immün yetmezlik durumlarında ortaya çıkmaktadır^{2,12}. Bu çalışmada Ankara ili kaynaklı, klinik ve laboratuvar bulguları özellik gösteren köken (lineage) 1 virusun etken olduğu bir BNV ensefaliti olgusu tanımlanmaktadır.

BNV'ye bağlı nöroinvazif hastalıkların yaklaşık %60'ında ensefalit bulguları ortaya çıkmaktadır¹². Ancak status epilepticus ve diğer epileptik sendromlar oldukça düşük sıklıkla izlenmekte; üst ekstremiteleri ve/veya yüz kaslarında ortaya çıkan tremor ve miyoklonus, ensefalit izlenen olguların üçte birinden azında görülmektedir^{13,14}. Sık saptanan laboratuvar bulguları ise serumda beyaz küre artışı, BOS'da pleositoz ve artmış protein düzeyidir¹⁴. Olgumuzda izlenen hiponatremi ve anormal karaciğer enzimleri; rapor edilen serilerde sırasıyla %33-50 ve %21-24 oranlarında saptanmıştır¹⁵⁻¹⁷. BOS'ta 40 mg/dl'nin altında glukoz düzeyleri ise çok daha nadirdir ve 238 olgu içeren bir seride sadece bir olguda tanımlanmıştır¹². Ensefalit ile seyreden BNV hastalığında EEG'de yaygın, özgül olmayan yavaş dalga anomalileri izlenmektedir^{12,17,18}. Herpetik ensefalitlerde sık saptanan bir EEG bulgusu olan PLED, BNV ensefalitinde çok daha nadir olarak ortaya çıkmaktadır¹⁹. Kranial BT genellikle normal olarak izlenir; MRG bulguları ise sıklıkla özgül değildir¹²⁻¹⁴. Bununla birlikte, MRG incelemesinde patoloji izlenen olgularda özellikle bazal gangliyonlar ve talamus bölgesinde sinyal anomalileri rapor edilmektedir^{12,14}. Olgumuzda da, özellikle ensefalitin belirgin olduğu dönemde, temporoparietal korteks ve talamusta hiperintens lezyonlar izlenmiştir. Sonuç olarak izlediğimiz klinik, laboratuvar ve görüntüleme bulguları, olgumuzun BNV'ye bağlı MSS enfeksiyonlarında oldukça nadir görülen bir klinik prezentasyon gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Ülkemiz kaynaklı MSS tutulumu izlenen BNV olgu raporları sınırlı sayıdadır. Ankara bölgesinde BNV ensefaliti 2009 yılında 62 yaşında kadın hastada²⁰, 2010 yılında ise 56 ve 61 yaşlarındaki iki erkek hastada doğrulanmıştır²¹. Bu olgularda fokal nörolojik bulgu izlenmeksizin yüksek ateş, baş ağrısı, halsizlik, konfüzyon ve bilinç kaybı bulguları ortaya çıkmıştır. BOS incelemelerinde lenfositik pleositoz, artmış protein ve özgül IgM antikorları saptanmış; EEG, BT ya da MRG incelemelerinde ise dikkate değer bulgu rapor edilmemiştir. Tüm olgular destekleyici tedavi ile nörolojik sekel olmadan iyileşmiştir^{20,21}. Ankara bölgesinde 2011 yılında rapor edilen bir diğer olguda ise, bilinç bulanıklığı, orientasyon bozukluğu ve olgumuza benzer şekilde tremor, karaciğer enzimlerinde yükseklik, BOS'da pleositoz ve artmış protein, serumda ise BNV'ye özgül IgM saptanmış; yatışının dokuzuncu gününde hasta eksitus olmuştur²². 2010 yılında ise Ege bölgesi başta olmak üzere çeşitli illerden olguların saptandığı bir BNV salgını ortaya çıkmış, 35 muhtemel ve 12 serolojik olarak doğrulanmış BNV enfeksiyonu saptanmıştır⁸. Olguların 40'ında nöroinvazif bulguların ortaya çıktığı salgında sık izlenen belirtiler ateş, baş ağrısı, bulantı/kusma, bilinç değişiklikleri şeklinde olup, 15 olguda konvülsiyonlar görülmüştür. BOS incelemesinin sınırlı sayıda olguda yapılabildiği salgında, fokal nörolojik bulgular ya da viral RNA pozitifliği konusunda bilgi bulunmamaktadır⁸.

