ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

DOI: 10.4274/atfm.galenos.2019.70298
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2019;72(3):298-302

DAHİLİ TIP BİLİMLERİ / INTERNAL MEDICAL SCIENCES

Tokat İlinde Fatal ve Fatal Olmayan Olgularda Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Virüsünün Moleküler Analizi

Molecular Analysis of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Among Fatal and Non-fatal Cases in Tokat Province

Dilek Yağcı Çağlayık[1], Fatma Bayrakdar[2]

[1]Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye
[2]Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı, Ankara, İstanbul

Öz

Amaç: Kırım Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA), ülkemizde 2002'den beri görülmekte ve %5 ölüm oranı ile seyretmektedir. Çalışmada, Türkiye'de en çok olgu bildirimi yapan il olan Tokat'ın ilçelerinden toplanan hasta serumlarında saptanan KKKA virüslerinin genomlarının M segmentlerinde fataliteden sorumlu olabilecek herhangi bir farklılık olup olmadığının ortaya çıkarılması amaçlandı.
Gereç ve Yöntem: KKKA olgularının en çok görüldüğü Mart-Ağustos 2014 döneminde Tokat'ın ilçelerinden başvuran dokuzu eks olan, 10'u şifa ile taburcu olan 19 hasta çalışmaya alındı. Viral RNA elde edilerek, M segment bölgesi PCR ile çoğaltılarak saflaştırıldı ve sekans analizine tabi tutuldu.
Bulgular: Elde edilen M segment dizileri Avrupa grubuna girmekteydi, Rusya ve Kosova virüsleri ile yakın ilişki saptandı, hatta filogenetik ağaçta aynı dal altında toplandı. Ancak 19 alttipten yedisi ayrı bir grup oluşturdu. Bu yedi alt tipte Kosova Hoti genotipinde olduğu gibi R1532K mutasyonu, yine Kosova ve Rusya genotiplerinde bulunan ancak Türkiye'den bildirilen diğer genotiplerde bulunmayan L1601F mutasyonu gözlendi ve bu nedenle ayrı bir alt grup olarak tanımlandı.
Sonuç: Bu çalışmada Almus'ta yaşayan ve karı koca olan; M segment analizi Turkey/Almus01/2014 olarak aynı çıkan hastalardan birinin eks olması diğerinin şifa ile taburcu olması fataliteden sadece viral suşun değil bireysel faktörlerin de olduğu görüşünü desteklemektedir. Belli dönemlerde fatalite oranının arttığı şüphesi doğsa da her sezon bitiminde fatalite oranının aynı kalması virüste fataliteyi arttıracak bir mutasyonun henüz gelişmediğini düşündürmektedir, bu çalışmada elde edilen veriler bu görüşü desteklemektedir.
Anahtar Kelimeler: KKKAV, Tokat, Sekans Analizi

Abstract

Objectives: Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) is seen in our country with fatality rate of 5% since 2002. It was aimed to reveal if there were any differences responsible from fatalities in M segments of CCHF viruses detected in patients' sera in Tokat province, reporting the most of the cases in Turkey.
Materials and Methods: Nineteen patients, applying to hospital whom, nine were later ex and 10 were discharged with cure, from the same regions of Tokat districts between March to August 2014, which is the period of most number of CCHFV cases reported, were included. Viral RNA was isolated, M segment region was amplified and sequence analysis was performed.
Results: Obtained M segment nucleotide sequences were found to be in Europe clade having close relation with Russian and Kosovo strains on the same branches of the phylogenetic tree. Seven out of 19 viruses were in a different group because they had R1532K mutation like Russian and Kosovo strains and L1601F mutation which was not found to exist in the genotypes reported from Turkey, before.
Conclusion: In this study, Turkey/Almus01/2014 M segment analysis was found identical in a couple living in Almus, whom one of them had died while one was discharged from hospital with cure, suggesting individual factors were also responsible from fatality, not only viral strain. On certain periods although suspicion of high mortality rate occurs, at the end of each disease season, fatality stays on the same rate, suggesting there are not any viral mutations increasing fatality. Data on this study support this hypothesis.
Key Words: CCHFV, Tokat, Sequence Analysis

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Uzm. Dr. Dilek Yağcı Çağlayık,
Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, İstanbul, Türkiye
Tel.: +90 216 625 45 45 E-posta: dilekyagcicaglayik@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0003-3473-8073

Geliş Tarihi/Received: 04.11.2019 **Kabul Tarihi/Accepted:** 13.11.2019

©Telif Hakkı 2019 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.
Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.

