

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KAN DONÖRLERİNDE DENGUE VİRUS VARLIĞININ
SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Serpil KIZILDAMAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ

MERSİN – 2011

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KAN DONÖRLERİNDE DENGUE VİRUS VARLIĞININ SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

Serpil KIZILDAMAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
BAP-SBEM TM (SK) 2010-5 YL nolu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No: 201
MERSİN - 2011

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan **“Kan Donörlerinde Dengue Virus Varlığının Serolojik Olarak Araştırılması”** başlıklı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

27.12.2011

Prof. Dr. Gülferi EMEKDAŞ
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Jüri Başkanı/Danışman


Doç.Dr. Mehmet Sami SERİN

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi


Yrd.Doç.Dr. Seda TEZCAN

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun ~~10.01.2012~~ tarih ve ~~2012/104~~ sayılı kararı ile kabul edilmiştir.


Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimime başladığım andan itibaren her konuda yardımlarını ve desteğini gördüğüm Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ başta olmak üzere, değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Gönül ASLAN, Sayın Prof. Dr. Candan ÖZTÜRK, Sayın Doç. Dr. Nuran DELİALİOĞLU, Sayın Doç. Dr. Feza OTAĞ ve Yrd. Doç. Dr. Seda TEZCAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca laboratuvar ortamında sonsuz desteklerini gördüğüm Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda görev yapan tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmam boyunca desteğini gördüğüm Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. E. Naci TİFTİK'e ve kan merkezinde çalışmalarım boyunca bana destek olan tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim. İstatistik analizlerimde yardımcı olan Biyoistatistik anabilim çalışanlarına katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu tez çalışmam sırasında da beni maddi ve manevi açıdan sürekli olarak destekleyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Arboviruslar	3
2.1.1. <i>Flaviviridae</i> Ailesi	5
2.1.2. Flavivirus	8
2.2. Dengue Virus (DENV).....	10
2.2.1. Genomik Yapısı Ve Replikasyonu.....	10
2.2.2. Virion Yapısı.....	11
2.2.3. Serotipleri.....	12
2.3. DENV Enfeksiyonunun Patofizyolojisi	13
2.3.1. DHA’i ve DSS’da Antikor-Bağımlı Artış (ABA)’ın Rolü	14
2.3.2. Dengue Virus Enfeksiyonunun Patogenezinde Otoantikorların Rolü	16
2.4. DENV Enfeksiyonunun Tarihçesi.....	16
2.5. DENV Enfeksiyonunun Epidemiyolojisi	17
2.6. Dengue Enfeksiyonunda Klinik Belirtiler.....	20
2.6.1. Dengue Ateşi.....	20
2.6.2. Dengue Hemorajik Ateşi.....	21

2.6.3. Dengue Şok Sendromu.....	23
2.7. Laboratuvar Bulguları	23
2.8. Bulaşma Yolları	24
2.8.1. Vektör Dışı Bulaşma Yolları.....	24
2.8.1.1. Vertikal Bulaşma	24
2.8.1.2. Transfüzyonla Bulaşma	25
2.8.1.3. Transplantasyonla Bulaşma	26
2.8.1.4. İğne Batması Yoluyla Bulaşma	26
2.8.2. Vektörler Aracılığıyla Bulaş	27
2.8.2.1. <i>Aedes aegypti</i> 'nin Küresel Dağılımı	29
2.8.2.2. <i>A. aegypti</i> 'nin İklimsel Dağılımı	31
2.8.2.3. İklim, <i>A. aegypti</i> ve Dengue	32
2.9. Korunma Ve Vektör Kontrol	34
2.9.1. Çevresel Kontrol Yöntemleri	34
2.9.2. Biyolojik Kontrol Yöntemleri	34
2.9.3. Kimyasal Kontrol.....	35
2.10. Laboratuvar Tanısı	36
2.11. Tedavi.....	38
2.12. Aşılar	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	41
3.1. Çalışma Grubunu Oluşturan Örnekler	41
3.1.1. Örneklerin Toplanması	41
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	41
3.2.1. Kullanılan Cihazlar	41
3.2.2. Kullanılan Reaktifler	42
3.2.2.1. Kit İçerikleri.....	42
3.2.2.1.1. Dengue ELISA IgG [G1018]	42
3.2.2.1.2. Dengue ELISA IgM Capture [M1018]	43

3.2.3. Kullanılan Çözeltiler	43
3.2.3.1. Dengue ELISA IgG [G1018]	43
3.2.3.2. Dengue ELISA IgM Capture [M1018]	44
3.2.3.3. Dengue NS1 Antijen Kiti [70700, Bio-Rad Fransa]	44
3.3. DENV'una karşı oluşan IgG ve IgM antikorlarının ELISA yöntemi ile tespiti	44
3.3.1. "Dengue ELISA IgG" Test Prosedürü	44
3.3.2. "Dengue ELISA IgM Capture" Test Prosedürü	45
3.3.3. "Dengue NS1 Antijen Strip" Test Prosedürü	46
3.4. İstatistiksel Analiz	47
4. BULGULAR	48
4.1. Dengue ELISA Sonuçları	48
4.2. Dengue NS1 Antijen Testi Sonuçları	51
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	61
KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Flaviviridae</i> ailesinde üç genusun genom organizasyonları.....	7
Şekil 2.2. Flavivirusların NS3 poliprotein bölgesi temel alınarak “Neighbor-joining” metodu ile oluşturulmuş filogenetik ağaç.....	9
Şekil 2.3. Dengue virusunun genomik yapısı.....	10
Şekil 2.4. E glikoprotein homodimerlerinin düz bir sırasını içeren olgun virus partikülünün dış yüzeyi.....	12
Şekil 2.5. DENV replikasyonu ve hastalığının ABA modeli.....	15
Şekil 2.6. Dünya genelinde, DENV’nun bulaşmasında risk haritası.....	27
Şekil 2.7. <i>Aedes</i> türü sivrisineklerin doğadaki döngüsü.....	28
Şekil 3.1. IgG ve IgM ELISA plakları.....	46
Şekil 4.1. Sağlıklı kan donörlerine ait örneklerin alındıkları bölgelere göre dağılım yüzdesi.....	49
Şekil 4.2. Dengue NS1 antijen testi.....	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. İnsan hastalıklarıyla ilişkili bazı arboviruslerin taksonomik sınıflandırması...	4
Çizelge 2.2. <i>Flaviviridae</i> ailesinde yer alan viruslar.....	6
Çizelge 2.3 Deneysel dengue virus aşılıarı.....	40
Çizelge 4.1. Sağlıklı kan donörlerine ait plazma örenklerinde anti-dengue IgG ve IgM antikorlarının yüzde (%) oranları.....	48
Çizelge 4.2. IgG ve IgM pozitif kan donörlerinin yaş ortalaması.....	49
Çizelge 4.3. Bölgelere göre IgG ve IgM dağılımının kendi içindeki yüzde oranları.....	50
Çizelge 4.4. IgG ve IgM pozitif kan örneklerinin toplandığı aylara göre dağılımı.....	51

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABA	Antikor-Bağımlı Artış
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
BNV	Batı Nil Virusu
BVDV	Bovine Viral Diyare Virusu
CSFV	Klasik Domuz Ateşi Virusu
DA	Dengue Ateşi
DDT	Dikloro Difenol Trikloroethan
DENV	Dengue Virusu
DHA	Dengue Hemorajik Ateşi
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
DSS	Dengue Şok Sendromu
EIP	Extrinsic Incubation Period (Ekstrensek Kuluçka Dönemi)
ELISA	Enzyme Linked İmmunosorbent Assay
FDA	Food and Drug Administration
HBV	Hepatit B Virusu
HCV	Hepatit C Virusu
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IgG	İmmunoglobulin G

IgM	Immunoglobulin M
JEV	Japon Ensefalit Virusu
MVEV	Murray Vadisi Ensefaliti Virusu
ORF	Open Reading Frame
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	Ribonükleik Asit
rt RT-PZR	reel time Reverse Transcriptase-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RT-PZR	Reverse Transcriptase-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SLEV	St. Louis Ensefaliti Virusu
TBEV	Tick-Borne Encephalitis Virus (Kene Kaynaklı Ensefalit Virusu)
TMA	Transcription Mediated Amplification
TMB	Tetramethylbenzidine
YFV	Yellow Fever Virus (Sarı Humma Virusu)

ÖZET

Kan Donörlerinde Dengue Virus Varlığının Serolojik Olarak Araştırılması

DENV, *Flaviviridae* ailesinin *Aedes* türü sivrisineklerle taşınan bir üyesi olup, antijenik olarak ilişkili dört farklı serotipi mevcuttur. Genellikle dünyanın tropikal-subtropikal bölgelerinde bulunmaktadır. Çoğunlukla aseptomatik veya orta şiddette ateş, eklem-kas ağrıları ve deride döküntülerle karakterize enfeksiyona sebep olmaktadır. DENV'nun Asya, Amerika, Afrika kıtalarında epidemiler oluşturduğu ve kıtalar arası seyahatle Avrupa ülkelerine kadar taşındığı bildirilmektedir. Bu doğrultuda Asya ile Avrupa arasında bir köprü görevi üstlenen ülkemizde DENV'nun epidemiyolojisi ile ilgili olarak bilgiler oldukça sınırlıdır. Çalışmada, Mersin bölgesinde yaşayan erişkin popülasyonunu temsilen kan donörlerinde bu virusun aktivitesi ve yaygınlığının belirlenmesi, bölgemiz ve ülkemiz açısından gerek kan alıcıları gerekse bireyler arasında tehlike oluşturup oluşturmadığının ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Bu çalışmaya, 2010 yılı Ağustos, Kasım ayları ile 2011 yılı Ocak, Şubat, Mart ve Nisan aylarında Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kan Merkezi'ne başvuran, 920 sağlıklı kan donöründen elde edilen plazma örnekleri dahil edildi. DENV'na özgül IgG ve IgM antikorlarının tespiti için, ticari ELISA kitleri kullanıldı. Çalışma, üretici firmanın önerdiği prosedürler doğrultusunda gerçekleştirildi. Dengue serotiplerine özgül antikorların optik dansitesi spektrofotometrede 450/650 nm'de ölçülerek, sonuçlar kit prosedürüne göre değerlendirildi. Çalışılan 920 plazma örneğinin 153 (%16,6)'ünde DENV'na özgül IgG sınıfı antikorlar tespit edildi. IgG pozitif olarak bulunan örneklerden 132 (%14,3)'si pozitif, 21 (%2,3)'i ise sınırda pozitif olarak değerlendirildi. IgM sınıfı antikorlar çalışılan 920 örneğin 8 (%0,9)'inde pozitif bulundu. IgM pozitif olarak değerlendirilen örneklerin 2 (%0,2)'si pozitif, 6 (%0,7)'si ise sınırda pozitif olarak değerlendirildi. IgG pozitif saptanan örneklerin bir tanesinde IgM pozitifliği de saptandı. Örneklerde IgG antikorlarının bulunması daha önceden geçirilmiş enfeksiyonu gösterirken, IgM antikorlarının varlığı akut bir enfeksiyonun göstergesidir. Yaptığımız bu çalışmada, Mersin bölgesinde yaşayan sağlıklı popülasyonu temsilen kan donörlerinde virusun sirkülasyonu belirlenmiş olup, bölgeye ait ilk epidemiyolojik veriler elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Dengue Virus, Kan Donör, ELISA, Epidemiyoloji

ABSTRACT

Serologically Investigation of Dengue Virus in Blood Donors

DENV which is a member of the *Flaviviridae* family that is carried by *Aedes* mosquitoes has antigenically related four different serotypes. They are generally in the tropical-subtropical regions of the world. Mostly it causes infection characterized as skin rashes, asymptomatic or moderate fever, joint and muscle pains. It is reported that DENV formed epidemics in the continent which are Asia, America and Africa. Moreover by intercontinentally traveling it moved up to European countries. With this direction our country which has a bridge mission between Asia and Europe has very limited information about epidemiology of DENV. In this study it was aimed to determine the virus activity and its prevalence of the blood donors who represent the adult population lives in Mersin. Moreover to find out if it cause a danger among the individuals and blood recipients in our region and country. In the study; between August, November 2010 and January, February, March, April 2011 there were 920 plasma samples obtained from healthy blood donors who applied the Mersin University Health Center, Blood Banking Unit. To detection for antibodies IgG and IgM which are specific of Dengue, the commercial ELISA kits were used. The study was performed in accordance to the manufacturer's recommended procedures. Optical density of Dengue serotypes specific antibodies measured at 450/650 nm spectrophotometer and the results were evaluated according to the kit procedure. DENV specific IgG class antibodies were found in 153 (16,6%) of studied 920 plasma samples. This IgG positive samples evaluated that 132 (14,3%) samples were as positive and 21 (2,3%) were as borderline positive. The IgM antibody were found as positive in 8 (0,9%) of 920 samples. It is evaluated that 2 (0,2%) were positive and 6 (0,7%) were borderline positive of this IgM positive samples. In the one sample detected as positive both of IgM and IgG. IgG antibodies show the prior infection but IgM antibodies indicate an acute infection. It is identified in our study that there is virus circulation of the healthy blood donors who live in Mersin. Furthermore it is obtained the first epidemiological information which belongs to our region.

Key Words: Dengue Virus, Blood Donor, ELISA, Epidemiology.

1. GİRİŞ

Dengue virus (DENV)'u, *Flaviviridae* ailesinin bir üyesi olup, genellikle dünyanın tropikal-subtropikal bölgelerinde bulunmaktadır (1). Virus insanlara özellikle, *Aedes aegypti* türü sivrisineklerin ısırması ile bulaşmaktadır (2, 3). Enfekte sinek yaşamı boyunca virusu duyarlı bireylere taşımaktadır. İnsanlar virusun çoğaldıkları esas konaklardır ve kan dolaşımında sirküle olan virus, başka sineklere virusun taşınmasında kaynak teşkil etmektedir (3).

DENV'unun antijenik olarak birbiriyle ilişkili dört serotipi bulunmaktadır (DENV-1, DENV-2, DENV-3 ve DENV-4) (2). DENV serotiplerinden biri ile enfeksiyon; dengue ateşi (DA) olarak adlandırılan, çoğunlukla asemptomatik veya oldukça düşük mortalite ile seyreden, orta şiddette ateş, eklem-kas ağrıları ve deride döküntülerle karakterize enfeksiyona sebep olmaktadır. Nadiren ise, vasküler permeabilite artışı ile karakterize ve %10 mortalite ile seyreden dengue hemorajik ateşi (DHA)'ne sebep olabilmektedir. Dört serotipten biri ile oluşan primer enfeksiyon sonucunda bu serotipe karşı kalıcı immünite meydana gelmektedir (4). Farklı serotip ile sekonder enfeksiyon ise yüksek riskte DHA ve dengue şok sendromu (DSS)'na da sebep olmaktadır (2). Yapılan çalışmalar, farklı serotip ile sekonder enfeksiyonun, antikor-bağımlı artış (antibody-dependent enhancement [ABA]) olarak bilinen, virusun makrofajlara girişinin artmasına ve böylece enfeksiyonun şiddetlenmesine sebep olarak hastalığın daha ciddi bir görünümle sonuçlanabileceğini göstermiştir (2, 4). Her yıl dünya çapında 100 milyon kişinin dengue enfeksiyonuna yakalandığı ve bunların da 500.000 kadarında da DHA geliştiği tahmin edilmektedir (5, 6).

DENV'u, genom büyüklüğü yaklaşık 11 kilobaz (kb) olan pozitif zincirli bir RNA virusudur. Genom 3 yapısal (kapsid [C], membran [M] ve zarf [E]) ve 7 yapısal olmayan (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B ve NS5) protein kodlamaktadır (2).

Dengue enfeksiyonunun laboratuvar tanısı çeşitli yöntemler ile yapılmaktadır. Bu yöntemler; virus tespiti (hücre kültürü, immüno Floresan yöntemler), anti-dengue antikorlarının tespiti (hemaglutinasyon inhibisyon, plak redüksiyon nötralizasyon testi ve ELISA), dengue antijenlerinin tespiti (ELISA ve dot blot teknikleri) ve moleküler yöntemleri (RT-PZR ve real-time RT-PZR) içermektedir (2, 7).

DENV'unun, Karayipler, Orta-Güney Amerika, Afrika, Güneydoğu Asya gibi dünyanın birçok tropikal bölgesinde endemik olduğu (8, 9) ve kıtalar arası seyahatle Avrupa ülkelerine kadar taşındığı bildirilmektedir (10). Bu doğrultuda Asya ile Avrupa arasında bir köprü görevi üstlenen ülkemizde DENV'unun epidemiyolojisi ile ilgili olarak bilinenler oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada, Mersin bölgesinde yaşayan erişkin popülasyonu temsilen kan donörlerinde bu virusun aktivitesi ve yaygınlığının belirlenmesi, bölgemiz ve ülkemiz açısından gerek kan alıcıları gerekse bireyler arasında tehlike oluşturup oluşturmadığının ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Arboviruslar

Arbovirus (Arthropod-Borne Viruslar)'lar, vertebralı konaklarına biyolojik olarak, sivrisinekler, diğer sokucu sinekler ve keneler gibi kan emen artropod vektörleri aracılığıyla taşınmaktadırlar. Biyolojik taşınmada, virusun bulaşabilmesi için artropod vektöründe replike olması gerekmektedir. Mekanik bulaşta ise, kontamine ağız organelleri ile replikasyona gerek olmadan bulaşma gerçekleşmektedir (11). Biyolojik taşınma virusun, enfekte dişi sivrisineğin, dişi veya erkek olan bir sonraki nesline geçmesiyle vertikal olabilmektedir (11, 12). Horizontal taşınma veneral olabilmektedir, şöyle ki, vertikal olarak enfekte bir sinek dişi sineğe bulaştırabilmektedir ya da dişi sinek vektör kan emme sırasında vertebralı konağından oral olarak virüsü alabilmektedir. Bu kan emme sırasında virusun alınması şeklindeki horizontal taşınma şekli birçok arbovirusta oldukça yaygındır ve viremik konaktan kan emme sırasında sindirim yolu ile vektörün enfeksiyonu gerçekleşmektedir. Virusun vektörde yayılması ve tükürük bezlerinde virus replikasyonu sonucunda, bu enfeksiyöz tükürük vektörün kan emmesi sırasında başka bir konağa aktarılmaktadır (11).

Arboviruslar, doğada yaygın olarak bulunan, çeşitli aile ve cinslere ait en az 550 virustan oluşan heterojen bir gruptur. Modern virolojide her ne kadar bu virüsler, ait oldukları virus familyalarının kapsamında ve birbirlerinden bağımsız olarak incelenmekte ise de, aralarındaki ortak epidemiyolojik ve işlevsel özelliklerin yanı sıra, neden oldukları insan hastalıklarının ortak klinik özellikleri, hala bu etkenlerin "Arbovirus grubu" başlığı altında benimsenmelerine neden olmaktadır. Çizelge 2.1'de insan hastalıklarıyla ilişkili bazı arboviruslar görülmektedir (13).

Çizelge 2.1. İnsan hastalıklarıyla ilişkili bazı arbovirusların taksonomik sınıflandırması (13).