Filogenetik analizler, BNV izolatlarının beş farklı genetik köken (lineage) şeklinde gruplanabileceğini; yaygın olarak dağılım gösteren kökenlerin ise "Lineage 1" ve "Line-

age 2" olduğunu göstermektedir^{3,23}. Avrupa ve Akdeniz havzasında insan ve atlarda saptanan BNV enfeksiyonlarında sıklıkla "Lineage 1" viruslar saptanmaktadır³. Bununla birlikte özellikle Yunanistan başta olmak üzere çeşitli Avrupa ülkelerinde "Lineage 2" viruslar görülmekte, bazı ülkelerde her iki kökene ait viruslar dolaşımda bulunabilmektedir^{24,25}. Burada tanımlanan olguda serum ve BOS örneklerinde saptadığımız BNV'nin, "Lineage 1 Clade 1a" viruslarına yakınlık gösterdiği ortaya konulmuştur (Şekil 1). Çalışma grubumuz tarafından 2011 yılında Ankara ve Eskişehir kaynaklı at ve insan olgularında da aynı köken viruslar ilk kez saptanmıştır²⁶. Sunulan olgudan elde ettiğimiz diziler, Orta Anadolu bölgesinde "Lineage 1" virusların dolaşımda olduğunu gösteren ilk verileri doğrular niteliktedir.

BNV'nin oluşturduğu hastalıkların tanısında serolojik yöntemlerle özgül antikorların saptanması sıklıkla kullanılan yaklaşımdır². Hastaların yaklaşık yarısında bir hafta içinde IgM tipi antikorlar BOS ya da serumda saptanabilir düzeye ulaşmakta; IgG antikorları ise sıklıkla 7-21. günlerde pozitifleşmektedir²⁷. Kinik örneklerde PCR yöntemi ile viral RNA'nın saptanması, ilk birkaç gün süresince mümkün olabilmekte, daha sonra ortaya çıkan immün yanıtı bağlı olarak virionların dolaşımdan temizlenmesi ile negatifleşmektedir^{2,12}. Buna karşın, uzun süreli viremi ve antikor negatifliği, nadir bazı olgular dışında alta yatan immünsüpresif hastalık, kemoterapi alan olgular ve transplant alıcılarında bildirilmektedir^{14,19}. Olgumuzda hastaneye kabulün 10. gününde eşzamanlı serum ve BOS örneklerinde viral RNA saptanmış, takip eden 22 gün süresince serumda viral RNA veya serokonversiyon gösterilememiştir. Tıbbi hikayesi ya da takibi süresince immün yetmezlikle ilişkili olabilecek herhangi bir hastalığı ya da ilaç kullanımı söz konusu olmayan olguda, ticari ve "in house" yöntemlerle doğrulanan BNV seronegatifliği, uzun süredir devam eden oral alım güçlüğü ve yaşa bağlı immün yanıt yetersizliğine bağlanmıştır. Hastanede yatışının son dört haftasına ait örnekler değerlendirilmediğinden, geç ortaya çıkmış bir serokonversiyonun ekarte edilmesi de mümkün değildir. Olguda BNV bulaş yolu konusunda da kesin bir bilgi olmamasına karşın, bulaşmanın sivrisinek kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Yakın dönemli bir kan transfüzyonu olmayan olgunun ateşli hastalık öncesi evdeki sineklerden rahatsızlığını ifade ettiği bilinmektedir. Tanının ardından olgunun evi ve çevresinde entomolojik çalışma başlatılmış ancak enfekte sivrisinek saptanamamıştır.