Giriş

Kırım Kongo Kanamalı Ateşi virüsü (KKKAV); Bunyavirales takımı, Nairoviridae ailesi ve Orthonairovirus cinsine mensup bir virüs olup zarflı, heliksel yapılı, 90-100 nm çapında, tek iplikli, negatif polariteli bir RNA virüsüdür. Genomu üç segmentli olup S (Small) genom segmenti; nükleokapsid proteinini, M (Medium) segmenti; tek bir açık okuma çerçevesi (ORF) kodlar ve daha sonra ayrılarak zarf glikoproteinleri olan Gn (G1) ve Gc (G2)'yi ve 250 aminoasitlik müsin benzeri birimi (mucin like domain) kodlar. L (Large) segmenti ise; RNA bağımlı RNA Polimeraz enzimini kodlamaktadır (1,2).

Hücre üzerindeki reseptörüne, KKKAV Gc glikoproteini ile bağlanır. DC-SIGN (kalsiyum bağımlı lektin hücre yüzey molekülü) molekülü KKKAV'nin hücreye girişinde rol oynamaktadır (3).

Filogenetik analizler KKKAV'nin; hat I (Asya I), hat II (Asya II), hat III (Afrika III), hat IV (Avrupa I), hat V (Afrika II), hat VI (Avrupa II) ve hat VII (Afrika I) olmak üzere yedi hattının (genotip, clade) olduğunu ortaya koymuştur. Bu farklılık virüsün yaygın olarak dolaştığının göstergesidir. İklim ve bitki örtüsü farklılaştıkça KKKAV farklı kene ve omurgalı türlerine uyum sağlamış ve bu durum lokal varyantların ortaya çıkmasını sağlamıştır. Keneye özgü virüs hatlarının mevcudiyeti virüsün konakçı ile evriminin beraber gerçekleştiğinin kanıtı olarak düşünülmektedir (1,2,4).

Balkanlar, Rusya ve Türkiye'de bulunan virüsler Avrupa 1 hattında sıralanmaktadır. Yunanistan, Türkiye ve İran'da bulunan AP92 ve AP92 benzeri suşlar Avrupa II hattını oluşturur. Asya I, Orta doğu'daki virusları, Asya II; Çin, Kazakistan, Tacikistan, Özbekistan'daki virüsleri kapsamaktadır (1,5,6).

Türkiye'de KKKA nedeniyle ölüm oranı %5 ile seyretmektedir. Viremi düzeyinin 108 kopya/mL'den fazla olması KKKA'da mortaliteyi etkileyen faktörlerden biri olarak bildirilmiştir (7).

Tıbbi bakım ve dolaşan viral suşlardaki farklılığın mortalitede farklılığa neden olduğu düşünülmekte fakat bununla ilgili dökümente edilmiş bilgiye ulaşılamamaktadır (1,8).

Bu çalışmada 2014 yılında aynı dönem içinde aynı bölgeden başvuran PCR pozitifliğiyle tanı konmuş, fatal seyreden ve fatal seyretmeyen olgular alındı. Bu olgularda tespit edilen virüslerin M segmentlerinde fataliteden sorumlu olabilecek bir farklılık olup olmadığının ortaya çıkarılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma için etik kurul onayı, Ankara 1 No'lu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 30.09.2009 tarih ve 20090928 karar numarası ile alınmıştır. Retrospektif olduğundan hastalardan onam alınmamıştır.