Taksonomik sınıflandırma	Önemli Arboviruslar
<i>Togaviridae</i>	
Alphavirus	Chikungunya, Mayaro, O'Nyong-nyong, Ross Nehri, Semliki Ormanı, Sindbis, Venezuela, doğu ve batı beygir ensefaliti virusları
<i>Flaviviridae</i>	
Flavivirus	Brezilya ensefaliti (Rocio virusu), dengue, Ilheus, Japon B ensefaliti, Kyasanur Ormanı hastalığı, louping ill, Murray Vadisi ensefaliti, Omsk hemorajik humması, Powassan, St. Louis ensefaliti, kene kaynaklı ensefalit, Rus ilkbahar-yaz ensefaliti, Batı Nil humması, Sarı humma ve Zika virusları
<i>Bunyaviridae</i>	
Bunyavirus	Anofel A ve B, California ensefaliti, Bunyamwera, Guama, Simbu, La Crosse ve Turlock virusları
Phlebovirus	Tatarcık (Phlebotomus) humması, Rift Vadisi humması ve Turlock virusları
Nairovirus	Kırım-Kongo hemorajik humması, Nairobi koyun hastalığı ve Sakhalin virusları
<i>Reoviridae</i>	
Orbivirus	Afrika at hastalığı, Mavi dil virusu
Coltivirus	Colorado kene humması virusu
<i>Rhabdoviridae</i>	
Vesiculovirus	Hart Parkı, Kern Kanyonu ve vezikuler stomatit virusları

Arboviral enfeksiyonların büyük bir bölümü asemptomatiktir. Belirtili seyreden enfeksiyonlar ise, (a) döküntülü veya döküntüsüz, ateş ve genel sistemik belirtilerle seyreden iyi huylu hastalık, (b) yüksek mortalite riski taşıyan ensefalit ve (c) hemorajik hummalar olmak üzere, başlıca üç değişik hastalık tablosu şeklinde olmaktadır (13).

Hemorajik ateş etkeni viruslar *Flaviviridae*, *Filoviridae*, *Arenaviridae* ve *Bunyaviridae* ailelerinde bulunmaktadır. *Flaviviridae* ailesinde Sarı humma, Dengue, Kyasanur Ormanı hastalığı, Omsk hemorajik ateşi, Alkhurma hemorajik ateşi; *Filoviridae* ailesinde Marburg ve Ebola; *Arenaviridae* ailesinde Lassa, Junin, Machupo, Guanarito ve Sabia, *Bunyaviridae* ailesinde Kırım-Kongo hemorajik ateşi, Hantavirus, Rift Vadisi ateşi ve Garissa virus bulunmaktadır (14).

Viral hemorajik ateş patogenezinde virusun direkt sitopatik etkisinin, immün yanıt sonucu salınan sitokinlerin ve immün yanıtta azalmanın etkin olduğu belirtilmektedir (15). Virusun sitopatik etkisi özellikle filoviruslarda görülmektedir. Filoviruslar gezici ve sabit makrofajları ve dendritik hücreleri harap eder. Ayrıca

filoviruslar karaciğer ve adrenal korteksteki parankimal hücrelerde nekroza neden olur. DENV’unda ise minimal sitopatik etki görülmektedir (14).

Virus vücuda girdikten sonra salınan sitokinler patogenezde çok önemlidir. DHA’inde primer enfeksiyondan sonra gelişen antikorlarla sekonder enfeksiyonla vücuda giren virus antijeni birleşir ve çeşitli sitokinlerin salınımına neden olur. *In vitro* çalışmalarda Ebola virus ve Lassa viruslarının dendritik hücrenin yapısını bozduğu gösterilmiştir. Ebola virusla yapılan çalışmalarda lenfosit apoptozisi görülmüştür. Virusla enfekte makrofajlardan salınan nitrik oksid, tümör nekrozis faktör (TNF) α , TNF’ye bağlı apoptozis indükleyen ligand gibi proapoptotik mediyatörlerin lenfosit apoptozisine neden olabileceği düşünülmektedir. Hemorajik ateş etkeni viruslarla enfeksiyonda görülen ortak klinik tablo, kanamalar ve ateşle seyretmektedir (14).

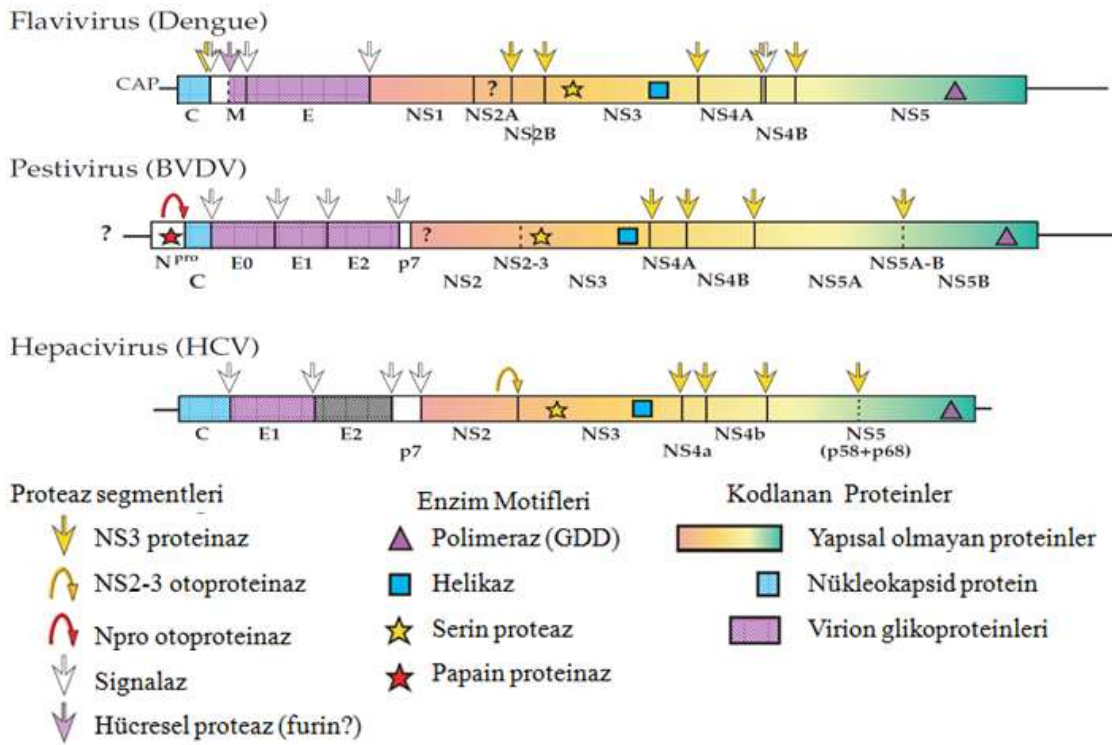
2.1.1. *Flaviviridae* Ailesi

Flaviviridae ismi bu ailenin prototip üyesi olan Sarı humma (Yellow Fever, YFV) virusunun adından gelmektedir. *Flavi*, latince sarı anlamına gelmektedir. *Flaviviridae* ailesinde *Flavivirus*, *Hepacivirus*, *Pestivirus* olmak üzere üç cins yer almaktadır. Bu üç cinsde ise; aşağıda verilen tablodaki viruslar yer almaktadır (Çizelge 2.2) (16).

Çizelge 2.2. *Flaviviridae* ailesinde yer alan viruslar (16).

Cins/tür	Kısaltılışı	Genel Konakları	Taşınması	Yaptığı Hastalıklar	Dünya Dağılımı
<i>Flavivirus</i>					
Dengue (Tip1-4)	DENV	İnsanlar	Sivrisinek ısırığı	DA, DHA, DSS	Dünya çapında
Sarı humma	YFV	Primatlar*	Sivrisinek ısırığı	Hemoraji, karaciğer bozukluğu	Afrika, Amerika
Japon ensefalit	JEV	Memeliler* özellikle domuzlar	Sivrisinek ısırığı	Ensefalit	Asya'da yaygın
St. Louis ensefaliti	SLEV	Memeliler*	Sivrisinek ısırığı	Ensefalit	Kuzey Amerika
Murray Vadisi ensefaliti	MVEV	Memeliler*	Sivrisinek ısırığı	Ensefalit	Avustralya
Kene kaynaklı ensefalit	TBEV	Memeliler*	Kene ısırığı	Ensefalit	Avrupa, Asya
Batı Nil	BNV	Memeliler*	Sivrisinek ısırığı	Ensefalit	Avrupa, Afrika, Kuzey Amerika
<i>Hepacivirus</i>					
Hepatit C	HCV	İnsanlar	Transfüzyon, parenteral	Hepatit, karaciğer kanseri	Dünya çapında
<i>Pestivirus</i>					
Klasik domuz ateşi	CSFV	Domuzlar	Temas	Ateş, akut gastroenterit	Avrupa Amerika
Bovine viral diyare	BVDV	Sığırlar	Temas	Genellikle yok**	Dünya çapında
* İnsanlar dahil					
**Uterus içinde enfekte olan danalarda, mukozal hastalığa sebep olan persistan enfeksiyon gelişmektedir.					

Bu üç genus büyüklük olarak birbirlerine benzemektedir (*Flavivirus* 11 kb, *Hepacivirus* 9.4 kb, *Pestivirus* 12.5 kb) (Şekil 2.1). Picornaviruslar gibi flaviviruslar da tek bir açık okuma çerçevesi (Open Reading Frame-ORF) bölgesi içerir. Bu ORF bölgesi 10 veya daha fazla polipeptid segment içeren uzun bir poliprotein tarafından transforme edilir. Segment, virus tarafından kodlanan bir, iki veya üç adet proteaz veya iki veya daha fazla hücrel proteaz tarafından oluşturulur. Picornavirusların aksine *Flaviviridae* ailesinin bütün üyeleri zarflıdır ve kapsid, premembran, zarf proteini olmak üzere üç yapısal proteinden oluşurlar. Hücrel proteazlar, poliproteinin yapısal olmayan kısmında olup glikoprotein segmentlerine ayrılmasını sağlarlar ve RNA replikasyonu için gerekli olmaktadır (16).



Şekil 2.1. *Flaviviridae* ailesinde üç genusun genom organizasyonları (16).

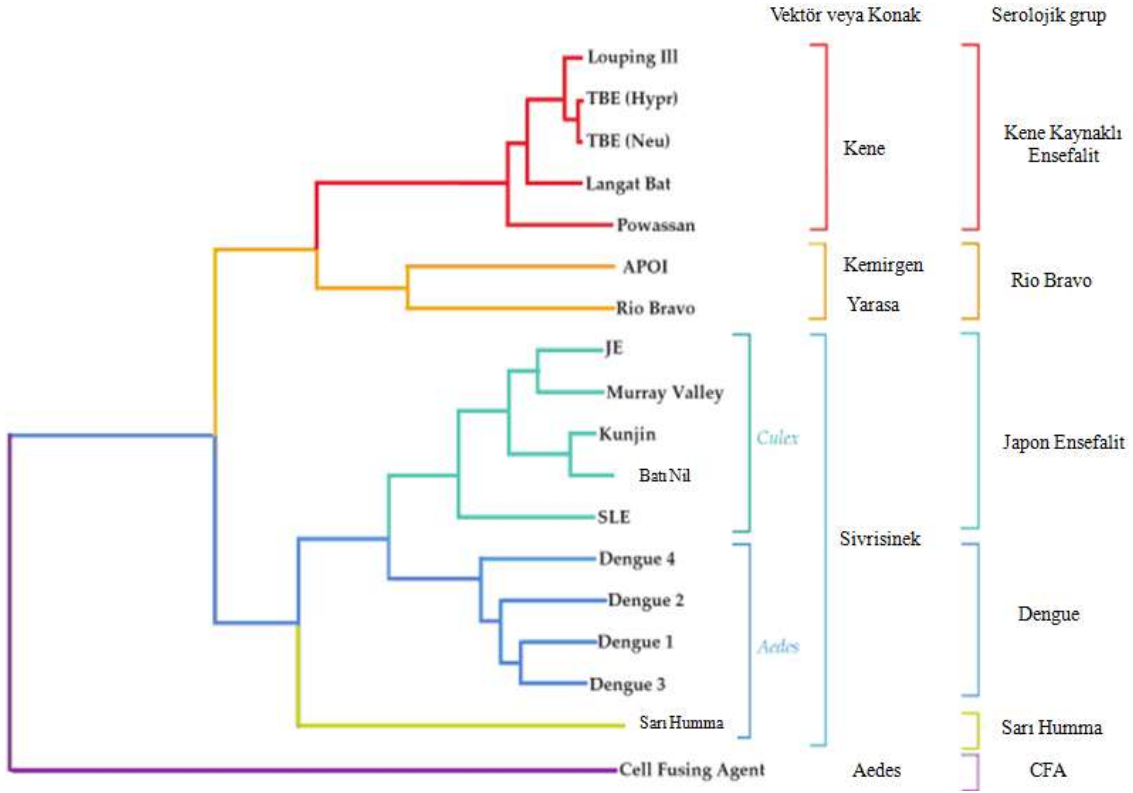
Flaviviridae ailesinin bütün üyeleri, katalitik üçlüden oluşan (serin, histidin ve aspartik asit) serin proteaz kodlarlar. Proteaz, genomun yapısal olmayan kısmında (NS3) bulunur. HCV ve DENV proteazlarının kristal yapısı çözülmüştür ve kimotripsine benzer bir kıvrıma sahiptirler. Enzimin aktivasyonu için ikinci bir

polipeptid bulunması ilginçtir ki bu flaviviruslarda; NS2B, HCV’unda ise NS4A’dır. HCV proteazının aktivasyonu için gerekli olan NS4A’nın proteazın katlanmış bir parçası olduğu açıktır. Bu nedenle, sürekli bir polipeptid zincir yerine 2 segmentli bir proteazın olması şaşırtıcıdır (16).

Flaviviruslar sadece NS3 proteazı kodlarken, hepacivirus ve pestiviruslar NS2 ve NS3 arasında ikinci bir proteaz kodlarlar. Pestiviruslar ayrıca üçüncü bir proteaz kodlarlar (N terminus) ki bunun fonksiyonu sadece prekürsör poliproteinden kendini ayırmaktır (16).

2.1.2. Flavivirus

Flavivirus genusu üyeleri ortalama 40-65 nm çapında, zarflı, pozitif sarmallı RNA viruslarıdır. Viral zarf tek bir glikoprotein ve lipidden oluşur (17). Bu genus içerisinde tanımlanmış yaklaşık 53 tür bulunmaktadır (Şekil 2.2) (16) ve bunların yarısından fazlası insanlarda enfeksiyona neden olur. İnsanda enfeksiyon etkeni flaviviruslardan en önemlileri; Sarı Humma Virusu, Japon Ensefalit Virusu, Kene Kaynaklı Ensefalit Virusu, Dengue Virusu’dur. Flavivirusların çoğunluğunu arboviruslar oluşturmaktadır ve bunlar genellikle sivrisinek veya keneler aracılığıyla bulaşılır (18).



Şekil 2.2. Flavivirusların NS3 polipeptin bölgesi temel alınarak “Neighbor-joining” yöntemi ile oluşturulmuş filogenetik ağaç (16).

Flavivirus genusunun bütün üyeleri birbirleriyle antijenik olarak yakından ilişkilidir ve bu durum serolojik testlerde çapraz reaksiyonlara neden olur. İşte bu antijenik ilişkilere dayanılarak flavivirus genusu alt gruplara ayrılmıştır. Flaviviruslar vektörlerine göre; sivrisinek kaynaklı, kene kaynaklı ve artropod kaynaklı olmayanlar gibi 3 ana gruba ayrılabilirler. Bu viruslar bir kene veya sivrisineğe adapte olmuş olup vektörlerin değişimi söz konusu değildir. Filogenetik olarak incelendiğinde, sivrisinek kaynaklı vektörlerin *Aedes* veya *Culex* cinslerine ait olduğu görülmektedir (16).

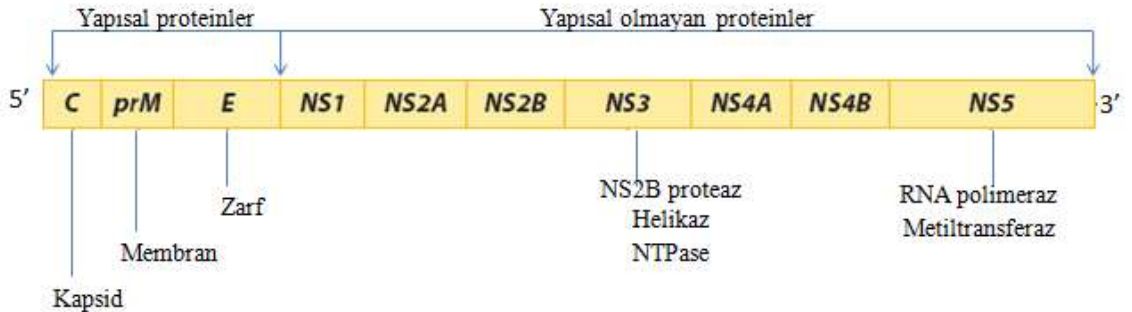
2.2. Dengue Virusu

2.2.1. Dengue Virusunun Genomik Yapısı Ve Replikasyonu

Dengue virusu, *Flaviviridae* ailesinde ve flavivirus cinsine ait bir virustur. Genom büyüklüğü yaklaşık 11 kb olan, büyük bir poliprotein olarak ifade edilen tek bir ORF bölgesi içeren, pozitif polariteli tek zincirli bir RNA virusudur. İkosahedral nükleokapsidi lipid bir zarf ile çevrilidir. Genom 3 yapısal (kapsid [C], membran [M] ve zarf [E]) ve 7 yapısal olmayan (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B ve NS5) protein kodlamaktadır. Genom organizasyonu sırasıyla 5'UTR-C-prM-E-NS1-NS2A-NS2B-NS3- NS4A-NS4B-NS5-3'UTR şeklindedir (Şekil 2.3) (19, 20).

Üremeleri enfekte hücrenin sitoplazmasındadır. Endoplazmik retikulumda bir araya gelerek olgunlaşan viruslar, hücreyi tomurcuklanmak suretiyle terk ederler (17).

Genom translasyona uğramayan uç bölgelerini (UTR) içermektedir ve bu kısım genomun replikasyonu ve translasyonun düzenlenmesine anahtar rol oynar. Poliprotein sentezi sitoplazmada, endoplazmik retikulumda meydana gelir. Membrana tutunan bölge endoplazmik retikulumun lümeninden çıkan prM, E ve NS1 yapısal proteinlerinden oluşan poliprotein topolojisini belirler ve burada virionun toparlanması ve olgunlaşması gerçekleşir (21).

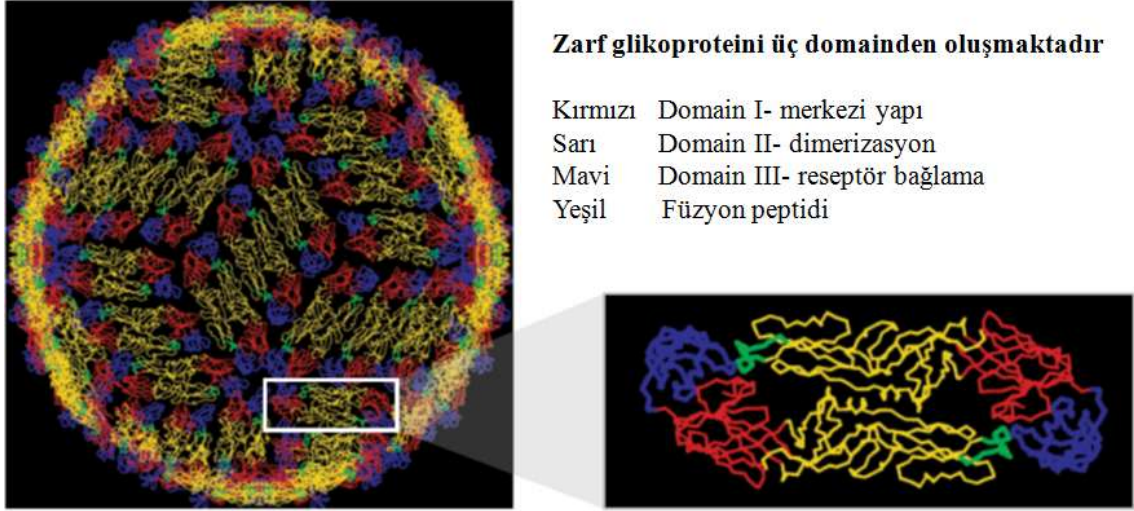


Şekil 2.3. Dengue virusunun genomik yapısı (21).