Sonuç olarak bu raporda; bilinç değişikliği ve miyoklonik atımlar izlenen, düşük BOS glukozu, artmış hepatik enzimler, belirgin EEG ve MRG bulguları ile seyrederek nozokomial enfeksiyon nedeniyle kaybedilen bir BNV olgusu sunulmuştur. Etken virusun "Lineage 1 Clade 1a" olduğu saptanmış, İç Anadolu bölgesinde bu köken virusların varlığını gösteren ilk veriler doğrulanmıştır. Belirgin bir immünsüpresif durum bulunmasa da, ileri yaşa sahip olgularda özgül antikorların ortaya çıkışının gecikebileceği izlenmiştir. Bu nedenle şüpheli olgularda viral RNA incelemesi serolojik testlerle birlikte kesin tanının konulmasında katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Burke D, Monath T. Flaviviruses, pp: 1043-126. In: Knipe DM, Howley PM (eds), *Fields Virology*. 2001, 4th ed. Lippincott William & Wilkins, Philadelphia.
2. Hayes EB, Gubler DJ. West Nile virus: epidemiology and clinical features of an emerging epidemic in the United States. *Annu Rev Med* 2006; 57: 181-94.
3. Zeller HG, Schuffenecker I. West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23(3): 147-56.
4. Ergunay K, Whitehouse CA, Ozkul A. Current status of human arboviral diseases in Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2011; 11(6): 731-41.
5. Ergünay K, Aydoğan S, Menemenlioğlu D, et al. Ankara bölgesinde nedeni bilinmeyen merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarında Batı Nil virusunun araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2010; 44(2): 255-62.
6. Arpacı F, Çetin T, Kubar A, et al. West Nile virus infection in a patient with acute graft-versus-host disease. *Haematologica* 2009; 94(S2): 687.
7. Sener K, Yapar M, Koru O, Kubar A. Detection of West Nile virus in a patient with acute graft-versus-host disease by using a new developed one-step real time RT-PCR. *J Clin Virol* 2009; 46(S1): S43.
8. Kalaycioglu H, Korukluoglu G, Ozkul A, et al. Emergence of West Nile virus infections in humans in Turkey, 2010 to 2011. *Euro Surveill* 2012; 17(21): pii 20182.
9. Johnson DJ, Ostlund EN, Pedersen DD, Schmitt BJ. Detection of North American West Nile virus in animal tissue by a reverse transcription-nested polymerase chain reaction assay. *Emerg Infect Dis* 2001; 7(4): 739-41.
10. Sanchez-Seco MP, Echevarria JM, Hernandez L, Estevez D, Navarro-Mari JM, Tenorio A. Detection and identification of Toscana and other phleboviruses by RT-nested-PCR assays with degenerated primers. *J Med Virol* 2003; 71(1): 140-9.
11. Bunning ML, Bowen RA, Cropp CB, et al. Experimental infection of horses with West Nile virus. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(4): 380-6.
12. Davis LE, DeBiasi R, Goade DE, et al. West Nile virus neuroinvasive disease. *Ann Neurol* 2006; 60(3): 286-300.
13. DeBiasi RL, Tyler KL. West Nile virus meningoencephalitis. *Nat Clin Pract Neurol* 2006; 2(5): 264-75.
14. Sejvar JJ, Marfin AA. Manifestations of West Nile neuroinvasive disease. *Rev Med Virol* 2006; 16(4): 209-24.
15. Weiss D, Carr D, Kellachan J, et al. Clinical findings of West Nile virus infection in hospitalized patients, New York and New Jersey, 2000. *Emerg Infect Dis* 2001; 7(4): 654-8.
16. Chowers MY, Lang R, Nassar F, et al. Clinical characteristics of the West Nile fever outbreak, Israel, 2000. *Emerg Infect Dis* 2001; 7(4): 675-8.
17. Brilla R, Block M, Geremia G, Wichter M. Clinical and neuroradiologic features of 39 cases of West Nile virus meningoencephalitis. *J Neurol Sci* 2004; 220(1-2): 37-40.
18. Klein C, Kimiagar I, Pollak L, et al. Neurological features of West Nile virus infection during the 2000 outbreak in a regional hospital in Israel. *J Neurol Sci* 2002; 200(1-2): 63-6.
19. Kleinschmidt-DeMasters BK, Marder BA, Levi ME, et al. Naturally acquired West Nile virus encephalomyelitis in transplant recipients: clinical, laboratory, diagnostic, and neuropathological features. *Arch Neurol* 2004; 61(8): 1210-20.
20. Ergünay K, Özkul A. Ankara bölgesinde nedeni bilinmeyen santral sinir sistemi enfeksiyonu olgularında sap-tanan Batı Nil virusu seropozitifliğinin doğrulanması. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(2): 381-3.
21. Ergunay K, Sayiner A, Litzba N, et al. Multicentre evaluation of central nervous system infections due to Flavi and Phleboviruses in Turkey. *J Infect* 2012; 65(4): 343-9.
22. Yeşilkaya A, Kurt Azap O, Arslan H ve ark. Ölümcül seyreden Batı Nil virusu ensefaliti olgusu. *Mikrobiyol Bul* 2012; 46(3): 488-92.
23. May FJ, Davis T, Tesh RB, Barrett AD. Phylogeography of West Nile virus: from the cradle of evolution in Africa to Eurasia, Australia, and the Americas. *J Virol* 2011; 85(6): 2964-74.

24. Papa A. West Nile virus infections in Greece: an update. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2012; 10(7): 743-50.
25. Magurano F, Remoli ME, Baggieri M, et al. Circulation of West Nile virus lineage 1 and 2 during an outbreak in Italy. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(12): E545-7.
26. Ozkul A. Studies on West Nile and Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Viruses in Turkey. Conference of Endemic and Emerging Infectious Diseases of Priority in the Middle East and North Africa: Research Opportunities and Biosafety in a Changing Environment. June 18-21, 2012, Istanbul, Turkey. Abstract Book, p: 71.
27. Tardei G, Ruta S, Chitu V, Rossi C, Tsai TF, Cernescu C. Evaluation of immunoglobulin M (IgM) and IgG enzyme immunoassays in serologic diagnosis of West Nile virus infection. *J Clin Microbiol* 2000; 38(6): 2232-9.