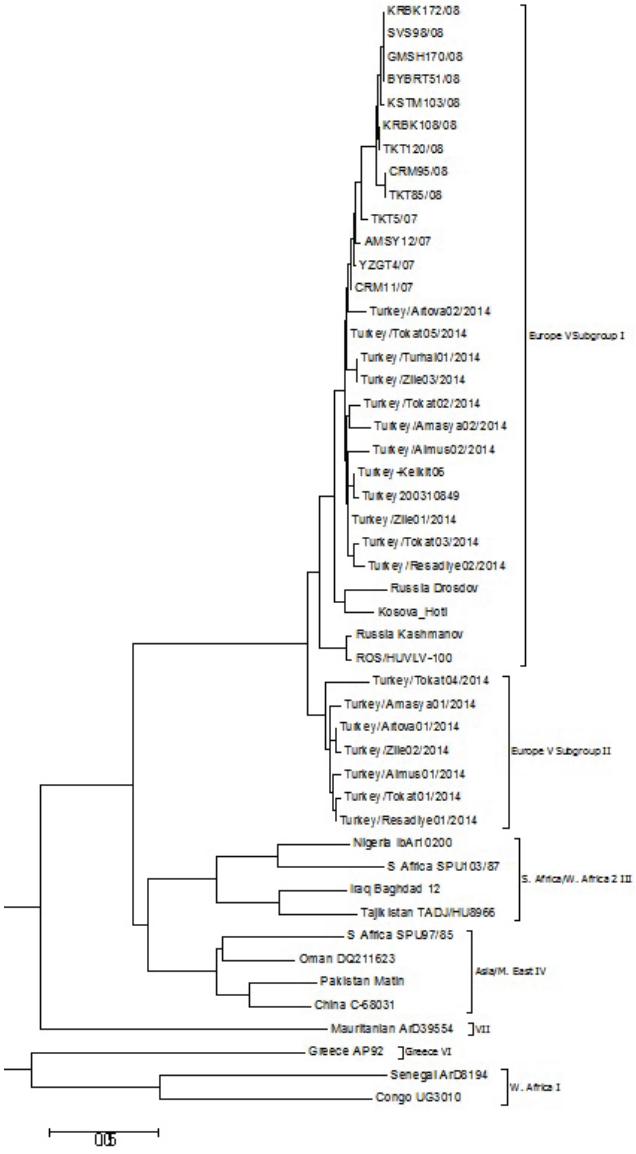
2014 yılı içinde KKKA olgularının en çok görüldüğü Mart-Ağustos döneminde Tokat'ın ilçelerinden başvuran 19 hasta, 2014 KKKA sezonu bitimi olan Ekim ayında çalışmaya alındı. Dizi analizi çalışması, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Viroloji laboratuvarında yapılmış olup, serumlar Samsun Halk Sağlığı Laboratuvarından soğuk zincirle taşınarak, çalışma gününe dek -80°C'de bekletilmiştir. Ortalama yaş 58,5 (27-82) idi. On dokuz hasta da Tokat'ta hastaneye başvurmuştu fakat ikisi Amasya'da 17'si Tokat'ta ikamet etmekte idi. Kene tutunmasından şikayetlerin başlamasına kadar geçen süre ortalama 4,2 gündü (0-15 gün) (Tablo 1).

KKKAV Moleküler Analizi

Viral RNA; Qiagen EZ1 Virus Mini Kit v2.0 ile üretici önerilerine uygun şekilde elde edildi. M segment bölgesi (nucleotide [nt] 4578-5140) Qiagen One-step RT-PCR Kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak daha önce tanımlanmış (22F 5' AGRAARCTTGAATTTGGGACAGA-3' ve 23R 5' CCAATGTGTGTYTTKGTRGAGAACA-3') primer çiftleriyle çoğaltıldı (9). M segment PCR ürünleri Qiaquick PCR purification kit ile saflaştırıldı ve BigDye v 3,1 sekans kiti ve ABI 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, ABD) ile sekans analizine tabi tutuldu. Benzer sekansların ortaya çıkarılmasında DAMBE software, version 5.3.10 kullanıldı (10). Filogenetik analiz MEGA version 6 ile yapıldı (11). Dataların analizi için referans almak amacıyla daha önce M segmentiyle ilgili olarak verileri girilmiş olan Yunanistan AP92-DQ211625; Kongo UG3010-DQ211637, Senegal ArD8194- DQ211626; Nijerya IbAr10200-AF467768; Moritanya ArD39554-DQ211628; Güney Afrika SPU97/85-DQ211633, Güney Afrika SPU103/85-DQ211634; Irak Bağdat-12-AJ538197; Pakistan Matin-AF467769; Umman-DQ211632; TacikistanTADJ-HU8966-AY179962; Çin C-68031-DQ211629; Rusya Drosdov-DQ211630; Rusya Kaşmanov-DQ211631; Rusya VLV-100-DQ206448; Türkiye 200310849-DQ211636; Türkiye-Kelkit06-GQ337054; Kosova 9553-01-AY675511 ve parisyel M segment GU320678-GU320691) olarak tespit edilmiş suşların gen dizilimi NCBI (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi) GenBank'tan temin edildi. Fasta formatına çevrilen tüm verilere Neighbor-Joining metoduna göre Bootstrap analizi (1000 tekrar) yapıldı. Mesafeler Kimura 2 modeli kullanılarak hesaplandı. Bu çalışmada elde edilen suşların nükleotit gen dizilimleri KT266832-KT266848 numarası ile NCBI GenBank kaydı yapıldı (12,13).