2.2.2. Virion Yapısı

Enfeksiyöz virion çapı yaklaşık 50 nm olup C, M ve E olmak üzere 3 tane yapısal protein ve RNA genomu içerir. Virusun yüzeyinde bulunan glikoprotein yapıdaki zarf 180 tane kopyanın kompakt bir şekilde düzenlenmesiyle oluşmuştur (Şekil 2.4). Kristallografik ve krio-elektron mikroskopik teknikleri sayesinde E glikoprotein yapısının ve onun virus yüzeyindeki organizasyonunun anlaşılması konusunda büyük ilerlemeler olmuştur. E proteininin moleküler şekli büyük ölçüde çevrenin pH'sına bağlıdır. Nispeten alkali pH'da E protein molekülleri dimerik bir şekilde düzenlenerek virusun yüzeyinde balıksırtı modeli gibi düz bir şekilde bir araya gelmişlerdir ve bu da virusa karakteristik pürüzsüz görünümünü vermektedir. Endozomal bölgedeki asidik pH'da ise E protein molekülleri kayarak yön değiştirir ve trimer şekil alır. Viral ve endozomal füzyon sırasında virus yüzeyinden çıkarak, viral genomun hücre sitoplazmasına salınmasını kolaylaştırır (21).

Sekretuar yolun hafif asidik bölümlerinde virus olgunlaşması sırasında, henüz olgunlaşmamış virus partikülleri üç prM-E heterodimerlerinden oluşmuş trimerik yüzey çıkıntıları ile kaplıdır. Her bir çıkıntının ucundaki üç prekürsör peptid, trans-Golgi ağında furin ile parçalanır, bu da trimeri dağıtarak E proteinlerinin tekrar dimerik forma dönüşmesine izin verir. Bu yatık konformasyon olgun partiküller için karakteristiktir. E proteininin yapısındaki doğal esneklik, virus olgunlaşması ve enfeksiyon sırasındaki konformasyonel değişiklikleri sağlar (21).



Şekil 2.4. E glikoprotein homodimerlerinin düz bir sırasını içeren olgun virus partikülünün dış yüzeyi. E glikoproteininin içinde belirlenen yapısal/fonksiyonel dimerler renklendirilmiş şema ile gösterilmiştir (21).

Virionun yapısal olmayan proteinleri ciddi hastalık oluşumundan sorumludur (19).

2.2.3. Dengue Virus Serotipleri

Glikoprotein E, DENV virionunun büyük yüzey proteinidir ve virusa karşı oluşan immünite, primer olarak glikoprotein E'ye karşı oluşan nötralizan antikorlar aracılığıyla olmaktadır. DENV'unun antijenik olarak birbiriyle ilişkili dört serotipi bulunmaktadır (DENV-1, DENV-2, DENV-3 ve DENV-4). Glikoprotein E'nin aminoasit dizisi dört DENV serotipininin her birini belirlemektedir. Her bir serotip içinde, glikoprotein E'nin aminoasit kalıntıları oldukça iyi korunmuştur ve en az %90-96 arasında benzerlik göstermektedirler. Ancak serotipler arasındaki E proteinlerinin aminoasit dizilim benzerliği %60-70 arasındadır. Bu nedenle immünolojik testler kullanarak dört serotipin ayırt edilmesi erken tanıyı desteklemektedir. DENV'u, diğer RNA virusları kadar hızlı bir değişim göstermemektedir ve bu durum muhtemelen virusun hem sinek hem de insan konağında etkili bir şekilde taşınmasını ve replike olması sırasında seleksiyonunu dengede tutmaktadır (21).

Dört serotipten herhangi biri ile primer enfeksiyon, bu serotipe karşı kalıcı immünite ile sonuçlanırken, diğer serotiplere karşı bir immünite sağlamamaktadır. Ayrıca birey DENV'unun farklı bir serotipiyle enfekte olduğu zaman şiddetli dengue enfeksiyonu geçirme olasılığı artar. Bu durum dört serotipin hepsiyle meydana gelebilir. Bu nedenle birden fazla serotip bulunan bölgelerde şiddetli dengue enfeksiyonu geçirme riski daha fazladır (22). Bütün serotipler salgınlara neden olabilmektedir. Ancak 2005 salgını boyunca DENV-2 dominant serotip olmuştur (23-26). Son veriler genotip çeşitliğinin salgın potansiyelini de etkilediğini göstermektedir (27).

2.3. Dengue Virus Enfeksiyonunun Patofizyolojisi

Dengue hemorajik ateşindeki ilk patofizyolojik olay vasküler permeabilite artışının meydana gelmesidir (19, 28) ve bu durum sonucunda ekstravasküler bölgeye plazma sızıntısı görülür ki bu da hemokonsantrasyona ve kan basıncının azalmasına neden olur. Vasküler permeabilitedeki artış periferik damar yatağındaki endotel boşluklarının sonucu oluşmaktadır. Nekrotik veya inflamatuvar lezyonlar görülmez ancak kısa süre etkili mediatörler tarafından fonksiyonel değişiklikler meydana gelmektedir (19).

DENV'unun neden olduğu DHA'nin mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir. Ancak T hücre aktivasyonu, sitokin/kemokin üretimi, hemostatik sistem bozukluğunun DHA'ne neden olduğu düşünülmektedir. Bunlar plazma sızıntısı ve dolaşım yetmezliğine sebep olan diğer sitokinlerin salınmasına sebep olur. Ayrıca, artmış apoptos ve endotel hücre disfonksiyonu için kanıt olmaktadır (19).

Sekonder enfeksiyon, primer enfeksiyondan çok daha şiddetli olmaktadır. Bu olayı açıklamak için çeşitli görüşler bulunmaktadır, bunlar antikor bağımlı olayları içermektedir (19).

Enfeksiyonun erken safhasında, DENV'unun hematopoetik progenitör hücrelerini ve stroma hücrelerini enfekte etmesi sonucu kemik iliği hücrelerinin azalması ile trombositopeni meydana gelir. Ateş yayıldıkça kemik iliği hücrelerinde azalma görülür ve trombositlerin immün aracılı yıkımının artması trombositopeni için primer mekanizma haline gelmektedir (19).

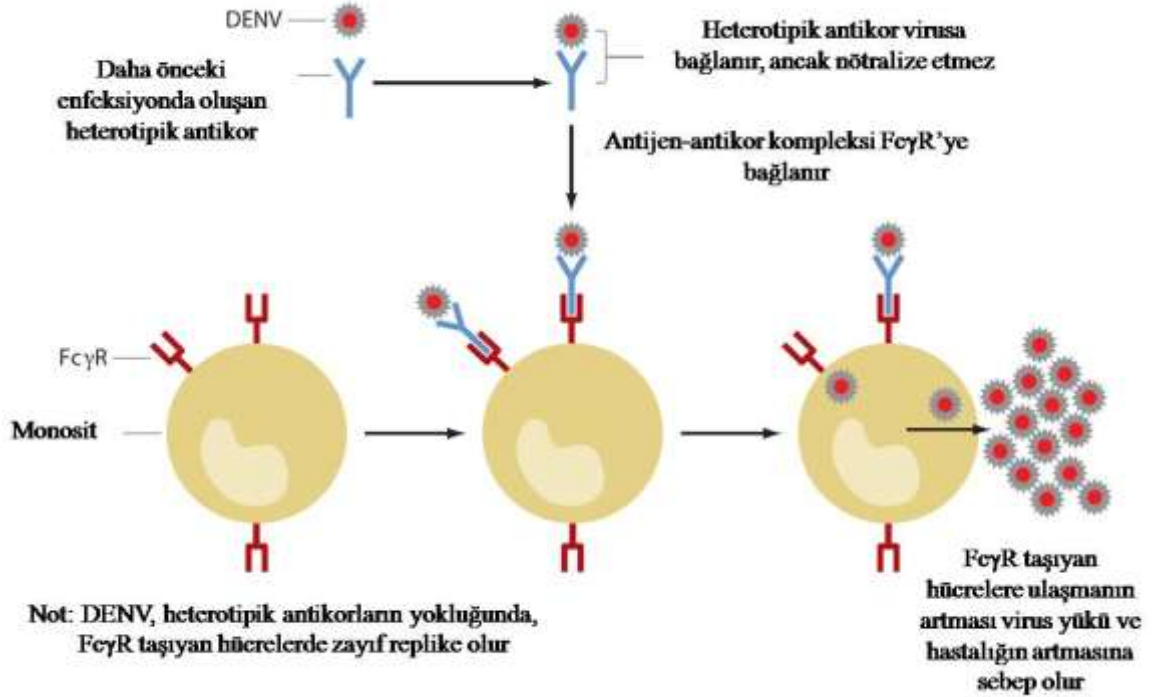
Nötralizan olmayan antikorlar, virusun makrofaja alınımını arttırır. Bu da hafıza T hücrelerini aktive eder, inflamatuvar sitokinler salınır ve aşırı duyarlılık reaksiyonları başlar. Bu reaksiyonlar ile birlikte virus damarların zayıflaması ve yırtılmasına neden olarak, iç kanama ve plazma kaybına yol açarlar (29).

2.3.1. Dengue Hemorajik Ateşi ve Dengue Şok Sendromunda Antikor-Bağımlı Artış (ABA)'ın Rolü

DHA/DSS'nun gelişmesinden sorumlu olan kazanılmış humoral yanıtın mekanizması beş hipotez ile açıklanabilir. Birincisi, DHA/DSS'nda DA'ne oranla kanda 10-100 kat daha fazla düzeyde virus bulunmaktadır. İkincisi, başka bir DENV serotipi ile sekonder enfeksiyon sonucu daha şiddetli hastalık (DHA/DSS) oluşması arasında güçlü bir ilişki vardır. Üçüncüsü, yenidoğan bebekler yaşamlarının özellikle ilk yılının ikinci yarısında anneden (maternal) alınan düşük nötralizan özelliğe sahip antikorların varlığıyla DHA/DSS geçirebilmektedirler. Dördüncüsü, DHA/DSS primer enfeksiyon sırasında da meydana gelebilmektedir ancak daha çok sekonder enfeksiyonda oluşmaktadır. Beşincisi, DENV antikorlarının naiv (saf) insan dışındaki primat konaklara pasif transferiyle DENV replikasyonu ve DENV hastalığının artışı *in vivo* olarak yapılabilir ve virus replikasyonunun artışı AG129 farelerinin pasif immünizasyonu sonucu görülür. Bu gözlemlerdeki ortak temel konu, virus replikasyonu arttıkça fare veya insanlarda şiddetli hastalıklara yol açacağıdır (21).

Başka bir virus serotipi ile (heterotipik) sekonder enfeksiyon ve geç bebeklik dönemindeki primer DENV enfeksiyonu sırasında oluşan yüksek düzeyde virus replikasyonu ve şiddetli hastalığın meydana gelmesi, doğrudan ABA'nın bir sonucudur. Sadece DENV'unun doğal virulan özelliğinin şiddetli enfeksiyona neden olmadığına dair güçlü kanıtlar vardır. Bu artmış virus replikasyonu, primer olarak E veya prM antijenlerine karşı gelişen daha önceden var olan nötralizan olmayan veya daha az nötralizan olan antikorlar aracılığı ile olmaktadır, bu antikorlar FcγR-taşıyan hücrelere bağlanarak virionların hücrelere girişini arttırmaktadır (Şekil 2.5). Bu hücreler, büyük olasılıkla antikorların yokluğunda yetersiz bir şekilde enfekte olmaktadır. Enfekte dendritik hücrelerin, monositlerin ve makrofajların artışı DHA/DSS'lu hastaların kanlarındaki virus titresinin artmasına katkıda bulunmaktadır. Artan virus

replikasyonunun sebep olduğu doku hasarı ve antikor/T hücre aracılı hasar, muhtemelen DHA/DSS'na neden olan patolojik olaylara katkıda bulunur (21).



Şekil 2.5. DENV replikasyonu ve hastalığının antikor-bağımlı artış (ABA) modeli. Virus replikasyonunun ABA'ı, konakta daha önceki DENV enfeksiyonunda oluşan heterotipik nötralizan olmayan antikorların daha sonraki heterotipik enfeksiyon sırasında virusa bağlanması ile meydana gelir, ancak bu antikorlar virusu nötralize edemezler. Ayrıca, yeni oluşan antikor-virus kompleksi FcγR reseptörlerine bağlanarak sirkülasyondaki monositlere ulaşma yeteneği kazanır. Böylece, antikor yokluğunda kolaylıkla enfekte olmayan FcγR taşıyan hücre tiplerinin enfeksiyonu kolaylaşır. Sonuç olarak da hastalığın ciddiyetinin artışı ile ilişkili olan, virus replikasyonu ve viremi seviyesi artar (21).

Ayrıca çocuklarda genetik eksiklik, doğuştan veya sonrada kazanılan immün mediatörlerin virus replikasyonunun kontrolündeki etkisinde azalmaya ve primer enfeksiyon süresince DA'nin DHA/DSS'na dönüşmesine ve virus replikasyon düzeyinde artışa neden olabilir. Açıkcası DENV-1 ve DENV-3 ile primer enfeksiyon DHA'ne neden olabilir. Birçok konak faktörünün bu kategoriye girebileceği belirlenmiştir. Bazı faktörler sekonder enfeksiyon boyunca hastalığı daha şiddetli yapabilir (21).

2.3.2. Dengue virus enfeksiyonunun patogeneğinde otoantikorların rolü

DENV'unun NS1 antijenine karşı gelişen antikorlar, insan trombositleri ve endotel hücreleri ile çapraz reaksiyon göstermektedir. E antijenine karşı gelişen antikorlar ise, insan plazminojeni ile çapraz reaksiyon göstermektedir. Bu antikorların, DA/DHA/DSS hastalık belirtilerinin ortaya çıkmasına katkıda bulunduğu belirtilmektedir (21).

2.4. Dengue Virus enfeksiyonunun tarihçesi

Dengue ateşinin insanlık tarihi kadar eski olduğu düşünülmektedir. İlk potansiyel dengue kayıtları milattan sonra 265-420 yılları arasında Jin Dynasty'de bir Çin tıp ansiklopedisinde bulunmuştur. Yazıda epidemiyolojik bir anlayışla hastalık, uçan böcekler ile taşınan 'zehirli su' olarak tanımlanmıştır. Yaklaşık iki bin yıl sonra, klasik DA ile ilgili ilk salgınlar 1635-1699 yılları arasında Karayip'lerde ortaya çıkmıştır. Uzun zaman sonra 1779-1780 yılları arasında Asya, Afrika ve Kuzey Amerika'da da eş zamanlı salgınlar olduğu bildirilmiştir. Bu bildirimlerde yayılımın vektörler aracılığıyla olduğunun kuvvetle düşünüldüğü ifade edilmiştir. Benjamin Rush 1789 yılında ilk kesin olguyu bildirmiş ve hastalığa 'kırık kemik ateşi' (breakbone fever) adını vermiştir. O zamandan beri her 20-40 yılda bir büyük salgınlar dünya çapında tanımlanmıştır. 1946 ve 1963 yılları arasındaki epidemik DENV enfeksiyonunun görülmeme nedeni olarak o yıllarda sarı hummayı önlemek amacıyla *A. aegypti* eradikasyon çalışmaları gösterilmektedir (19, 22, 30).

Özellikle İkinci Dünya Savaşı sırasında meydana gelen ekolojik ve demografik değişiklikler nedeniyle Asya-Pasifik bölgesinde sivil ve askerlerin artan hareketliliği ve endemik bölgelere çok sayıda duyarlı bireyin yerleşmesi ile DENV'unun yayılımı ve taşınması kolaylaşmıştır (30). Bölgeler arası taşımacılık, ekonomik büyüme ve sürekli kentleşme hareketi, yetişkin vektörlerin üremesini, taşınmasını virusların yayılmasını kolaylaştırmıştır (30, 31). Sonuç olarak, 2002 yılında *A. aegypti* coğrafi dağılımı, eradikasyon programı öncesi durumundan çok daha geniş olmuştur ve dengue yeniden

ortaya çıkararak dengue enfeksiyonlarında daha belirgin bir artış meydana gelmiştir (22, 30).

2.5. DENV enfeksiyonunun epidemiyolojisi

19. yüzyıl boyunca DENV enfeksiyonu, uzun aralıklarla epidemilere neden olan, tek bir serotiple meydana gelen sporadik bir enfeksiyon olarak düşünülmüştür. Fakat dramatik değişiklikler sonucu ve serotip için duyarlı konaklar ve vektörler yeterli sayıya ulaştıktan sonra dengue günümüzde sivrisinek kaynaklı viral enfeksiyonların en önemlisi haline gelmiştir (9, 19). Son 50 yıl içinde insidansı 30 kat artmıştır ve günümüzde 112 ülkede endemik olarak görülmektedir (9).

Tropikal ve subtropikal bölgelerde yaşayan yaklaşık 2,5-3 milyar kişinin risk altında olduğu düşünülmektedir (9). Tahminlere göre yıllık 100 milyon DA vakası görülmektedir ve Asya ülkelerinde meydana gelen yarım milyon DHA vakasının yaklaşık %0,5-3,5 oranında ölümcül olduğu tahmin edilmektedir (9, 20). Bu DHA vakalarının %90'ı ise, 15 yaşından küçük çocuklardır (9).

İlk DHA salgını Güneydoğu Asya'da 1954'te Filipinler'de, Manila'da, meydana gelmiştir (30). Bunun ardından salgın bu bölgenin hemen hemen bütün ülkelerinde meydana gelmiştir ve şu an burada 7 ülkede önemli halk sağlığı problemi haline gelmiştir. 1980'de DHA'nin insidansı 30 yıl öncesinden neredeyse 5 kat daha fazla artmıştır. Endonezya'da yapılan araştırmalarda 1980'lerin sonlarına kadar yaygın serotipin DENV-1 ve DENV-2 olduğu görülürken son salgınlarda baskın serotipin DENV-3 olduğu görülmüştür. DENV-3 serotipinin daha şiddetli salgınlarla ilişkili olması DENV-3 serotipinin daha virulan olduğunu düşündürmektedir. DENV-4 hemen hemen bütün salgınlarda izole edilmesine rağmen daha çok sekonder dengue enfeksiyonlarından sorumludur (9).