Tablo 1: Hastalara ait demografik veriler

Özellikler	Sayı
Toplam hasta sayısı (Erkek/Kadın)	19 (11/8)
Ortalama yaş (minimum-maksimum)	58 (27-82)
Kene teması olan hasta sayısı	9
Takibin başladığı gün (ortalama)	4 (0-15)
Şifa ile taburcu olan hasta oranı	10/19 (%53)



Şekil 1: Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Virusu M Segmentine göre filogenetik ağaç. Elde edilen örneklerin genom dizilimi "Turkey/Almus 01/2014", "Turkey/Almus 02/2014", "Turkey/Amasya 01/2014", "Turkey/Amasya 02/2014", "Turkey/Artova 01/2014", "Turkey/Artova 02/2014", "Turkey/Resadiye 01/2014", "Turkey/Resadiye 02/2014", "Turkey/Tokat 01/2014", "Turkey/Tokat 02/2014", "Turkey/Tokat 03/2014", "Turkey/Tokat 04/2014", "Turkey/Tokat 05/2014", "Turkey/Turhal 01/2014", "Turkey/Zile 01/2014", "Turkey/Zile 02/2014", "Turkey/Zile 03/2014", olarak isimlendirildi

İstatistiksel Analiz

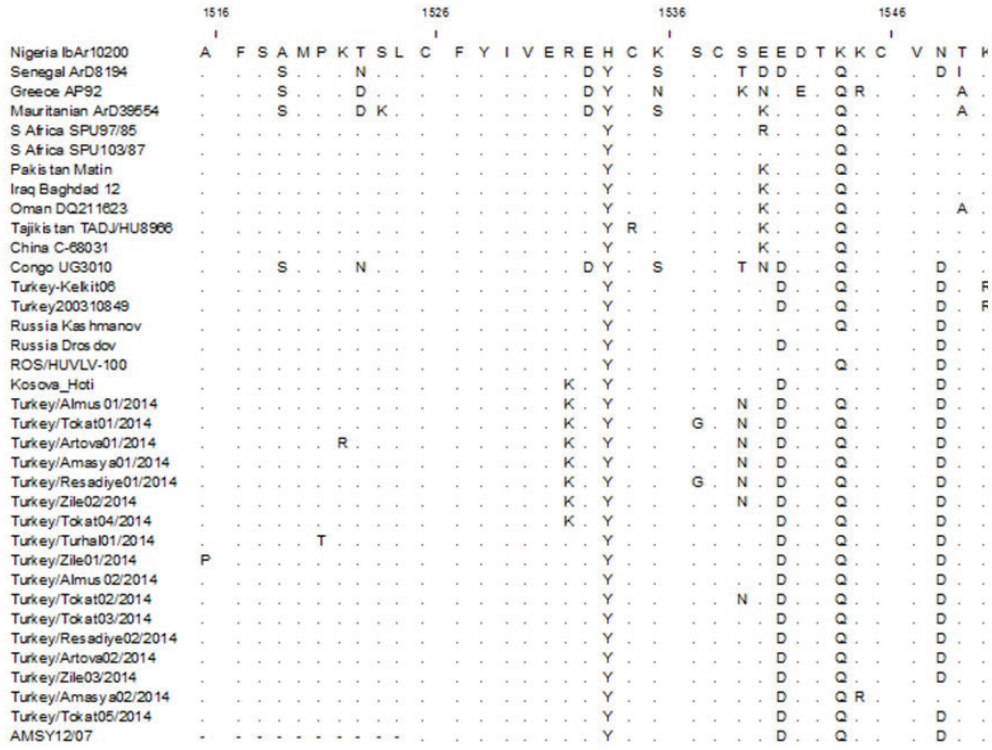
Çalışma kapsamında toplanan veriler IBM Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows 21.0 paket programı ile analiz edildi. Kesikli veriler için sıklık ve yüzde, sürekli veriler için ortalama olmak üzere tanımlayıcı veriler kullanıldı.

Bulgular

Tokat ilinde çalışmaya dahil edilen 19 hastanın takip sonucu dokuzunun eks olduğu, 10'unun şifa ile taburcu olduğu belirlendi (Tablo 1). Elde edilen M segmentinin G1 bölgesine ait kısmi M segment sekans dizileri ([nt] 4578-5140) çıkartıldı, tümü Avrupa I hattına girmekteydi. Türkiye genelinde 2006-2008 arasında M sekansı yapılan virüs izolatları, Turkey-Kelkit06 ve Turkey200310849 virüsleri, Rusya ve Kosova virüsleri ile bu çalışmada elde ettiğimiz virüs izolatları arasında yakın ilişki saptandı hatta filogenetik ağaçta aynı dal altında toplandığı görüldü (Şekil 1) (6). Amino asit dizisine baktığımızda Türkiye'den daha önce bildirilen izolatlarda 1532. Amino asitte herhangi bir mutasyon gözlenmezken bu yedi izolatta aynı Kosova Hoti izolatında olduğu gibi R1532K mutasyonu, yine Kosova ve Rusya izolatlarında bulunan ancak Türkiye'den bildirilen diğer izolatlarda bulunmayan L1601F mutasyonu gözlenmiştir (Şekil 2). Yeni genotip kriterlerine göre- %70-100 bootstrap değeri ve aynı filogenetik kümedeki diğer tüm üyelerine en az 0,07 p-mesafe ile kümelenen sekanslar nedeniyle bu yedi virüs izolatını alt grup olarak ayırmak gerekmektedir (14). Bu nedenle 19 alt tipten yedisi ayrı bir grup oluşturdu. Turkey/Almus01/2014 genotipi, Tokat'ın Almus ilçesi Oğulbey köyünde Nisan 2014'te aynı gün hastaneye başvuran evli çiftte saptandı. Erkek olan hasta eks olurken kadın hasta şifa ile taburcu edildi. Turkey/Artova01/2014 genotipi ise farklı coğrafi yapılarla ayrılmış ve birbirinden 40 km uzaklıkta bulunan Tokat ili Artova ilçesi Gürardıç köyü ve Tokat ili Pazar ilçesi Ocaklı köyünde ikamet eden ve mayıs ayında her ikisi de eks olan 80 yaşındaki erkek ve 27 yaşındaki kadın hastada tespit edildi (Tablo 2).

Tartışma

Ülkemizde daha önce yapılan M segment dizi analizi çalışmalarında bulunana benzer şekilde dolaşan genotiplerin birbiriyle yakın ilişki içinde olduğu ve Güneydoğu Rusya ve Kosova virüslerine yakınlık göstermekte olduğu saptandı (6,15). Kosova'da yapılan 50 hastanın M segment sekansında bu durum tam tersi bulunmuş olup, ekolojik ya da coğrafi engeller bulunmadığı halde çok sayıda varyanta rastlanmış olunması açıklanamamıştır (16). Bizim çalışmamızda ise tam tersi bir durum olmak üzere iki ilçe arasında bir tabiat parkı ve dağlık arazi yapısı olmasına rağmen her iki olguda da mortaliteyle sonuçlanan Tokat/Artova01/2014 olarak adlandırılan aynı viral suş gözlenmiştir. Bu konuda parçalı arazi yapısı suçlanmakta olup zaten var olan viral varyantların taşınmalarından ziyade değişen fiziki koşullar nedeniyle aynı varyantların farklı yerlerde ortaya çıkma ihtimalleri üzerinde durulmaktadır (17). Bununla beraber yüksek viral yükte enfekte keneleri üzerlerinde taşıyan omurgalıların ve kuşların hareketlerinin, yine yüksek viremik büyük baş ve küçük baş hayvanların insanlar tarafından taşınmalarının da KKKA insidansında artışa neden olabileceği savunulmaktadır (18). Küçük coğrafi alanlarda farklı KKKAV alt gruplarının görülebilir olması farklı ülkelerden ithal edilen enfekte hayvanlara da bağlanabilmektedir (19).