Dengue hemorajik ateşi Güneydoğu Asya'da çocukların hastaneye yatırılış nedenleri arasında önde gelmektedir (300-440 vaka/100.000 popülasyon). Bu oran günümüzde Tayland'da, Vietnam'da (1997'de 95-103 vaka/100.000 popülasyon) (32) düşmüş olsa da hala çok yüksek oranlar meydana gelmektedir (33). Güneydoğu Asya'da ölüm oranı düşmesine rağmen, şimdilerde %1'den daha azdır. Bazı ülkelerde

bu oran hala %4'ü aşmaktadır bunun nedeni hastalık ilerledikten sonra yani geç başvurudan kaynaklanmaktadır. Singapur ve Malezya gibi yeni sanayileşmiş ülkelerde başarılı vektör kontrol programları dengue insidansında kademeli bir düşüşe neden olsa da 1994 yılından bu yana burada da bir canlanma görülmüştür (9).

Küçük DHA salgınları Güney Asya'da 1964-1966 yıllarında meydana gelse de ilk büyük DHA salgını 1989'da Sri Lanka'da meydana gelmiştir (9). O zamandan bu yana vaka sayısı her yıl artarak düzenli salgınlar meydana gelmiştir. DENV-3 alt tip III, ilk hastalık nedeni olarak belirlenmiş olup, daha sonrasında Sri Lanka'da DENV-2 serotipi ile ilgili epidemiler bildirilmiştir (23, 34). Hindistan'da dengue ilk kez 1991'de rapor edilmiştir (6291 DA vakası) ve ilk DHA salgını 1996'da Delhi'de meydana gelmiştir (35). Güney Asya'daki epidemiyolojik DHA modeli şimdilerde Güneydoğu Asya bölgesine benzemektedir. Henüz Nepal ve Butan'dan DHA vakası bildirilmemiş olup bu iki ülkenin endemik olduğu konusunda kesin bulguların bulunmadığı bildirilmektedir (9).

Uzak Doğu'daki DA/DHA Güneydoğu Asya ve Güney Asya ile kıyaslandığında daha az şiddetli olduğu görülmektedir. Çin en çok etkilenen ülke olmuştur ve 1978'de ilk DA salgını meydana gelmiştir, bunu 1985-1986 yılları arasında Hainan Adası'ndaki DHA salgını izlemiştir (DENV-2). Ölüm oranı %0,25'dir ve bu diğer bölgelerle kıyaslandığında düşük bir orandır. Çoğu dengue vakası hala Avustralya, Fiji ve Yeni Kaledonya gibi ülkelerden rapor edilmektedir. En büyük salgın 1998'de Fiji'de meydana gelmiştir (24.780 vaka) (9). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne 2003'ten bu yana Çin ile ilgili rapor gönderilmediği için şu an ülkedeki gerçek durumun belirlenmesinin mümkün olmadığı belirtilmektedir (30). Yine günümüzde Japonya'da DA/DHA epidemilerinin olmadığı, ancak daha önce sadece ikinci Dünya Savaşı'ndan önce rapor edildiği belirtilmiştir (9).

Küba'da ilk dengue ateşi salgını 1977-1978 yılları arasında DENV-1 serotipi ile meydana gelmiştir ve ilk DHA salgını ise 1981'de görülmüştür. Amerika'da meydana gelen bu ilk DHA salgını DENV-2 serotipi tarafından meydana gelmiştir ve bu vakaların %98-99'u sekonder enfeksiyon olarak belirlenmiştir (19, 36). Bu salgınlardan sonra Küba'da sarı hummayı önlemek için başlatılan etkili vektör kontrol çalışmaları sonucu dengue viral aktivitesi 15 yıl (1982-1996) boyunca kontrol altına alınmıştır (19, 36, 37).

1989'da Venezuela DHA salgını meydana gelmiştir (9) ve daha sonra 1997 yılında (8 yıl aradan sonra) Küba'da meydana gelmiştir ve her iki salgına da DENV-2 serotipi neden olmuştur. İlginç olan yanı ise, 1997 DHA salgınında çocukların olmayışıdır. Viral taşınma 15 yıl süresince kesintiye uğradığı için, çocuklar bu dönemde sadece primer enfeksiyona yakalanmış olabileceğinden dolayı, daha sonra gelişen DHA olgularında sekonder DENV enfeksiyonlarının önemi vurgulanmıştır (36).

Son 20 yılda Amerika'da DA'nin insidansı önemli ölçüde artmıştır bunun nedeni vektör kontrol çalışmalarının etkisinin azalması ve *A. aegypti*'nin geniş bir coğrafik alana yayılmasıdır. 2002 yılında, 30'dan fazla Latin Amerika ülkesinde 1 milyondan fazla DA vakası bildirilmiştir. 20 ülkede DHA, 17000'den fazla vaka ve bunların 225'i ölüm vakası olmak üzere meydana gelmiştir (37). Günümüzdeki epidemiyolojik durum, her 3-4 yılda bir Asya'da görülen DHA epidemilerine benzemekte olup, her bir epidemide görülen olgu sayısı giderek artmaktadır (9). İlginç bir şekilde, DENV yönünden hiper endemik bir bölge olmasına rağmen Haiti'de DHA görülmemektedir. Afrikada'ki durumu anımsatan bu gözlemler siyah popülasyonlarda DENV'na karşı direnç olduğunu düşündürmektedir (38).

Afrika'da sağlık çalışanlarının bilinçsizliği, diğer ateşli hastalıkların oldukça yaygın olması ve tanısal testlerdeki yetersizlikler sebebiyle dengue, çok fazla bilinmemektedir veya göz ardı edilmektedir. Ayrıca diğer filaviviral enfeksiyonlar ile çarpaz korumanın sağlanması, bazı konak genetik faktörlerinin hastalığın gelişmesine karşı koruması ve vektörlerin virüsü taşıma etkinliğinin düşük olması sebebiyle daha düşük sayıda olgunun bildirildiği açıklanmaktadır (39). Ancak Güneydoğu Asya ve Amerika ile kıyaslandığında hala çok az olmasına rağmen 1980 yılından bu yana epidemiyolojik gözetim olmaksızın Afrika'nın farklı ülkelerinden gelen raporlar (Sejšel Adaları, Kenya, Mozambik, Sudan, Cibuti, Somali, Komor Adaları, Nijerya, Senegal, Burkina Faso) dengue salgınlarında artışın olduğunu göstermektedir (30).

Avrupa'da DA, seyahatten dönenlerde gelişen ateşin en yaygın sebebidir (40). Avrupa'daki seyahatle taşınan enfeksiyöz hastalıklar surveyans verilerine göre, Avrupalı hastaların yaklaşık %12'sinde seyahat sonrası hastalığın geliştiği bildirilmektedir ve dengue olgu sayısının 1999'da 64, 2002 yılında ise 224 olduğu belirtilmektedir. 2008'de 116 vaka rapor edilmiştir ve bunların çoğu Avrupa yolcularıdır, %43'ü Güneydoğu Asya'dan, %14'ü Latin Amerika'dan, %12'si Hint

yarımadasından, %11'i Karayip'lerden ve %4'ü Afrika'dan Avrupa'ya yolculuk eden yolculardır (30).

Avrupa ülkelerinde homojen *A. albopictus* populasyonları belirlenmiş olup, Avrupa'daki virusun yayılımından sorumlu tutulmuştur (30, 41).

Sporadik dengue ateşi 200 yıldan fazladır bilinmesine rağmen; DA ve DHA'nin neden yeniden canlandığı net değildir (9). Ancak plansız şehirleşme, kontrolsüz nüfus artışı, insanların endemik bölgelere hareketi (göç) ve sivrisineklerin kontrol eksikliği gibi nedenlerin virusun yayılımını arttırdığı düşünülmektedir. İklim değişikliği de dengue'nin küresel yayılımına katkıda bulunan bir faktör olabilmektedir (9, 15, 18, 21).

2.6. Dengue enfeksiyonunda klinik belirtiler

Dengue enfeksiyonları asemptomatik olabileceği gibi (9, 18), DSÖ'nün tanımlamalarına göre DENV; DA, DHA ve DSS'na neden olabilmektedir (9, 21).

2.6.1. Dengue Ateşi

Endemik bölgelerde yaşayan okul çağındaki çocukların yaklaşık olarak %6-8'i DENV enfeksiyonu geçirmektedir ancak bunların sadece %5-50'si semptomatik olmaktadır. Semptomatik DA enfeksiyonlarının inkübasyon periyodu 3-14 gün arasında değişir ancak genellikle 4-7 gündür (21). DA hem primer hem de sekonder enfeksiyon esnasında meydana gelebilir (9). Ani yüksek ateşle başlar, şiddetli baş ağrısı (özellikle retro-orbital alanda), artralji, miyalji, anoreksi, abdominal ağrı, mide bulantısı gözlenir ve bazen makülopapüler döküntüler de gelişebilmektedir (9, 15, 18, 21). Ateş bifazik olabilir ve 2-7 gün içinde sona erme eğilimindedir. Yüz kızarması, karakteristik bir özellik olup, genellikle yüz, boyun ve göğüste görülmektedir. Koriza/grip benzeri semptomlar özellikle bebeklerde göze çarpan bir belirtidir (9, 22). Küçük çocuklarda koriza ile başlama eğilimindedir, ishal, döküntü, nöbet ve daha az sıklıkla kusma, baş ağrısı ve karın ağrısı karakterizedir. DA'nde hemorajik belirtiler nadir olmasına rağmen, peteşi/pupura, gastrointestinal kanama, burun kanaması, dişeti kanaması bazı kişilerde

gözlenmiştir. Pozitif turnike testi, birçok dengue ateşli bireyde kapiller kırılma nedeniyle rapor edilmiştir (9).

Dengue ateşinde iyileşme genellikle sorunsuzdur ancak özellikle yetişkinlerde bu süre uzayabilmektedir (9). Küçük çocuklar, daha büyük yaştaki çocuklar ve yetişkinlerle kıyaslandığında DA'ni daha hafif atlattıkları görülmüştür (21, 31). Enfeksiyon nadiren ölümcül olabilmektedir (31).

2.6.2. Dengue hemorajik ateşi

Dengue hemorajik ateşi genellikle sekonder enfeksiyonları takiben ortaya çıkar ancak, özellikle bebeklerde nadiren de olsa primer enfeksiyonlarda ortaya çıkabilmektedir. Buna maternal (anneden alınmış) olarak alınmış dengue antikollarının neden olduğu tahmin edilmektedir. Böyle bir fenomen dengue dışında hiçbir insan enfeksiyonunda tanımlanmamıştır (42). Ayrıca DHA, DENV'nun dört serotipinin de bulunduğu bölgelerde öncelikle 15 yaşından küçük çocukların hastalığıdır (21, 31). DHA yüksek ateş, kanamalı olaylar ve dolaşım yetmezliği ile karakterizedir (9).

DSÖ, DHA'ni aşağıdaki gibi tanımlamaktadır;

1. Akut ani başlayan ve 2-7 gün süren yüksek ateş
2. En az bir tane pozitif turnike testi ile hemorajik kanama
3. Trombosit sayısı $<100 \times 10^9/L$
4. Hemokonsantrasyonun veya diğer plazma sızıntılarının örneğin, asit, plevral efüzyonlar, serum protein/albumin düzeyinin düşük olması.

Dengue hemorajik ateşini tanımlamak amacıyla DHA üç faza ayrılmıştır, bunlar; ateşli, sızıntılı ve iyileşme evreleridir. Ancak şiddetli DHA dört dereceye ayrılmıştır;

1. Derece: Şok yok sadece pozitif turnike testi (kapiller kırılma testi olarak da adlandırılmaktadır).
2. Derece: Şok yok; pozitif turnike testinin dışında spontan kanama.
3. Derece: Şok, hızla gelişen dolaşım yetmezliği, zayıflamış nabız ve hipotansiyon, soğuk-nemli deri ve huzursuzluk hali.
4. Derece: Ölçülemeyen kan basıncı/nabız ile birlikte derin şok.

Ateşli faz aniden başlar ve ateşe, yüz kızarıklığı ve hayati semptomlar eşlik eder. Yüksek ateşte aralıklı olarak titremeler görülür. Epigastrik rahatsızlık, artralji, miyalji, kusma, şiddetli baş (özellikle retro-orbital) ve abdominal ağrı hastalarda oldukça yaygın görülür. Boğaz ağrısı ve ateşli kasılmalar, özellikle küçük çocuklar arasında görülebilir. Karaciğer büyümesi hemen hemen bütün hastalarda gözlenirken dalağın büyümesi bazı hastalarda görülür. Makülopapüler döküntü yine benzer şekilde çoğu hastada görülür. Ateş 2-7 gün sürer ve bunu normal veya normalin altında ateş takip eder. Bu noktada hasta iyileşir veya plazma sızıntılı faza geçer. Vücut sıcaklığı düşse de bu bireyler hasta olarak kalırlar, muhtemelen de DHA gelişir. Kötü klinik gidişat genellikle ateşin düştüğü 3 ve 4. günler arasında meydana gelir (9, 18).

Taşikardi ve hipotansiyon plazma sızıntısının başlangıcında gelişir. Plazma sızıntısı şiddetli hastalarda dolaşım bozukluğu, kapillerin yeniden dolun zamanında uzama, zayıf nabız ve şok gelişebilir. Bu tür hastalarda yetersiz tedavi genellikle derin bir şoka neden olur. Plazma sızıntılı faz süresince (DHA'nin başlamasından sonraki ilk 24-48 saat) plevral efüzyon ve asit yaygın olarak görülür. Plevral efüzyonlar genellikle sağ tarafta görülür; küçük efüzyonu tespit etmek için en iyi akciğer grafisi sağ dekübitus tarafından çekilir. Asit veya kalınlaşmış safra kesesi duvarı, abdominal ultrason taramaları ile gösterilebilir. Perikardiyal efüzyon da nadir olarak meydana gelebilir ve bu durum yüksek morbidite ve mortalite nedenidir (9).

Dengue hemorajik ateşinde, kanamaların en yaygın görüldüğü alan, gastrointestinal kanal olup, hematemez veya melena şeklinde görülmektedir. Kanama herhangi bir bölgede meydana gelebilir. Bunlar burun-diş eti kanamaları, peteşi, ekimoz gibi minör kanamalar şeklinde veya vaginal kanama ve menoraji şeklinde de görülebilmektedir. Vaginal kanama kadınlar arasında yaygın olarak görülür. Kanama genellikle ateşin sabitlendiği zaman ortaya çıkar (9, 21, 22).

Dengue hemorajik ateşinde iyileşme dönemi kısa ve olaysızdır. Yeme isteğinin yeniden oluşması şokun iyileştiğinin iyi bir belirtisidir. Bradikardi de bu periyotta görülür. Eritemli yaygın döküntüler ve soluk alanların (genellikle iyileşme döküntüleri olarak bilinmektedir) varlığı, dengue enfeksiyonunun özelliğidir. İyileşme döneminde birçok hastada özellikle avuç içleri ve ayak tabanlarında şiddetli kaşıntı görülmektedir (9). Ayrıca uygun bakımla DHA'ndeki ölüm oranı %1'den aza indirgenebilir (22).

Dengue hemorajik ateşinin komplikasyonları; anoreksi, ensefalit, karaciğer yetmezliği, miyokardit, büyük kanamaya yol açan dissemine intravasküler koagülasyondur (9).

2.6.3. Dengue şok sendromu

Dengue şok sendromu, DHA'nin çok daha şiddetli bir formu olup spontan kanamalar, şiddetli plazma sızıntısı, ateş, trombositopeni, soğuk kabartılı cilt, ağız çevresinde morarma ve dolaşım yetmezliği ile karakterizedir. Dolaşım yetmezliğinde üç belirtinin mevcut olması gerekir. Bunlar; hızlı ve zayıf nabız, düşük nabız basıncı ya da hastanın yaşına göre hipotansiyon ile soğuk, nemli deri ve mental durumda değişikliktir (9). DSS yüksek oranda mortalite ile ilişkilidir (yaklaşık %9,3 derin şok durumlarında %47'ye kadar çıkabilir) (9) ve çocuklarda yetişkinlere oranla daha fazla görülmektedir (31). Şokun önlenmesindeki erken işaretler, akut abdominal ağrı ve devamlı kusmadır. Ani hipotansiyon derin şokun başlangıcı olabilir. Uzun süre devam eden şok, sıklıkla metabolik asidoz ile birlikte görülür, bu da dissemine intravasküler koagülasyona sebep olabilmektedir. Bu durum daha sonrasında şiddetli kanamaların gelişmesine de sebep olabilmektedir. DSS'na metabolik ya da elektrolit dengesizlikleri nedeniyle ensefalopati de eşlik edebilmektedir (9).

2.7. Laboratuvar bulguları

Dengue ateş vakalarının çoğunda, trombosit sayımı ve serum biyokimyası normaldir. Ancak, lökopeni, trombositopeni ve yüksek karaciğer enzimleri görülebilir. DHA'nde ise tam tersi trombosit sayısı genellikle $<100 \times 10^4/L$, lökopeni ve yüksek karaciğer enzimleri vardır. Alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) enzimlerinin her ikisinin de seviyelerinde yükselme meydana gelir. AST seviyesi DHA'li çocuklarda DA'li çocuklara oranla daha yüksektir (9).

Dengue hemorajik ateşi başlangıcında lökopeni ($5 \times 10^9/L$) meydana geldiği tahmin edilmektedir (9). Başlangıç lökopenisindeki ateşli fazın sonuna kadar ilgili

lenfositoz (%15'ten fazla atipik lenfositler) takip edilmelidir. Anormal pıhtılaşma profilleri, hipoalbuminemi ve düşük serum kompleman düzeyleri de görülmektedir. Bu koagülasyon anormallikleri, akut enfeksiyon sırasında, koagülasyon ve fibrinolizisin her ikisinin de aktive olduğunu göstermektedir ve aktivasyonun derecesi ciddi DHA ve DSS'nda daha büyük olmaktadır (43).

Uzun süreli şok sırasında metabolik asidoz, hiponatremi ve kanda üre artışı sık görülmektedir. Plazma lipid konsantrasyonları (kolesterol, yüksek ve düşük yoğunluklu lipoprotein) şiddetli DHA formlarında özellikle derece 3 ve 4'te hafif DHA ile kıyaslandığında oldukça düşüktür (44).

2.8. Bulaşma Yolları

2.8.1. Vektör dışı bulaşma yolları

2.8.1.1. Vertikal bulaşma

Hamile kadınlar, diğer birçok enfeksiyon gibi dengue enfeksiyonunu da geçirebilmektedirler ve vertikal bulaşmayı önlemek için dikkat etmeleri gerekmektedir. DENV'unun nasıl konjenital enfeksiyona neden olduğu ve fetüse geçtiği henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Çünkü hamileliğin erken dönemlerinde vertikal bulaşmayı kanıtlayan bulgular bulunmamaktadır (45). Ancak geç dönem hamileliklerde vertikal bulaşmayı doğrulayan bulgular mevcuttur (31, 45). DENV'u yaklaşık 40-60 nm boyutlarında, küçük bir RNA virusudur ve bu durum vertikal bulaşmayı sağlayabilmektedir. Ancak; dengue gebeliğin geç dönemlerinde vertikal bulaşma neden olurken gebeliğin erken dönemlerinde plasenta mevcut olmasına rağmen neden bulaşma sebep olmadığı tartışmalıdır. Bu durum belki de fetüsün immün sisteminin tam gelişmemesinden kaynaklanmaktadır. Konjenital dengue enfeksiyonlu yenidoğan bebeğe annesinden antikorlar geçebilmekte ve bunun sonucunda da olası otoimmün mekanizmalar yoluyla trombositopeni görülmektedir (45).