Şekil 2: İncelenen virüslerin aminoasit dizilimi

Tablo 2: Virüslere ait dizi analizine göre eks ve şifa olan hasta dağılımı

	Genotip	Eks/şifa	Hasta sayısı
1	Turkey/Tokat 05/2014	Eks	1
2	Turkey/Turhal 01/2014	Eks	1
3	Turkey/Zile 03/2014	Şifa	1
4	Turkey/Almus 02/2014	Şifa	1
5	Turkey/Zile 01/2014	Eks	1
6	Turkey/Tokat 03/2014	Şifa	1
7	Turkey/Reşadiye 02/2014	Eks	1
8	Turkey/Artova 02/2014	Şifa	1
9	Turkey/Tokat 02/2014	Şifa	1
10	Turkey/Amasya 02/2014	Eks	1
11	Turkey/Tokat 04/2014	Şifa	1
12	Turkey/Tokat 01/2014	Eks	1
13	Turkey/Reşadiye 01/2014	Şifa	1
14	Turkey/Almus 01/2014	Eks/şifa	2
15	Turkey/Amasya 01/2014	Şifa	1
16	Turkey/Artova 01/2014	Eks/Eks	2
17	Turkey/Zile 02/2014	Şifa	1

Sonuç

Bu çalışmada Almus'ta yaşayan ve karı koca olan; M segment analizi Turkey/Almus01/2014 olarak aynı çıkan hastalardan birinin eks olması diğerinin şifa ile taburcu olması fataliteden viral suşun yanısıra bireysel faktörlerin de sorumlu olabileceği görüşünü desteklemektedir. Belli dönemlerde fatalite oranının arttığı şüphesi doğsa da her sezon bitiminde fatalite oranının Türkiye için %4-5 olmak üzere aynı kalması virüste fataliteyi arttıracak bir mutasyonun henüz gelişmediğini düşündürmektedir, fakat aynı zamanda birbirinden yaklaşık 40 km uzaklıktaki Tokat'ın Pazar ve Artova ilçelerinde aynı viral suşla hastaların eks olması da bu çalışma ile ortaya çıkmıştır. Aynı genotipin farklı ilçelerde görülebiliyor olması kontrolsüz hayvan hareketlerine ve kenelerin göçebe kuşlar vasıtasıyla yer değiştirmesine bağlanabileceği gibi parçalı arazi yapısının artmasından kaynaklı zaten var olan virüslerin ortaya çıkmasından da kaynaklanmış olabilir.

Bu çalışmamız sayesinde konakçı faktörünün önemine dair önemli bir veri elde edilmiştir. Bu çalışma ile yapılana benzer şekilde aynı il, ilçe ve köylerden her sezon ölen ve yaşayan olguların sekans analizlerinin sistematik yapılması ile viral suş, konakçı ve mortalite konusunda daha çok veri sağlanıp, ilişki daha net ortaya konabilecektir.

Teşekkür

Bu çalışmada 2014 yılında Tokat ilinde hasta takibi sırasında fatalite oranında artma farkedip bildiren Tokat GOP Üniveristesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümüne, hasta serumlarını ileri moleküler analiz için gönderen Samsun Halk

Sağlığı laboratuvarına, destekleri için HSGM viroloji laboratuvar sorumlusu Doç. Dr. Gülay Korukluoğlu'na ve Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

Etik

Etik Kurul Onayı: Ankara 1 No'lu Klinik Araştırmalar Etik kurulu'ndan 30.09.2009 tarih ve 20090928 karar numarası ile etik kurul onayı alınmıştır.

Hasta Onayı: Retrospektif olduğundan onam alınmamıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulunun dışından olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

Yazarlık Katkıları

Dizayn: D.Y.Ç., Veri Toplama: F.B., D.Y.Ç., Analiz veya Yorumlama: F.B., D.Y.Ç., Literatür Arama: F.B., D.Y.Ç., Yazan: D.Y.Ç.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Bu çalışma, Avrupa birliği 7. Çerçeve Programı kapsamında kabul edilmiş 2010-260427 sayılı Proje desteği ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

1. Bente DA, Forrester NL, Watts DM, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever: History, epideagar miology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. Antivir Res. 2013;100:159-189.
2. Lukashev AN, Klimentov AS, Smirnova SE, et al. Phylogeography of Crimean Congo Hemorrhagic Fever Virus. PLoS One. 2016;11:e0166744.
3. Papa A, Tsergouli K, Tsioka K, et al. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: Tick-Host-Virus Interactions. Front Cell Infect Microbiol. 2017;7:213.
4. Ergonul O, Whıtehouse Ca. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective. The Netherlands. Springer. 2007;219-212.
5. Salehi-Vaziri M, Baniasadi V, Jalali T, et al. The first fatal case of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever due to AP92 like strain of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever virus. Jpn J Infect Dis. 2016;69.
6. Ozkaya E, Dincer E, Carhan A, et al. Molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Turkey: Occurrence of local topotype. Virus Res. 2010;149:64-70.
7. Hasanoglu I, Guner R, Carhan A, et al. Crucial parameter of the outcome in Crimean Congo hemorrhagic fever: Viral load. J Clin Virol. 2016;75:42-46.
8. Hawman DW, Feldmann H. Recent advances in understanding Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. F1000Res. 2018;7. pii: F1000 Faculty Rev 1715.
9. Kuhn JH, Seregin SV, Morzunov SP, et al. Genetic analysis of the M RNA segment of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus strains involved in the recent outbreaks in Russia. Archives of Virology. 2004;149:pp2199-2213.
10. Xia X. DAMBE5: A comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution. Mol Biol Evol. 2013;30:1720-1728.
11. Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Mol Biol Evol. 2013;30:2725-2729.
12. Bayrakdar F, Yagci Caglayik D. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus isolate Turkey/Almus01/2014 glycoprotein precursor, gene, partial cds GenBank: KT266832.1 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KT266832
13. Bayrakdar,F. and Yagci Caglayik,D Crimean-Congo hemorrhagic fever virus isolate Turkey/Tokat05/2014 glycoprotein precursor, gene, partial cds GenBank: KT266848.1 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KT266848
14. Venter M, Madhi SA, Tiemessen CT, et al. Genetic diversity and molecular epidemiology of respiratory syncytial virus over four consecutive seasons in South Africa: identification of new subgroup A and B genotypes. J Gen Virol. 2001;82:2117-2124.
15. Ozdarendeli A, Aydin K, Tonbak S, et al. Genetic analysis of the M RNA segment of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus strains in Turkey. Arch Virol. 2008;153:37-44.
16. Fajs L, Jakupi X, Ahmeti S, et al. Molecular Epidemiology of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Kosovo. PLoS Negl Trop Dis. 2014;8:e2647.
17. Estrada-Peña A, Vatansever Z, Gargili A, et al. The trend towards habitat fragmentation is the key factor driving the spread of Crimean-Congo haemorrhagic fever. Epidemiol Infect. 2010;138:1194-1203.
18. Gargili A, Estrada-Peña A, Spengler JR, et al. The role of ticks in the maintenance and transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: A review of published field and laboratory studies. Antiviral Res. 2017;144:93-119.
19. Rodriguez LL, Maupin GO, Ksiazek TG, et al. Molecularinvestigationofamultisource outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever in the UnitedArab Emirates. Am J Trop Med Hyg. 1997;57:512-518.