Dengue, Tayland'da 50 yıldır endemik olmasına rağmen sadece altı tane vertikal bulaş rapor edilmiştir ve 1989'dan buyana İngiliz ve Fransız tıp literatürlerinde kayıtlı

dünya çapında sadece 15 rapor bulunmaktadır. Bu durumun vertikal bulaşmanın nadir görülmesinden ya da tam olarak tanımlanamamasından kaynaklandığı düşünülmektedir (46).

2.8.1.2. Transfüzyonla bulaşma

Dengue bir kan patojeni olarak tanımlandığından bu yana dengue viremisi giderek daha iyi anlaşılmıştır. Eğer dengue viremili bir donör kanını bağışlarsa, kontamine kan alıcılarında enfeksiyon gelişebilmektedir. DENV'unun transfüzyonla ilişkili bulaş hakkında birçok rapor bulunmaktadır (47, 48).

Son dönemlerde Hong Kong'da yapılan bir çalışmaya göre DENV'unun bu şekildeki bulaşma prevalansı 1/126 olarak bulunmuştur (49). Bu istatistiksel oran önemlidir. Çünkü dengue ile enfekte donörlerin donasyonü etkili kontrol çalışmalarıyla engellenebilmektedir. Dengue ile enfekte kişilerde genellikle yüksek ateş olduğundan standart donör tarama testleriyle kolaylıkla tanımlanabilir (50, 51).

Ancak asemptomatik ve pre-septomatik durumlarda bulaşma önemlidir ve araştırılması gerekir (51, 50). Asemptomatik ve pre-septomatik durumlardan basit tarama testleriyle virus kolaylıkla kaçırılabilir. Endonezya'da örneklerin gruplanarak kullanıldığı çalışma sonucunda; 785 olgudan sekizinde asemptomatik dengue olgularına rastlandığı ve dokuz tane de semptomatik enfeksiyon belirlendiği bildirilmiştir (50). Meksika'da Rodríguez ve ark. (51)'nin yaptığı bir çalışmada kan donörlerinde yine benzer oranda yüksek dengue virusu bulunmuştur (16/800). Kolombiya'da endemik bölgede yapılan çalışma sonucunda çalışılan popülasyonun %6,7'sinde virus izole edilebilmiştir ve ilginç olan bunların çoğunun asemptomatik olmasıdır (52). Bu çalışmalar asemptomatik dengue vakalarında transfüzyonla bulaşmayı doğrulamaktadır. Endemik bölgelerde şu an için kan donörlerinin dengue açısından taranması için rutin bir uygulama bulunmamaktadır, ancak Mohammed ve ark. (53)'nin, Porto-Riko'da yaptığı çalışma, kan donörlerinin yüksek oranda dengue ile enfekte olduğunu göstermekte ve rutin bir taramaya ihtiyaç olduğunu vurgulamaktadır.

2.8.1.3. Transplantasyonla bulaşma

Organ transplantasyonu son zamanlarda birçok ciddi hastalık için bir umut olmuştur. Kan transfüzyonuna benzer şekilde bazı patojenler organ transplantasyonu yoluyla da bulaşabilmektedir. DENV'unun transplantasyonla ilişkili bulaşması daha önceden doğrulanmıştır (54). DENV'unun böbrek ve kemik iliği transplantasyonu ile ilgili bildirimler mevcuttur (54, 55). Organ transplantasyonunda, bir çok enfeksiyon için tarama testleri yapılmasına rağmen, dengue için böyle bir tarama testi bulunmamaktadır. DENV'unun birçok organda izole edilerek tespit edildiği ve doğrulandığı çok sayıda ölümcül olgu bulunmaktadır. Ancak DENV'unun asemptomatik veya pre-semptomatik olgularda bu organlara yerleşip yerleşmediği henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Viremik fazda olan dengue ile enfekte donörlerin transplantasyonu, bulaşma çok yaygın değildir. Bu tür bulaşta çok yaygın olmadığı için sadece birkaç çalışma bulunmaktadır. İyi bir donör tarama sistemiyle transplantasyona bağlı dengue bulaşması engellenebilmektedir (45).

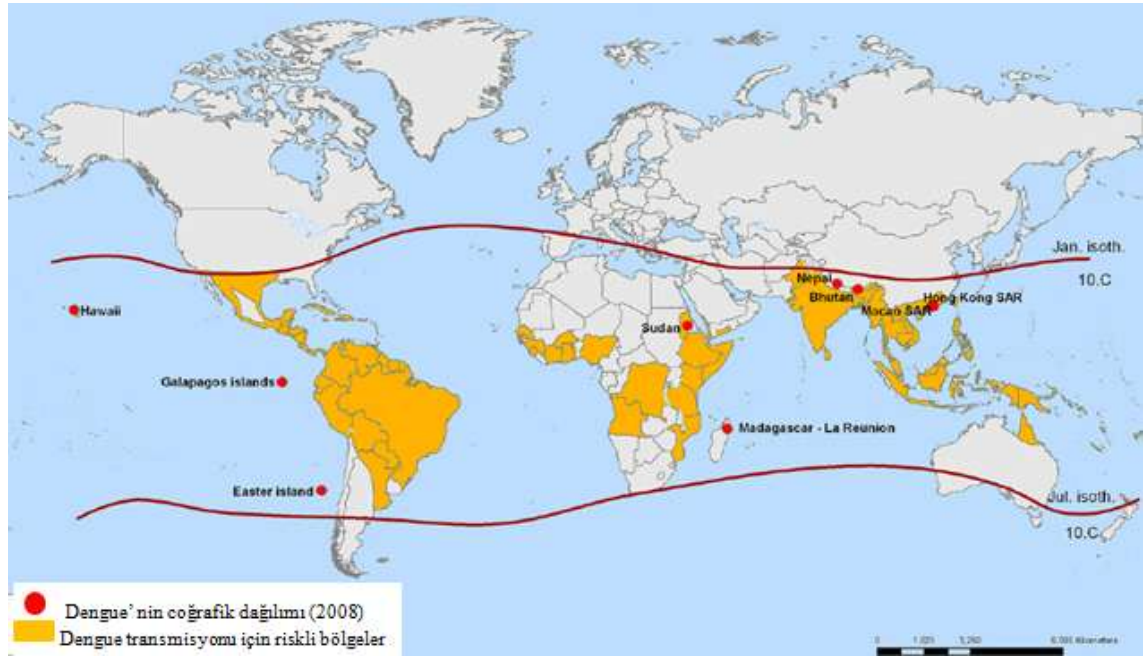
2.8.1.4. İğne batması yoluyla bulaşma

İğne batması ile yaralanma, en sık karşılaşılan hastane kaynaklı kazalar arasındadır ve bunun sonucunda bazı enfeksiyonlara yakalanma olasılığının yüksek olduğu bilinmektedir (45). HIV, HBV gibi birçok enfektif hastalık bu yolla bulaşabilmektedir. DENV'unun da bu yolla bulaştığı görülmüş olup, şu anda dengue'nin iğne batması sonucu bulaşıyla ilgili 10'a yakın rapor bulunmaktadır (45, 56). Bu yolla bulaş oldukça nadirdir ve popülasyonu genellikle hastane çalışanları oluşturmaktadır. Bulaşmanın gerçekleştiği kişilerde ise ciddi yaralanmalar yaygındır. Sivrisinek ısırması sonucu enfeksiyon için 10-20 virus kopyası gerekli iken iğne batması sonucu oluşan bulaşta bu miktar çok daha fazla olabilmektedir. Viremik donörlerde yüksek düzeyde virus olabileceğinden, iğne veya başka bir şekilde ciddi olarak yaralanmış sağlık personelinin vücuduna kolaylıkla girebilmektedir. İğne batması ile HIV'nun bulaşmasında yaklaşık 500 virus kopyası gerekmekte olup, DENV'unda da aynı şekilde az virus yükü ile bulaşma mümkün olabilmektedir. Sonuç

olarak hastane çalışanları için DENV'unun nazokomiyal mukokütanöz bulaşı unutulmamalıdır. Bu yolla bulaşın önlenmesi için standart önleyici yöntemler en iyisidir (45).

2.8.2. Vektörler aracılığıyla bulaş

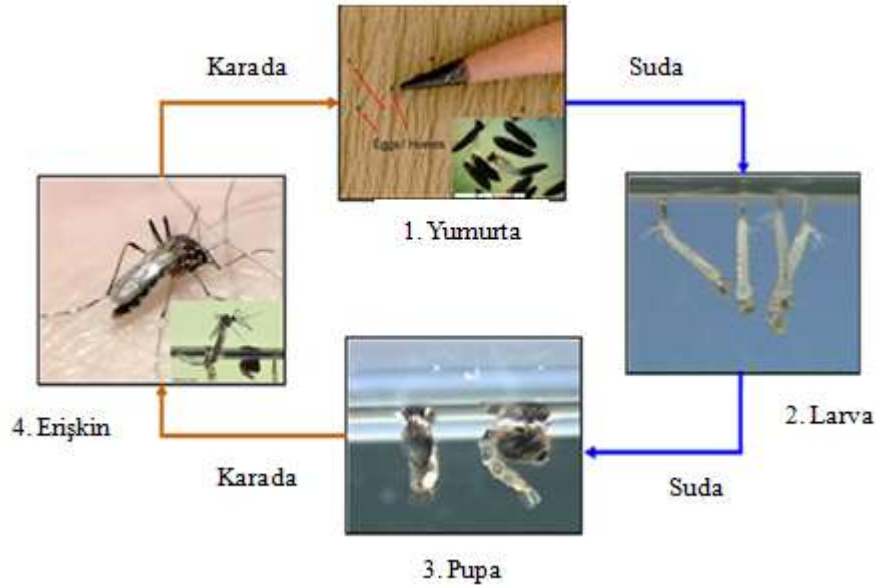
Dengue virusu primer olarak *A. aegypti* türü sivrisineklerle taşınmaktadır. Ayrıca coğrafik bölgeye bağlı olarak *A. albopictus* ve *A. polynesiensis* ile de virus bulaşabilir (14, 57, 58). Örneğin *A. albopictus*; Tayland, Samui adası, Hindistan, Singapur ve Meksika'da vektör olarak görülmüştür (9). Hastalık insanlar arasında aedes-insan-aedes enfeksiyon zinciri ile devam eder (14, 59). Ancak tropikal ve ormanlık bölgelerde aedes-maymun-aedes siklusuna bazen insan da karışabilmektedir (14). *A. aegypti*, genellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde bulunmaktadır (Şekil 2.6) (1, 13).



Şekil 2.6. Dünya genelinde, DENV'un bulaşmasında risk haritası. Kış mevsiminde 10°C'lik ısı dağılımının *A. aegypti*'nin dünyadaki dağılımını sınırladığı varsayılmaktadır (61).

Dengue virüsü için insanlar başlıca rezervuardır ve klinik olarak semptomlar sadece insanlarda ortaya çıkmaktadır (15, 18). Enfekte kişiler DENV'unun ana taşıyıcılarıdır ve DENV'unun amplifikasyonuna ev sahipliği yaparlar. Dişi sivrisinek enfekte kişiyi ısırıldıktan sonra viremik faza geçer ve 7-14 günlük inkübasyon periyodundan sonra enfektif olur. Daha sonra sivrisinek her beslenme sırasında virüsü diğer sağlıklı bireylere taşır. İnkübasyon periyodunun uzunluğu, ortamın sıcaklığına ve virüsün varlığına bağlıdır, her iki durum da vektördeki virüsün replikasyon oranını etkiler (19).

A. aegypti holometabolous türü bir böcektir. Bunun anlamı sivrisineğin metamorfoza uğramasıdır (yumurta, larva, pupa ve erişkin evre) (Şekil 2.7). Erişkin yaşam süresi çevre koşullarına bağlı olarak iki hafta ile bir ay arasında değişebilir. *A. aegypti* yaşam siklusu 1,5 ile 3 hafta arasında tamamlanır (2).



Şekil 2.7. *Aedes* türü sivrisineklerin doğadaki döngüsü

Enfekte insanı ısırıldıktan sonra DENV'u dişi sivrisineğin vücuduna girer ve ilk olarak virus orta bağırsakta (midgut) replike olur, hemotosel ve hemolenfe ulaştıktan

sonra da farklılaşır (58). Ultrastrüktürel çalışmalar viral partiküllerin sivrisineğin, sinir sisteminde, tükürük bezlerinde, ön bağırsak (foregut), orta bağırsak, gövde epidermal hücrelerinde ve yumurtalığında bulunduğunu, ancak kas, sindirim sisteminin son kısımlarında (hindgut) ve malpighi tubüllerinde bulunmadığını göstermiştir (9).

A. aegypti yumurtaları, evlerdeki çiçek vazolarındaki sular gibi, kirli veya küçük su birikintilerinde yaşayabilmektedir. Yumurtaları kuru ortam şartlarında uzun süre boyunca bozulmadan canlı kalabilmektedir (19, 59). Araştırmalar, vektörün yumurtlama için dış ortamları tercih etmesine rağmen diğer zamanlarda iç ortamları tercih ettiğini göstermektedir. Isırma aktivitesinin en fazla karanlık, şafak veya alacakaranlık zamanı olduğu belirtilmektedir. *A. aegypti*'nin çoklu beslenme alışkanlığı düşük sivrisinek popülasyonunda bile dengue salgınlarına neden olabilmektedir (19).

Son 20 yıl içinde, insanları ve evcil hayvanları etkileyen arboviral hastalıkların yeniden ortaya çıktıkları görülmektedir. Dengue gibi hastalıkların daha önce hiç bulunmadıkları alanlarda görülmesi ya da kontrol edilmekte oldukları yerlerde insidanslarının artışları ile ilgili pek çok faktör vardır. Bunlar; dünya genelindeki nüfus artışı ve kontrolsüz şehirleşme gibi demografik faktörler, modern ulaşım, doğal hastalık noktalarına insan girişi gibi sosyal değişiklikler, alan kullanımı ve yeni sulama teknikleri gibi tarımsal aktivitelerdeki değişiklikler, ormanların azalması, patojendeki genetik değişiklikler, koruyucu önlemler ve kesin bilimsel veriler olmasa da global iklim değişiklikleridir (60). Ayrıca yağmur mevsimi boyunca sivrisineğin larva popülasyonunda meydana gelen artışın bu dönemlerde dengue salgınlarındaki artışa neden olduğu düşünülmektedir (9).

2.8.2.1. *Aedes aegypti*'nin küresel dağılımı

Tarihsel olarak, *A. aegypti*, kuzeyde Ocak ayında ve güneyde 10°C sıcaklık dereceleri arasında bulunabilmektedir (61) (Şekil 2.6). Afrika'dan orjin alan *A. aegypti*'in 15. ve 17. yüzyıllar boyunca Afrika limanlarında bulunan taşıma gemileri aracılığıyla diğer kıtalara ticaret yoluyla geçtiği düşünülmektedir (61, 62). Tatlı su birikintilerini taşıyan bu gemiler, *A. aegypti* kolonilerinin üremelerine izin vererek, dünyadaki diğer ülkelere ulaşmasını sağlamıştır (61).

1700'lü yılların sonlarında Asya, Afrika ve Kuzey Amerika'da eş zamanlı dengue salgınlarının ortaya çıkması göz önüne alındığında, dengue vektörlerinin (diğer türler de olmasına rağmen ağırlıklı olarak *A. aegypti*) dünyanın tropik ülkelerinde son iki yüzyıldır geniş bir dağılıma sahip olduğu tahmin edilmektedir (63). Ancak *A. aegypti*'nin Asya'ya girmesi nispeten yenidir, kentsel alanlardaki endemik dengue ateşi 19. yüzyılın sonlarına kadar tanımlanamamıştır ve son yayılımında tropik Asya popülasyonunda düşük genetik çeşitlilik gösterdiği düşünülmektedir (61). Güneydoğu Asya'da 1945 sonrasında çok fazla dengue salgını görülmüştür (64) ve *A. aegypti* Asya'da şu anda da yaygındır (65).

Amerika'da 1950'li ve 1960'lı yıllarda Amerikan Sağlık Örgütü (Pan American Health Organisation, PAHO) tarafından başlatılan büyük ve koordineli sarı humma eradikasyon çalışmaları sonucunda bu bölgede *A. aegypti* popülasyonlarında ciddi bir azalma görüldüğü ve 1970'lere kadar Orta ve Güney Amerika'nın çoğunda eradikasyon sağlandığı belirtilmektedir. Ancak 1970'li yılların başında eradikasyon çalışmalarının etkisi azalarak Kuzey ve Güney Amerika'da *A. aegypti* yeniden ortaya çıkmıştır ve daha sonrasında bunu dengue salgınları izlemiştir (61).

İkinci dünya savaşından önce *A. aegypti* Akdeniz bölgesinde yaygın olmasına rağmen (61) Güney Avrupa ve Kuzey Afrika'da bu dönemde görülmemiştir. Bunun nedeni çok net olmamasına karşın malaria eradikasyon çalışmaları sırasında kullanılan DDT (dikloro difenol trikloroethan)'nin bu duruma katkısı olduğu düşünülmektedir (65).

Günümüzde *A. aegypti* tropikal ve subtropikal bölgelerde geniş bir dağılıma sahip olmasına karşın, bunun muhtemel dağılım aralığı yansıtmadığı düşünülmektedir. Avrupa'nın bazı bölgelerinde, Kuzey Amerika ve Avustralya'da çok daha geniş bir coğrafik dağılım göstermektedir. Genel olarak *A. aegypti* dağılımının sabit olmadığı ve zamanla kıtalar arasında önemli değişikliğe uğradığı belirtilmektedir (61).

2.8.2.2. *A. aegypti*'nin iklimsel dağılımı

Sadece iklimsel faktörler *A. aegypti*'nin coğrafik dağılımını belirlemede yeterli değildir. Bunun başlıca sebebi *A. aegypti*'nin ev gibi küçük yerlerde de yaşayabildiği ve bu nedenle de geçici hava etkilerinden korunabilme özelliğidir. Örneğin su doldurulmuş kaplar sivrisineklerin uygun yumurtlama bölgeleri için yağmur olması faktörünü ortadan kaldırır.

A. aegypti tropikal bir sivrisinek olsa da olumsuz çevre koşullarına uyum gösterebilmektedir. Laboratuvar çalışmaları *A. aegypti* larvalarının su sıcaklığı 34°C'ye yükseldiğinde ölmeye başladığını gösterirken, yetişkinlerinin hava şartları 40°C'ye yükseldiğinde ölmeye başladığını göstermektedir (61). Ancak gözlemler, *A. aegypti*'nin, Kuzey-Batı Rajasthan, Hindistan'ın Thar çölünde var olduğunu ve dengue bulaşımının olduğunu ve *A. aegypti*'nin çok yüksek çevre sıcaklıklarından (yazın sıcaklık sık sık 40°C'nin üzerine çıkmaktadır) evlerdeki sürahi ve yer altı beton su tanklarına girerek kaçındıklarını göstermektedir (66). Bunun tersine larvaları oldukça zorlu koşullara karşı hassas olurken, örneğin dondurucu laboratuvar şartlarına, ortamdaki *A. aegypti* larvalarının yüzeyi buz kaplı sularda yaşayabildiğini göstermektedir (61). Ayrıca, Amerika Birleşik Devletleri'nde *A. aegypti* popülasyonlarının, sıcaklığın 0°C'nin altına düştüğü kış aylarında bulunduğu (64) ve Avustralya'da sıcaklığın ortalama 5-6°C olduğu kış aylarında şehirlerde bu sineklerin bulunduğu belirtilmektedir (61).

Sıcaklık larva gelişim zamanını ve hayatta kalma oranını etkiler ancak larva miktarını belirlemede tek başına yeterli olmamaktadır. Avustralya'da bugünkü *A. aegypti*'nin coğrafik dağılımında iklimin esas alınmadığı belirtilmektedir ve son 60 yıldır kıtanın doğu kıyısındaki sıcaklık artışının, güneyde belirgin bir vektör dağılım artışına neden olmadığı da ifade edilmektedir (61).

Bazı bölgelerde, özellikle yağmurun larvaların bulunduğu kapları doldurduğu durumlarda, yağmur ile larva bolluğu arasında pozitif bir uyum görüldüğü belirtilmektedir. *A. aegypti* larvaları hayatta kalmak için suya ihtiyaç duyar ancak bu tamamen yağmura bağlı değildir. İnsanların doldurmuş oldukları su kapları da bunun için uygun yerlerdir (61). Örneğin Brezilya'nın Kuzeydoğusundaki bir kentte Pontes ve ark. (67) *A. aegypti* miktarının yağıştan bağımsız olduğunu bulmuştur. Aksine, kurak

mevsim periyodu boyunca evlerde stoklanan suların artışı ve yine eş zamanlı olarak vektör kontrol çalışmalarının azalmasıyla vektör artışı uyumlu bulunmuştur. Özetle yağmur ve *A. aegypti* miktarı arasındaki ilişki, larvaların yaşadıkları kap miktarı ve yerel nüfusun su stoklamalarındaki farklılıklara bağlı olarak neredeyse bütün bölgelerde değişecektir (61).

Ayrıca sıcaklık, nem ve yağışın sivrisineklerin hayatta kalması üzerinde belirgin etkileri olurken, ekoloji, fotoperiyod ve rüzgar hızı gibi diğer iklim faktörlerinin de etkili olabileceği belirtilmektedir. Daha da önemlisi bu faktörlerin hayatta kalma üzerine ve sivrisinek gelişimi üzerinde kombine bir etkisi vardır, ancak faktörlerin bağımsızlığından dolayı bu etkileri incelemek zordur (61).

2.8.2.3. İklim, *A. aegypti* ve dengue

A. aegypti yumurtlama ve larval gelişimi büyük ölçüde virüs ve konteynerlerin eş zamanlı mevcudiyetleriyle yönetilen kentsel dengue salgını iken, iklimsel değişkenler dengue'in bulaşmasında eklem bacaklılar tarafından taşınan olaylardan daha az kritik rol oynayabilirler (68). Kentsel dengue'in yayılması *A. aegypti*'nin yayılmasıyla sınırlıdır; fakat tek başına vektörün bulunması endemik olmayan bir bölgede dengue bulaşını sağlamaz (65). Daha doğrusu dengue bulaşı şablonu virüs çoğalma dinamiklerini içeren çok sayıda bulaş parametrelerinin etkileşimine, ekoloji ve bunun vektörler üzerindeki etkisine, insanların bağışıklık ve yaşam koşullarına bağlıdır. Özellikle; iklim ve hava bu parametrelerin birkaçını etkileyebilir (61).

İlk olarak, sivrisineğin bulaşıcı kanın sonucu olan virüsü bulaştırabilmesinden önceki zaman dilimi çoğu kez ısı bağımlıdır. Gerçekten *A. aegypti*'deki DENV EIP'si (ekstresek kuluçka dönemi) yükselen ısı ile azalır. Diğer taraftan daha düşük ortam sıcaklığı belki de daha az sivrisinek virüsü bulaştıracak kadar uzun yaşadığı için dengue bulaşmasını azaltan EIP'yi uzatabilir (61).

Sivrisinekteki EIP'nin süresinin etkisine ek olarak iklimsel faktörler de sivrisinek bolluğu ve daha uzun yaşamasındaki sonuç değişkenlerinden dolayı onun virüs yayma kapasitesini etkileyebilir. Düşük nem yetişkinlerin hayatta kalmasını

olumsuz etkileyerek ve vektör popülasyonunun oranını azaltabilir ve böylece ısırık bulaşıcı olmaya başlar (61).

Son olarak, tabii ki insanlar meteorolojik durumlardan da etkilenebilirler. Böylece iklim ve hava insanlarda hastalığın bulaşıcı dinamikleriyle davranış değişikliklerine neden olabilir. *A. aegypti* larva habitatı büyük ölçüde yapay kapları (konteyner) kapsar, evlerdeki su deposu uygulamaları doğrudan larva gelişim, üreme alanlarının mevcudiyetlerini etkileyebilir. Örneğin kuraklığa ve azalan yağmura karşılık olarak artan kentsel su depolama eğer bu riski önlemler ortadan kaldıramazsa ve böylece çok az yağmur *A. aegypti* yoğunluğunun yükselmesine neden olabilir ve üretken larva alanlarının sayısı artabilir (61).

Bu yolla insan davranışı, büyüklüğü belirleyebilen iklimsel değişkenlere ekonomik faktörler olarak eşlik edebilen sivrisinek ısırıklarını açığa vuran bireysel bir cevaptır. Örneğin klima sistemlerinin kuruluşları ve kapalı pencerelerin birleşimi kolayca kapalı alanda beslenen ve dinlenen yetişkin *A. aegypti*'nin ışığını azaltır fakat bu koruyucu ölçüklerin benimsenmesi ekonomiden ziyade iklimsel faktörlerce belirlenir (61). Reiter ve ark.'larının (69) yapmış olduğu bir çalışmada, birbirine komşu iki kent olan Nuevo Laredo, Tamaulipas (Meksika) ve Laredo, Teksas (ABD) serolojik anket sonuçları karşılaştırılmış ve Laredo sınırında *A. aegypti* oranının daha fazla olmasına rağmen Nuevo Laredo'da dengue olaylarının daha yüksek olduğunun ortaya çıktığı belirtilmiştir. Araştırmacılar Laredo'daki düşük dengue olaylarını esasen asıl iç korumalı binalarda harcanan yaşam şekillerine ek olarak, klimaların ve pencere korumalarının bulunduğu evlerin özelliklerine bağlamışlardır. Bu evler ve yaşam şekillerinin özellikleri gelir seviyesinin daha düşük olduğu Nuevo Laredo'da popüler değildir. Bu nedenle araştırmacılar Meksika'da dengue yaygınlığının daha yüksek olmasının iklimsel nedenlerden ziyade ekonomik nedenlerden kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Genel olarak, sivrisinek patojenleri taşımaları üzerinde iklimin etkisi göz önüne alındığında, vektör patojen konak-sisteminin ne kadar karmaşık olduğunu kabul etmek gerekir. Sıcaklık, yağmur ve nem gibi temel iklim değişkenleri hastalık bulaşmasında genellikle kümülatif etki sağladığından birbirinden bağımsız olarak düşünülemez. Uzun dönemli iklimsel değişiklik analizleri sınırlı olduğu durumlarda, kısa süreli iklim değişikliklerinin dengue bulaşı konusundaki önemi gözden kaçabilir (61).

2.9. Korunma ve vektör kontrol

DENV'undan korunmada en etkili yöntem sivrisineklerle mücadeledir (28, 31, 70) ve bunun için çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bunlar çevresel mücadele, biyolojik mücadele, kimyasal mücadele ve aktif sürveyans çalışmaları başlıkları altında toplanabilmektedir. Bunların hepsi tek başına yeteri kadar etkili değildir. Bu nedenle etkili bir kontrol ve mücadele için bu yöntemlerin hepsi kombine bir şekilde uygulanmalıdır. Aksi takdirde vektör kontrol çalışmaları Güneydoğu Asya ve Güney Asya bölgelerinde olduğu gibi başarısız olur. Bunun nedeni ise kontrol yöntemlerinden sadece bir tanesinin yani insektisidin kullanılmasıdır (9).

2.9.1. Çevresel kontrol yöntemleri

Çevresel koruma yöntemleri arasında, vektörlerin beslendiği alanların azaltılması, katı atıkların yönetimi, insanların beslendikleri alanlarda ve ev tasarımlarında değişiklik yapması bulunmaktadır. Halk eğitim programları bunların etkili olmasında önemli rol oynamaktadır (71).

Kişisel korunma insan-vektör temasının önlenmesinde önemlidir. Yeteri kadar kalın ve gevşek giysiler yine vektörle temasın önlenmesinde etkili olabilir ancak sıcak tropikal iklimler için uygun olmayabilmektedir. Diğer önlemler ise evlerde insektisit ya da repellent kullanımınıdır (9).

2.9.2. Biyolojik kontrol yöntemleri

Sivrisineklerin patojen özellik kazanabilmeleri için en az bir kez kan emmeye ihtiyaçları vardır. Hastalığın iletilmesi için en az bir yumurtlama döngüsünün tamamlanması ve tekrar kan emilmesi gereklidir. Bundan dolayı yumurtlama, hastalık taşıyan sivrisineklerin çoğunda önemli bir olaydır. İşte, vektör mücadele çalışmalarının organizasyonunda ana fikir, sivrisineklerin bu yumurtlama döngüsünün mümkün olduğunca çabuk bir şekilde kesintiye uğratılması temeline dayanmaktadır (70).

Biyolojik kontrol yöntemlerinin sivrisineğin larva aşamasında etkili bir şekilde kullanılması hedeflenmektedir. Bunun için kullanılan biyopestisitler; larva ile beslenen balıklar (*Gambusia affinis* ve *Poecilia reticulata*), endotoksin üreten bakteriyel larvisitler (*Bacillus thuringiensis* serotip H-14 ve *Bacillus sphaericus*) ve küçük crustacealar (*Cyclopoid copepod*)'dır (9, 72).

B. thuringiensis serotip H-14 suşu *A. aegypti* larvaları için oldukça etkilidir. *B. thuringiensis* sporu *Aedes* larvaları tarafından alındığı zaman, kristalize yapı midede çözünür; proteazlar tarafından etkin forma dönüştürülür; toksin mide epitelyum hücrelerinde özel reseptörlere bağlanır; hücre zarını geçer ve buna bağlı olarak epitelde delik ve kanallar açar. Sonuçta epitel hücresi yıkılır; diğer taraftan dolaşıma geçen toksin septisemiye neden olur ki bu durum da ölüm riskini artırır. Hedef canlı dışında *B. thuringiensis*'in laboratuvar hayvanları ve diğer memelilere karşı zehirleyici ya da patojenik etkisinin olmadığı görülmüştür. *B. sphaericus*'da yine benzer etkiye sahiptir (9, 72). Ancak *B. thuringiensis* temiz sularda etkin olmasına karşın *B. sphaericus* kirli sularda etkindir. Bu nedenle *B. thuringiensis*'in evlerde kullanımı daha uygundur. Kopepodlarda yine *Aedes* larvalarını yiyerek beslenen etçil nitelikte canlılardır ve *Aedes*'lerin tipik üreme yeri olan su depolarının içine koyulması sivrisinek popülasyonunun azalmasında ciddi bir etkiye sahip olabilir (15, 72). Kopepodların Vietnam'da kullanılmasıyla birçok alanda sivrisineklerin eradikasyonunu sağlamıştır (9).

Biyopestisidlerin insanlar tarafından kullanılmaları herhangi bir tehlike oluşturmamaktadır ve yine biyopestisidler sadece hedef canlıya zarar verdiği ve daha ekonomik olduğu için kimyasal pestisidlere oranla kullanımı daha uygundur (9, 72).

2.9.3. Kimyasal kontrol

Larvisidal insektisidler veya spreyleri kapsamaktadır. Spreyler, larvisidal insektisidlere oranla daha geniş bir kullanım alanına sahiptir. Kapların insektisit ile muamelesinde %1'lik Temephos kum granülleri ve insekt üreme regülatörleri içeren sularda bekletme ile olmaktadır. Güneydoğu Asya ülkelerinde bazı *Aedes* sinek türlerinin Temephos'a direnç geliştirdiği bildirilmiştir. Bu sebeple direnç paternlerinin düzenli olarak izlenmesi gerekmektedir. İnsekt üreme regülatörleri, sineklerin

olgunlaşmamış formlarının gelişmesini engeller ve memeli hücrelerine karşı toksisiteleri oldukça düşüktür (9).

Alanların spreyle muamelesi, ısı buharları veya oldukça düşük hacimli spreyleyler olarak uygulanabilmektedir. Isı buharının, erişkin sineklerin öldürülmesinde oldukça yaygın kullanıldığı belirtilmektedir (9).

%4'lük malathion, %1'lik fenitrothion veya pirimiphos-methyl gibi insektisitlerin birçok kontrol programında oldukça etkili olduğu, ancak sinek vektörlerin değişik direnç paternlerini geliştirdiği belirtilmektedir (73). Çok düşük hacimde uygulanan, larva ve erişkin formlara etkili olan bifenthrinin ısı buharından daha etkili olduğu belirtilmektedir (9).

2.10. Laboratuvar tanısı

DENV enfeksiyonunun laboratuvar tanısı çeşitli yöntemler ile yapılmaktadır. Bu yöntemler; virusun hücre kültürü ve immün floresan yöntemler ile direkt klinik örnekten tespit edilmesi, hemaglutinasyon inhibisyon, komplement fiksasyon testi, plak redüksiyon nötralizasyon testi ve ELISA gibi serolojik testler ile DENV'una karşı oluşan antikorların tespit edilmesi, ELISA ve dot blot teknikleri ile dengue antijenlerinin tespit edilmesi ve RT-PZR (reverse transcriptase-polimeraz zincir reaksiyonu) ve rt RT-PZR (reel time reverse transcriptase- polimeraz zincir reaksiyonu) gibi çeşitli moleküler yöntemleri içermektedir (9, 19).

Virusun izolasyonu için sivrisineklere, sivrisinek hücre kültürlerine (AP61, AP64, C6/36) ve memeli hücre kültürlerine (yenidoğan fare, Vero, LLCMK2, BHK21) inokülasyon yapılmaktadır (9, 14, 19). Başarılı virus izolasyonu, antikorlar ve virusun ısıya karşı duyarlılığından etkilenebilmektedir (19). Virus izolasyonu genellikle doğrulama testi olarak kullanılmaktadır, ancak tarama testi olarak veya hastalık tanısı için kullanılmaya elverişli değildir. Pahalı bir yöntemdir ve ayrıca sonuçların okunması 2 hafta almaktadır (9).

ELISA, DENV'una spesifik IgG ve IgM antikorlarının gösterilmesinde oldukça sık kullanılan hızlı, pratik ve çok pahalı olmayan bir yöntemdir. IgM antikorları enfeksiyondan sonra 3-5 gün içinde tanımlanabilir, yaklaşık 2 hafta içinde en üst seviyelere ulaşır ve 2-3 ay süresinde tanımlanamayacak seviyelere düşer (19, 74).

ELISA yöntemiyle IgM antikorları saptanmasında duyarlık %83,9-98,4, özgüllük ise %100'dür (74). IgG antikorları ise 9-10 gün içinde yükselir ve yaşam boyu tespit edilebilir şekilde kalır. Sekonder enfeksiyonda ise IgG seviyesi enfeksiyondan 1-2 gün sonra hızla artar. Virus diğer flaviviruslarla antijenik epitopları paylaştığı için, çarpaz reaksiyon veren antikörlerin varlığı serolojik tanıyı engelleyebilmektedir (19).

Dengue enfeksiyonlarının erken tanısı için NS1 antijen yakalama ELISA (antigen-capture ELISA) yöntemi kullanılmaktadır. Primer dengue enfeksiyonlarında testin duyarlılığı (%97,3), sekonder enfeksiyonlara (%70) oranla oldukça yüksektir. Pozitif ve negatif prediktif değeri ise sırasıyla, %100 ve %97'dir. Fakat her ne kadar bu yöntem hastalığın ilk haftasında virusun varlığını gösterse de yine de kan donör tarama testleri açısından henüz etkinliği kanıtlanmamıştır (19).

NS1 testi gibi, dengue RNA testi de viral materyali hastalığın ilk 5 gününde tanımlar. Bu testin avantajı yüksek duyarlık ve özgüllüğe sahip olmasıdır ve serumdan dengue virusunu kolaylıkla ve hızlı bir şekilde saptamasıdır. Dezavantajı ise yüksek maliyeti ve hatalı pozitiflikler olmaması için uzman personel gerektirmesidir (19).

Dengue enfeksiyonlarının erken tanısında, hastanın serumundan antikörler tespit edilemediği dönemde, RT-PZR yöntemini kullanarak dengue viral nükleik asidinin tespiti mümkündür. RT-PZR yöntemi virus izolasyonu ile kıyaslandığında daha duyarlı ve daha hızlıdır ve genellikle 24 saat gibi bir sürede serotip tanımı yapılabilir. Ayrıca ELISA yöntemi çok erken akut fazda negatif sonuç verebileceği için ve PZR tabanlı tanıda ise ateşli fazın sonuna doğru (IgM pozitif olmaya başlar) negatif olabileceği için bu iki yöntem birbirini tamamlayıcı olarak kullanılabilir (74).

RT-PZR yöntemi enfekte sivrisinek hücre kültüründeki veya sivrisinek larvasındaki dengue virusunu da tanımlamada kullanılabilir ve bu yöntemle bazı hastalarda meydana gelen dual viremi durumu da belirlenebilir (9). Ayrıca RT-PZR yöntemi epidemiyolojik çalışmalarda dengue serotiplerinin diğer Flaviviruslarla çarpaz reaksiyon olmaksızın ayırımında kullanılabilir (74).

rtRT-PZR da dengue oligonükleotid primer çiftini veya denguenin dört serotipin spesifik oligonükleotid primerlerini tanımlamada geniş çapta kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde viral RNA tespiti için gerekli olan limit; DENV-1 için 0,1 PFU (plaque-forming units) mL⁻¹, DENV-2-, 1 PFU mL⁻¹, DENV-3 ve DENV-4 için 0,01 PFU mL⁻¹'dir ve korelasyon %88'dir (19).

Bir prototip dengue RNA transcription-mediated amplification (TMA) yöntemi (Gen-Probe, Inc., San Diego, CA, USA) geniş çapta kan donör tarama testlerinde kullanılmak için geliştirilen transkripsiyon esasına dayalı bir amplifikasyon yöntemidir. Testin analitik duyarlılığının DENV-1 için, %95 tespit limitinde 14,9 kopya mL⁻¹ ve %50 tespit limitinde 3,5 mL⁻¹ olduğu ortaya konmuştur. Bu sonuçların duyarlılığının diğer dört serotiple de karşılaştırılabildiği ve özgüllüğünün %99,91 olduğu belirtilmiştir (19, 53).

2.11. Tedavi

Dengue için spesifik bir antiviral tedavi bulunmamaktadır. Ancak semptomatik ve destekleyici tedavi uygulanmaktadır. İyileşme iyi bir gözetim ve erken tanıya bağlıdır. Parasetamol ve diğer ateş düşürücü ajanlar ateş tedavisi için, analjezikler ve ağrı kesiciler ise kemik ağrısı için kullanılabilir (22).

Şok belirtileri olan hastalar için yoğun bakım ünitelerinde tedavi en uygundur. Şiddetli hastalıkların tedavisindeki temel unsur zamanında ve etkili plazma volüm replasmanıdır. Bunun için kan veya çeşitli sıvılar kullanılabilir (22, 28, 31). Sıvı olarak kristalloid veya kolloid solüsyonları kullanılabilir (28).

Sıvı infüzyonu, hastanın hayati durumuna, idrar çıkışına ve hematokrit seviyesine bakılarak yapılmalıdır. Genellikle şokun kesilmesinden 48 saat sonra sıvı tedavisine gerek yoktur. Damar dışına çıkmış plazmanın yerine konması ile hematokrit değeri düşeceği için, damar içi sıvı verilmesi durdurulmalıdır. Bu düşüş hipervolemi, akciğer ödemi veya sıvı fazla verilirse kalp yetmezliğine neden olabilir. Son derece önemli bir noktada hematokrit seviyesindeki düşüş iç kanamanın belirtisi olarak alınmamalıdır (31).

Şokun önlenmesi ve erken tanı için trombosit ve hematokrit seviyelerinin seri tespitleri gerekmektedir. Bazı vakalarda özellikle gastrointestinal sistem gibi önemli kanamaları olan hastalarda kan transfüzyonu gerekmektedir (28, 31). Koagülopatinin neden olduğu yoğun kanama durumlarında taze donmuş plazma veya trombosit replasmanı gereklidir. Şiddetli şok durumlarında dissemine intravasküler koagülasyon meydana gelir ve yaygın kanamalar ile geri dönüşsüz şokun gelişmesinde önemli rol

oynar. Dissemine intravasküler koagülasyonun şiddetini ve şokun başlangıcını göstermek için koagülasyon testi izlenmelidir (31).

2.12. Aşılar

Şu anda hiçbir DENV aşısı Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA, Food and Drug Administration) tarafından onaylanmamıştır. DENV'nun serolojik olarak birbirinden ayrılan dört serotipi de enfeksiyona neden olmaktadır. Nötralizan olmayan, çapraz reaktif antikorlar DHA patogenezinin ABA yoluyla katkıda bulunmaktadır (22). Sonuçta DENV'na karşı geliştirilen aşının etkili olabilmesi için her bir DENV serotipine karşı güçlendirilmiş nötralizan antikorları içermesi gerekmektedir. Bunun başarısızlığı hastalığın şiddetini arttırmaktadır. (22, 74). Bu sorunu aşmak için tetravalan canlı atenüe aşılar geliştirilme aşamasındadır. Klinik çalışmalarda, tetravalan serolojik tepkiler bazı kişilerde gözlenmiştir, fakat çoğunda çoklu aşılama rağmen yüksek titrede nötralizan antikorlar gelişmemiştir. Ayrıca tetravalan aşının her bir parçası yüksek titrede immün yanıt oluşumuna neden olmamaktadır. Alt birim temelli, saf proteinler veya DNA plazmidleri gibi aşuların geliştirilmesi için alternatif aşı stratejileri vardır. Saflaştırılmış rekombinant DENV (domain III)'nun E proteini farelerde oldukça düşük nötralizan titrede olmasına rağmen tekrarlayan immünizasyonlarda koruyucu antikor oluşumunu indüklemektedir (22).

Canlı atenüe aşılar ve replike olmayan (nonreplicating) aşılar, örneğin inaktive virus aşuları, virus benzeri partikülleri ve DNA aşuları dengue için geliştirilmektedir (Çizelge 2.3). Bu aşılar koruyucu nötralizan antikorları içermekte ve spesifik DENV serotiplerine karşı uzun süren immünite sağlamaktadır. Ancak diğer DENV subtiplerine karşı zayıf çapraz reaksiyonlar olmaktadır (22).

Çizelge 2.3. Deneysel dengue virus aşılıarı

Kısaltmalar: AV: Adenovirus; CDC: Centers for Disease Control and Prevention; GSK: Glaxo SmithKline; NIAID: National Institute of Allergy and Infectious Diseases (Alerji ve Bulaşıcı Enfeksiyonlar Ulusal Enstitüsü) NIH: National Institutes of Health (Ulusal Sağlık Enstitüleri); UTMB: University of Texas Medical Branch (Teksas Medikal Branş Üniversitesi); WRAIR: Walter Reed Army Institute of Research (Walter Reed Ordu Araştırma enstitüsü); YF: Sarı Humma (22).

Tip	Sponsor	Geliştirilme aşaması
Canlı atenüe		
Tetralalan	Mahidol Üniversitesi/Sanofi	
Tetralalan	Pasteur	Faz I
Tetralalan	WRAIR/GSK	Faz II
Şimerik		
ChimeriVax (17D YF)	Acambis/Sanofi Pasteur	Faz I
DENV-2/4d30 (bütün serotipler)	NIAID, NIH	Faz I/III
DENV-1	US FDA	Faz I
DENV-2 (16,681, PDK53)	CDC/Inviragen	Preklinik
DNA		
Çeşitli yaklaşımlar (Domain III, prM/E, NS1)	Çeşitli NMRC/Üniversitesi Pittsburgh	Faz I/ Preklinik
İnaktive		
Çeşitli yaklaşımlar	WRAIR	Preklinik
Subvirion parçacıkları/Virus benzeri partiküller		
Drosophila hücreleri	Hawaii Biotech	Faz I
Baculovirus (E, NS1)	Çeşitli	Preklinik
Replication-defective AV (E)	RepliVax-UTMB/Acambis	Preklinik
Maya (C/prM/E, E-IIBsAg)	Çeşitli	Preklinik
Escherichia coli (E, E-NS1)	Çeşitli	Preklinik
DNA	Pittsburgh Üniversitesi	Preklinik
Alt birim / rekombinant	Çeşitli	Preklinik

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubunu Oluşturan Örnekler

3.1.1. Örneklerin Toplanması

Yaptığımız bu tez çalışmasında, 2010 yılı Ağustos ile 2011 Nisan ayları arasında Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Kan Merkezi'ne kan vericisi olarak başvuran, donör sorgulama formuna göre parenteral taşınan hastalıklar bakımından hiçbir risk faktörüne sahip olmayan ve donör tarama testleri negatif 920 sağlıklı kan donörüne ait tam kan örneği elde edildi.

Çalışma Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Bilimsel Araştırmaları Değerlendirme Komisyonu'nca değerlendirilmiş olup, donörlerden bilgilendirilmiş onam alınmasını takiben çalışma, Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında gerçekleştirildi.

Donörlerden yaklaşık 10 ml kadar tam kan örneği EDTA'lı tüplere alınarak plazma kısmının ayrılması için 5.000 devir/dakika (d/d)'da 3 dakika santrifüj edildikten sonra tüpün üst kısmındaki plazma ve "buffy coat" kısmından ikişer tane olacak şekilde 1.5 ml'lik plastik tüplere ayrıldı ve toplanan örnekler çalışılincaya kadar -80°C'de saklandı.

3.2. Kullanılan Araç Ve Gereçler

3.2.1. Kullanılan Cihazlar

Soğutmalı Mikrosantrifüj (Hettich- Universal 32 R)

Derin Dondurucu (Uğur)

Otoklav (Nüve- OT 020)
Hassas Terazi (Scaltec)
Buzdolabı (Indesit)
Vortex (NM- 110)
Su Banyosu (Memmert)
Distile su cihazı (Nüve NS 108)
Mikropipet Seti (Gilson- Pipetman- P 10-P100-F1000)
Çok kanallı mikropipet (Thermo, Finnpiette F1 MCP8 30-300)
Mikroplak okuyucusu (Organon Teknica, Microwell System Reader 230S)

3.2.2. Kullanılan Reaktifler

Dengue ELISA IgG [G1018], Vircell Microbiologists, Spain
Dengue ELISA IgM Capture [M1018], Vircell Microbiologists, Spain
Dengue NS1 antijen kiti [70700], Bio-Rad, France

3.2.2.1. Kit İçerikleri

3.2.2.1.1. Dengue ELISA IgG [G1018]

Vircell dengue pleyt: Tip 1 Hawaii suşu, tip 2 New guinea C suşu, tip 3 H87 suşu ve tip 4 H241 suşu ile kaplı 96 kuyucuklu pleyt.

Vircell serum dilüenti: 25 ml serum dilüenti: Proclin ve protein stabilizatörleri içeren mavi renkli bir fosfat tamponu.

Vircell IgG pozitif kontrol: Proclin içeren 500 µl pozitif kontrol serumu.

Vircell IgG cut off kontrol: Proclin içeren 500 µl cut off kontrol serumu.

Vircell IgG negatif kontrol: Proclin içeren 500 µl negatif kontrol serumu.

Vircell IgG konjugat: 15 ml turuncu renkli Proclin içeren anti human IgG peroksidaz konjugat dilüsyonu.

Vircell TMB Substrat Solüsyonu: Tetramethylbenzidine (TMB) içeren 15 ml substrat solüsyonu.

Vircell stop solüsyonu: 15 ml stop solüsyon: 0,5 M sülfürik asit.

Vircell yıkama tamponu: 20x50 ml yıkama solüsyonu: Tween^R-20 fosfat tamponu ve Proclin.

3.2.2.1.2. Dengue ELISA IgM Capture [M1018]

Vircell IgM capture pleyt: Anti-IgM antikorlarıyla kaplı 96 kuyucuklu pleyt.

Vircell serum dilüenti: 25 ml serum dilüenti: Proclin ve protein stabilizatörleri içeren mavi renkli bir fosfat tamponu.

Vircell IgM pozitif kontrol: Proclin içeren 1,5 ml pozitif kontrol serumu.

Vircell IgM cut off kontrol: 2 şişe Proclin içeren 1,5 ml cut off kontrol.

Vircell IgM negatif kontrol: Proclin içeren 1,5 ml negatif kontrol serumu.

Vircell dengue antijeni: Proclin içeren liyofilize, 5 şişe inaktive dengue virus tip 1 Hawai suşu, tip 2 New guinea C suşu, tip 3 H87 suşu ve tip 4 H241 suşu.

Vircell TMB substrat solüsyonu: TMB içeren 15 ml substrat solüsyonu.

Vircell stop solüsyonu: 15 ml stop solüsyon: 0,5 M sülfürik asit.

Vircell yıkama tamponu: 20x 50 ml yıkama solüsyonu: Tween^R-20 fosfat tamponu ve Proclin.

Vircell dengue konjugat solüsyonu: 17 ml tampon solüsyonu ile sulandırılan, peroksidaz ile işaretli monoklonal anti-dengue antikoruna içeren liyofilize konjugat. Proclin içermektedir.

3.2.3. Kullanılan Çözeltiler

3.2.3.1. Dengue ELISA IgG [G1018]

Yıkama solüsyonu: 20x50 ml yıkama solüsyonu 1 litre distile su içerisine eklenir. Saklanma sırasında konsantre yıkama solüsyonunda oluşan tuz kristallerinin çözünmesi için dilüsyondan en az 1 saat önce 37°C’de bekletilir. Dilüsyondan sonra 2-8°C’de saklanır.

3.2.3.2. Dengue ELISA IgM Capture [M1018]

Yıkama solüsyonu: 20x50 ml yıkama solüsyonu 1 litre distile su içerisine eklenir. Saklanma sırasında konsantre yıkama solüsyonunda oluşan tuz kristallerinin çözünmesi için dilüsyondan en az 1 saat önce 37°C’de bekletilir. Dilüsyondan sonra 2-8°C’de saklanır.

Antijen-Konjugat Kompleksi: Antijen-konjugat kompleksi kullanmadan en az 1 saat öncesinde hazırlanmalıdır. 3 ml konjugat solüsyonu içerisine 1 şişe liyofilize dengue antijeni eklenir ve rehidratasyon için 1 dakika bekledikten sonra vortekslenir. Sulandırılmış antijen- konjugat kompleksi 2-8°C’de saklandığı takdirde 1 hafta kullanılabilir.

3.2.3.3. Dengue NS1 Antijen Kiti [70700, Bio-Rad Fransa]

Dengue NS1 Ag stripi

Migrasyon tamponu

3.3. Dengue Virusuna Karşı Oluşan IgG ve IgM Antikorlarının ELISA Yöntemi İle Tespiti

Dengue’e özgül IgG ve IgM antikorlarının tespiti için, ticari olarak temin edilen ELISA kiti (Dengue ELISA IgG [G1018] ve Dengue ELISA IgM Capture [M1018], Vircell Microbiologists, Spain) kullanıldı ve üretici firmanın önerdiği prosedürler doğrultusunda plazma örneklerinden çalışıldı.

3.3.1. “Dengue ELISA IgG” Test Prosedürü

Dengue virus tip 1 (Havai suşu), tip 2 (Yeni Gine C suşu), tip 3 (H87 suşu) ve tip 4 (H241 suşu) ile kaplı 96 kuyucuklu pleytlerin bütün gözlerine 100’er µL serum diluentinden dağıtıldı. Pleytlerin 1 kuyusu pozitif kontrol, 2 kuyusu “cut off” kontrol ve 1 kuyusu da negatif kontrol için ayrıldı ve ilgili kuyucuklara 5’er µL bu kontrollerden eklendi. Diğer kuyulara da sağlıklı kan donörlerine ait plazma örneklerden 5’er µL

dağıtıldı. Pleytler 2 dk düşük devirde karıştırıldıktan sonra üzeri kapatılarak 37°C’de 45 dk inkube edildi. Süre sonunda yıkama tamponu ile kuyucuklar 5 kez yıkanarak, iyice kurutuldu. Ardından kuyucuklara 100 µL anti-human IgG konjugat solüsyonundan eklenip üzeri kapatılarak 37°C’de 30 dk inkube edildi. Süre sonunda 5 kez yıkama tamponu ile yıkanarak iyice kurutuldu. Sonra kuyucuklara 100 µL TMB içeren substrat solüsyonu eklendi ve 20 dk oda ısısında karanlıkta bekletildikten sonra üzerlerine 50 µL stop solüsyonundan eklendi.

Dengue virus serotiplerine özgül IgG antikorlarının optik dansitesi (O.D.) spektrofotometrede 450/650 nm’de ölçüldü. Sonuçlar antikor indeksi hesaplanarak değerlendirildi (Şekil 3.1).

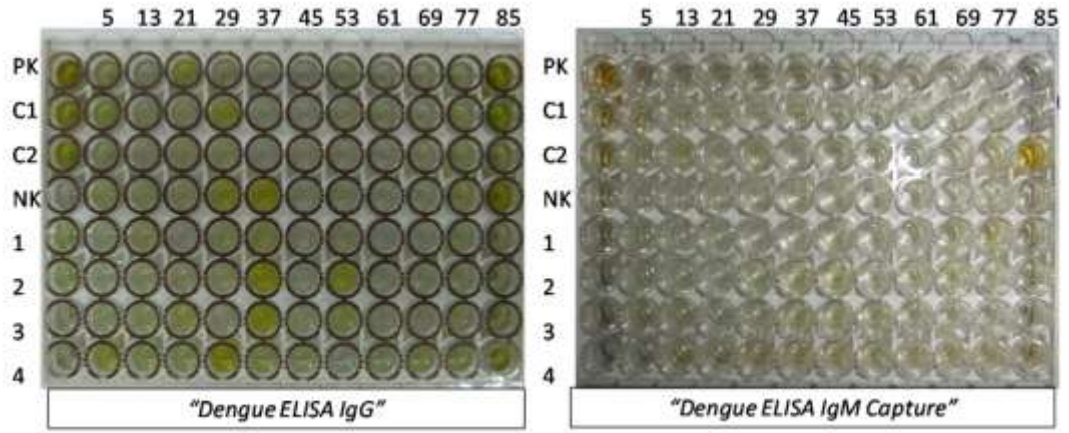
IgG Antikor İndeksi=(örnek O.D./cut off serumlarının ortalama O.D.)x10

Sonuçların değerlendirmesi, indeks; <9 olduğunda negatif, 9-11 arasında sınırdaki pozitif, >11 olduğunda ise pozitif olarak kabul edildi.

3.3.2. “Dengue ELISA IgM Capture” Test Prosedürü

Kan donörlerine ait plazma örneklerinin öncelikle ayrı tüplerde 1:20 oranında dilüsyonları hazırlandı. Anti-Dengue IgM antikorları ile kaplı 96 kuyucuklu pleytlerin örnek kuyucuklarına 80 µL serum diluentinden dağıtıldı ve üzerlerine dilüsyonu yapılmış çalışılacak plazma örneklerinden 20 µL dağıtıldı. Pleytlerin 1 kuyusu pozitif kontrol, 2 kuyusu “cut off” kontrol ve 1 kuyusu da negatif kontrol için ayrıldı ve ilgili kuyucuklara 100’er µL bu kontrollerden eklendi. Pleytler 2 dk düşük devirde karıştırıldıktan sonra üzeri kapatılarak 37°C’de 60 dk inkube edildi. Süre sonunda yıkama tamponu ile kuyucuklar 5 kez yıkanarak iyice kurutuldu. Ardından kuyucuklara 100 µL daha önceden hazırlanan antijen-konjugat kompleksi solüsyonundan eklenip üzeri kapatılarak 37°C’de 60 dk inkube edildi. Süre sonunda 5 kez yıkama tamponu ile tekrar yıkanarak iyice kurutuldu. Sonra kuyucuklara 100 µL TMB içeren substrat solüsyonu eklendi ve 20 dk oda ısısında karanlıkta bekletildikten sonra üzerlerine 50 µL stop solüsyonundan eklendi.

Dengue virus serotiplerine özgül IgM antikorlarının O.D.’si ölçülerek, antikor indeksi IgG’nin değerlendirmesinde olduğu gibi hesaplandı (Şekil 3.1)



Şekil 3.1. IgG ve IgM ELISA plakları (PK: pozitif kontrol, C1 ve C2: “cut off” kontrolleri, NK: negatif kontrol)

3.3.3. “Dengue NS1 Antijen Strip” Test Prosedürü

Dengue IgM pozitif olarak bulunan plazma örneklerinde dengue NS1 antijen tespiti için dengue strip (Dengue NS1 Ag Strip, Bio-Rad, Fransa) testi ile dengue serotiplerine özgü DENV NS1 antijeni araştırıldı.

Dengue NS1 Ag strip testi, insan serum veya plazmasından virusa özgü NS1 antijeninin varlığını kalitatif olarak belirleyen bir testtir. Test immünokromotografik bir yöntemdir.

Testte kullanılan membran strip

- Örnek yuvası
- Konjugat yuvası (anti-NS1 monoklonal antikoları ile kaplı altın partikülleri ve streptavidin ile kaplı altın partikülleri içermektedir.)
- Test çizgisi (anti-NS1 monoklonal antikoları) ve kontrol çizgisinden oluşan immünolojik reaksiyonun gerçekleştiği membran.

Dengue NS1 stripi, 50 µl serum örneği ve bir damla migrasyon tamponu içeren tüpe yerleştirildi. 15 dakika sonra okundu.

3.4. İstatistiksel Analiz

Bütün istatistik analizleri için SPSS (The Statistics program for the social science, 13.0, Inc., Chicago, IL) kullanıldı. Bağımsız verilerin birbiri ile olan ilişkilerinin kontrol edilmesinde, Pearson X^2 testi kullanıldı. Verilerin frekans dağılımının uygunluğunun belirlenmesi için X^2 testi kullanıldı. P değeri 0,05'den daha az bulunduğunda, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmaya, 2010 yılı Ağustos, Kasım ile 2011 yılı Ocak, Şubat, Mart ve Nisan aylarında Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Kan Merkezi'ne başvuran, 920 sağlıklı kan donöründen elde edilen plazma örnekleri dahil edildi.

4.1. Dengue ELISA Sonuçları

Çalışılan 920 plazma örneğinin 153 (%16,6)'ünde DENV'una özgül IgG sınıfı antikorlar tespit edildi. IgG pozitif olarak bulunan örneklerden 132 (%14,3) tanesi pozitif, 21 (%2,3) tanesi ise sınırda pozitif olarak değerlendirildi. IgM sınıfı antikorlar çalışılan 920 örneğin 8 (%0,9) tanesinde pozitif bulundu. IgM pozitif olarak değerlendirilen örneklerin 2 (%0,2)'si pozitif, 6 (%0,7)'si ise sınırda pozitif olarak değerlendirildi. IgG pozitif saptanan örneklerin bir tanesinde IgM pozitifliği de saptandı (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Sağlıklı kan donörlerine ait plazma örneklerinde anti-dengue IgG ve IgM antikorlarının yüzde (%) oranları.

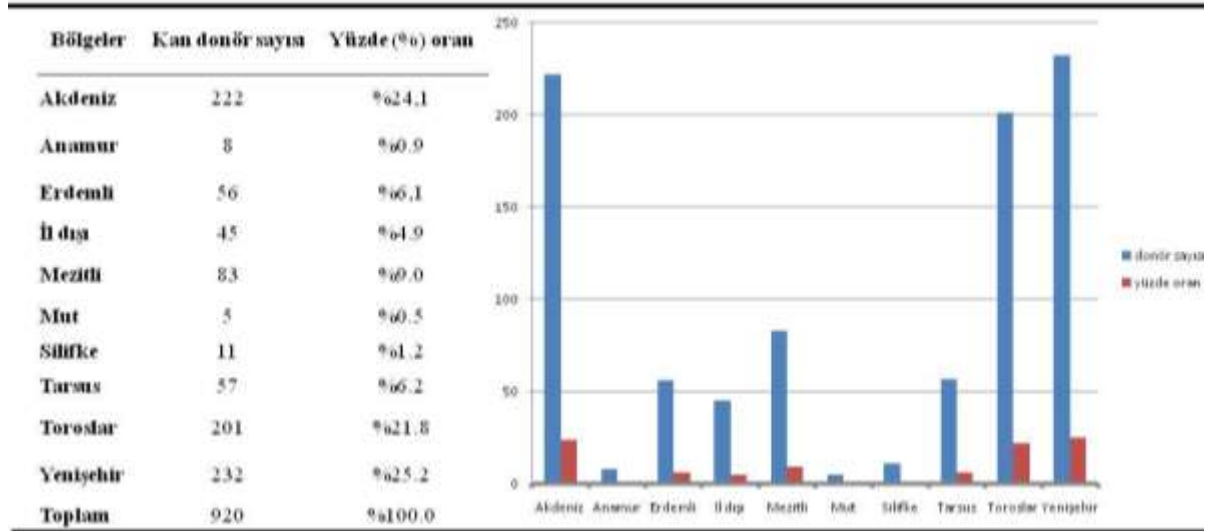
n=920	Anti-Dengue IgG		Anti-Dengue IgM	
	Pozitif	Sınırda pozitif	Pozitif	Sınırda pozitif
Kan donörlerine ait örnekler	132 (%14,3)	21 (%2,3)	2 (0,2%)	6 (0,7%)
Toplam	153 (%16,6)		8 (%0,9)	

IgG varlığı tespit edilen kan donörlerinin yaş ortalaması 41,42, IgM pozitifliği tespit edilen kan donörlerinin yaş ortalaması ise 34,38 olarak tespit edildi (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. IgG ve IgM pozitif kan donörlerinin yaş ortalaması

		YAŞ		
		Ortalama	Standart Sapma	P değeri
IgG	Negatif	33,93	8,80	0,001
	Pozitif	41,42	10,74	
IgM	Negatif	35,19	9,59	0,811
	Pozitif	34,38	6,78	

Sağlıklı kan donörlerine ait örneklerin alındıkları bölgelere göre dağılımlarında Akdeniz bölgesinden 222, Anamur bölgesinden 8, Erdemli bölgesinden 56, il dışından 45, Mezitli bölgesinden 83, Mut bölgesinden 5, Silifke bölgesinden 11, Tarsus bölgesinden 57, Toroslar bölgesinden 201 ve Yenişehir bölgesinden 232 donör olduğu görüldü (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Sağlıklı kan donörlerine ait örneklerin alındıkları bölgelere göre dağılım yüzdesi

Sağlıklı kan donörlerine ait örneklerin alındıkları bölgelerin kendi içindeki IgG pozitiflerin yüzde oranları sırasıyla; Akdeniz 56 (%25,2), Anamur 0 (%0,0), Erdemli 6 (%10,7), il dışı 9 (%20,0), Mezitli 5 (%6,0), Mut 0 (%0,0), Silifke 1 (%9,1), Tarsus 18 (%31,6), Toroslar 23 (%11,4), Yenişehir 35 (%15,1)'tir. İl dışından gelen sağlıklı kan

donörlerinin 8 tanesi pozitif, 1 tanesi ise sınırda pozitif olup bunlar sırasıyla Kahramanmaraş, Şanlıurfa, Niğde, Kastamonu, Hakkari, Mardin, Diyarbakır, Batman ve Muğla illerindedir. İl dışından gelen sağlıklı kan donörlerinde IgM pozitifliğine rastlanmamıştır. Sağlıklı kan donörlerine ait örneklerin alındıkları bölgelerin kendi içindeki IgM pozitiflerin yüzde oranları ise sırasıyla, Akdeniz 4 (%1,8), Anamur 0 (%0,0), Erdemli 0 (%0,0), İl dışı 0 (%0,0), Mezitli 0 (%0,0), Mut 0 (%0,0), Silifke 0 (%0,0), Tarsus 1 (%1,8), Toroslar 1 (%0,5), Yenişehir 2 (%0,9)'dir (Çizelge 4.3).

Yapılan ki-kare analiz sonucuna göre, IgG pozitiflik oranlarının bölgeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturduğu tespit edilirken IgM pozitiflik oranlarının ise bölgeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı belirlendi.

Çizelge 4.3. Bölgelere göre IgG ve IgM dağılımının kendi içindeki yüzde oranları

Bölgeler	IgG		IgM	
	Pozitif sayı (%)	Toplam donör sayısı	Pozitif sayı (%)	Toplam donör sayısı
Akdeniz	56 (%25,2)	222	4 (%1,8)	222
Anamur	0 (%0,0)	8	0 (%0,0)	8
Erdemli	6 (%10,7)	56	0 (%0,0)	56
İl dışı	9 (%20,0)	45	0 (%0,0)	45
Mezitli	5 (%6,0)	83	0 (%0,0)	83
Mut	0 (%0,0)	5	0 (%0,0)	5
Silifke	1 (%9,1)	11	0 (%0,0)	11
Tarsus	18 (%31,6)	57	1 (%1,8)	57
Toroslar	23 (%11,4)	201	1 (%0,5)	201
Yenişehir	35 (%15,1)	232	2 (%0,9)	232
Toplam	153 (%16,6)	920	8 (%0,9)	920

Örneklerin toplandığı aylar dikkate alındığında IgG pozitiflik görülme oranları 2010 Ağustos ve Kasım aylarında sırasıyla %5,2 ve %10,5, 2011 Ocak, Şubat, Mart ve Nisan aylarında ise sırasıyla %13,7, %35,9, %28,8 ve %5,9 olarak bulunmuştur. IgM pozitiflik oranı ise 2010 Kasım ayında %12,5, 2011 Ocak ayında %50,0, Şubat ayında ise %37,5 olarak bulundu (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. IgG ve IgM pozitif kan örneklerinin toplandığı aylara göre dağılımı.

Aylar	IgG				IgM			
	Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Ağustos 2010	88	%11,4	8	%5,2	96	%10,6	0	%0,0
Kasım 2010	72	%9,3	16	%10,5	84	%9,2	1	%12,5
Ocak 2011	112	%14,6	21	%13,7	129	%14,2	4	%50,0
Şubat 2011	273	%35,6	55	%35,9	325	%35,8	3	%37,5
Mart 2011	172	%22,4	44	%28,8	216	%23,8	0	%0,0
Nisan 2011	50	%6,5	9	%5,9	59	%6,5	0	%0,0

4.2. Dengue NS1 Antijen Testi Sonuçları

Kan donörlerine ait plazmalarda, IgM pozitif olarak bulunan örneklerde, DENV ve serotiplerine özgü NS1 antijenin gösterilmesi için “Dengue NS1 Ag kit”i ile antijen varlığı araştırıldı. IgM pozitif bulunan sekiz örneğin üç tanesinde NS1 antijeni pozitif olarak bulundu. Bunlardan iki tanesi pozitif, biri ise sınırda pozitif IgM tespit edilen örneklerdi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Dengue NS1 antijen testi (K: kontrol, T: test)

5. TARTIŞMA

Dengue günümüzde, tropikal ve subtropikal bölgelerde yeniden önem kazanan bir hastalıktır. DA, geçtiğimiz son 20 yıl içinde, etkenin ve sinek vektörlerin genişleyen coğrafik dağılımı ve birden çok serotipin ko-sirkülasyonu sonucu yeni coğrafik alanlarda DHA'nin gelişmesi ile giderek daha da önem kazanmıştır. Özellikle tropikal ve subtropikal ülkelerde şehirleşme bunda en önemli faktördür (58).

Ülkemizde vektörlerle bulaşan viral enfeksiyonlar ile ilgili çalışmalar nispeten sınırlı sayıdadır. Özellikle endemik olduğu ülkelerde önemli halk sağlığı sorunu olarak kabul edilen ve tüm dünyada en yaygın arbovirus enfeksiyonlarından birisi olan DENV enfeksiyonunun ülkemizdeki aktivitesi konusundaki bilinenler oldukça sınırlıdır.

Ülkemizin güney kesimlerinin subtropikal bir bölge olduğu göz önünde bulundurarak, bu çalışmada Mersin bölgesinde yaşayan erişkin popülasyonda bu virusa maruziyetin tespiti ve kan alıcıları yönünden potansiyel tehlikesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, çalışılan kan donörlerine ait plazma örneklerinin %16,6 (153/920)'sında DENV'una özgül IgG sınıfı antikorlar tespit edildi. IgG pozitif olarak bulunan örneklerden %14,3 (132/920)'ü pozitif, %2,3 (21/920)'ü ise sınırda pozitif olarak değerlendirildi. IgM sınıfı antikorlar, çalışılan örneklerin %0,9 (8/920)'unda pozitif bulundu. IgM pozitif olarak değerlendirilen örneklerin %0,2 (2/920)'si pozitif, %0,7 (6/920)'si ise sınırda pozitif olarak değerlendirildi. IgG pozitif saptanan örneklerin bir tanesinde IgM pozitifliği de saptandı.

Yaptığımız çalışmada sağlıklı kan donörlerine ait plazma örneklerinde IgG antikorlarının bulunması ve IgM antikorlarının bulunmaması daha önceden geçirilmiş bir enfeksiyonu göstermektedir. Tespit edilen IgM antikorunu ise muhtemelen son zamanlarda geçirilmiş DENV enfeksiyonunu işaret etmektedir. Dengue virusuna özgül IgG ve IgM antikorlarını ölçmede kullandığımız kit (Vircell Microbiologists, Spain) dört Dengue virus serotipine karşı gelişen antikorları belirlemekte olup, IgG için duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %98 ve %100, IgM için duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %98 ve %99 olarak belirtilmiştir. DENV NS1 Ag kitinin duyarlık ve özgüllüğü ise sırasıyla %92,3 ve %100 olarak belirtilmiştir.

DENV enfeksiyonunun geleneksel tanısında, hemaglutinasyon inhibisyon (HAI) testi, immünokromatografik teknikler, immüblot testi ve IgM yakalayan ELISA veya IgG indirekt ELISA testleri kullanılmaktadır. Test formatlarındaki, kullanılan antijenlerdeki ve tespit sistemlerindeki farklılıklar, her bir testin değerlendirme gücünün tahmin edilmesini zorlaştırmaktadır. Mumtaz ve ark.'nın (3) yapmış oldukları çalışmada daha önce dengue enfeksiyonunun belirlendiği hastalara ait serum örneklerinde, DENV'una özgü IgM antikoru, Human (Human Gesellschaft for Biochemica and Diagnostica mbH Germany), Vircell (Vircell, Santa Fe Granda Spain), Nova Tec (Nova Tec Immunodiagnostica GmbH Germany) ve DRG (DRG International Inc. USA)'den oluşan dört ELISA kit tekniği ile değerlendirilmiştir. Bu çalışmada Vircell test kitinin duyarlılığının yaklaşık %80-90 arasında olduğu bildirilmiştir.

Ülkemizde DENV'unun varlığı ilk defa 1980 yılında Serter'in gerçekleştirdiği çalışmada gösterilmiştir (75). Bu çalışmada, Ege bölgesinde yaşayan toplam 1074 kişinin serum örneği, DENV da dahil olmak üzere birçok arbovirusun seroprevalansı hemaglutinasyon inhibisyon yöntemi ile incelenmiş olup, %12,6 oranında DENV seropozitifliğinin tespit edildiği bildirilmiş ve predominant serotip olarak DENV-2 gözlenmiştir.

Yakın zamanda ise, 2009 yılında Ergünay ve ark. (76) tarafından Orta Anadolu'da 2435 kan donörüne ait serum, Dengue IgG antikoru varlığı yönünden ticari ELISA ve indirekt floresan antikor tekniği ile araştırılmıştır. Örneklerin %0,9'unda DENV'una karşı IgG antikoru saptandığı belirtilmiştir. Yaptığımız çalışma, ülkemizde gerçekleştirilen üçüncü seroprevalans araştırması olup, ülkemizin subtropikal özellikte olan güney bölgelerinde bu virusun varlığı ve dağılımına yönelik daha önceden yapılmış epidemiyolojik çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada 920 plazma örneğinin %16,6 (153/920)'sında IgG pozitifliği tespit edilirken %0,9 (8/920)'unda IgM antikoru tespit edilmiştir. ELISA yöntemiyle DENV IgM pozitif olarak saptanan sekiz örneğin DENV NS1 Ag kit'i ile antijen varlığı araştırıldı ve sekiz örnekten üç tanesinde NS1 antijeni pozitif olarak bulunurken geri kalan 5 örnekte NS1 antijen varlığı görülmemiştir. DENV NS1 Ag pozitif olarak bulunan üç örneğin iki tanesi pozitif, biri ise sınırda pozitif olarak tespit edilen örneklerdi. Geri kalan DENV IgM sınırda pozitif örneklerde NS1 antijeni saptanmamasının nedeni olarak viral yüklerinin az olması düşünülmüştür. Bu sonuçlar

Mersin bölgesinde yaşayan erişkin popülasyonda bu virusa maruziyetin olduğunu ve kan alıcıları yönünden potansiyel bir tehlike oluşabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar, Orta Anadolu'da elde edilen sonuçlardan oldukça yüksektir. Bu kadar yüksek oranda IgG pozitifliğinin bulunmasında, diğer flavivirus antikorlarıyla çapraz reaksiyon ihtimali düşünülmektedir. Yapılacak daha sonraki çalışmalarda bu DENV IgG ve IgM pozitif serum örneklerinin BNV, YFV ve JEV gibi filaviruslar yönünden de taranarak doğrulanması gerekmektedir. Diğer yandan coğrafi farklılığın da bunda önemli bir etmen olduğu düşüncesindeyiz.

Dengue virusunun, enfekte kan transfüzyonu (53), doku (77) ve organ (54) trasplantasyonu ile taşınmasına yönelik birkaç bildiri mevcuttur. Transfüzyon ile DENV taşınmasının, asemptomatik enfeksiyonların yüksek oranı, tespit edilebilir viremi periyodunun kısa olması (ortalama 5 gün) ve özellikle salgınlar sırasında yüksek insidansı sebebiyle birçok donörün donasyon sırasında viremik olabileceği göz önünde bulundurulduğunda, sanılandan daha yaygın olabileceği düşünülmektedir. Asemptomatik bireyler veya semptomlar başlamadan önce viremik bireyler bilmeden kanlarını bağışlayabilmektedirler (53).

Kan donörlerinde DENV'unun prevalansını belirlemeye yönelik birçok çalışma bulunmaktadır.

Porto Rico'da 2008 yılında yapılan çalışmada, 16.521 sağlıklı kan donöründe Gen-Probe transkripsiyon esasına dayalı bir amplifikasyon (TMA, transcription mediated amplification) yöntemi ile DENV RNA'sının varlığını belirlemeye yönelik bir çalışmada, 12 TMA pozitifliği tespit edildiği bildirilmiş. Bu yaklaşık olarak her 1000 donörden 1'inde bu viruse rastlandığı sonucunu çıkarmaktadır. Ayrıca 12 TMA pozitif kanın 3'ünde virus izole edilmiş olup, bu da bu kanların donasyon esnasında enfeksiyona yol açabileceği anlamına gelmektedir (53).

Rodríguez ve ark.'nın (78) 2009 yılında Meksika'da yapmış oldukları çalışmada, 800 (18-75 yaş aralığı) kan donöründe DENV IgG ve IgM antikorlarının varlığını ELISA yöntemiyle (PanBio Dengue IgM-capture ELISA; IgG Indirect ELISA, Brisbane, Australia) araştırmışlardır. Çalışmalar sonucunda anti-DENV IgG %59 ve anti-DENV IgM antikorları ise %2 oranında bulunmuştur.

Azami ve ark.'nın (79) 2011 yılında, Malezya'da yapmış oldukları çalışmada yetişkin popülasyonda IgG seroprevalansını ortaya çıkarmayı amaçlamışlar. Bunun için,

35-74 yaş aralığındaki 1000 tane rastgele seçilen (cross section) serum örneği PanBio Dengue IgG ELISA (Inverness Medical Innovations Australia Pty Ltd, Queensland, Australia) yöntemi ile çalışıldığında %91,6 (916/1000) dengue seropozitifliği bulunmuştur. Yaşın seropozitiflik açısından önemli bir faktör olduğu ve ileri yaşlarda seropozitiflik oranının arttığı belirtilmiştir. Bunun yanı sıra cinsiyet, etnik köken ve kırsal-kentsel alan gibi faktörlerle seropozitiflik arasında doğrudan bir bağlantı bulunmamıştır. Ayrıca araştırmacılar bu kadar yüksek oranda IgG pozitifliğinin bulunmasında, her ne kadar DENV için kullanılan özel ELISA kiti olsa da diğer flavivirus antikorlarıyla (JEV, YFV) çapraz reaksiyon olabileceği ihtimalini de vurgulamışlardır.

Singapur'da 2008 yılında yapılan bir çalışmada, 52 yaşında erkek ve tekrarlayan kan donörü olan asemptomatik bir donör, kan bağışından bir gün sonra ateşlenmiş ve yapılan PZR çalışması sonucunda DENV-2 pozitif olduğu tespit edilmiştir. Bu donörün plazma ve eritrosit kan alıcılarında yapılan PZR çalışmaları sonucunda DENV-2 serotipi tespit edilmiş asemptomatik olan trombosit alıcısında ise DENV'nun ancak serolojik olarak tespit edilebildiği bildirilmiştir. Sonuç olarak donör ve kan alıcılarında tam iyileşme gözlemlendiği belirtilmiştir (48).

Yew ve ark.'nın (80) 2009 yılında Singapur'da 18-74 yaş arasındaki yerleşik popülasyonda yapmış olduğu bir çalışmada DENV seroepidemiolojisini belirlemeyi ve 2004 salgını boyunca asemptomatik dengue enfeksiyonlarının oranını tahmin etmeyi amaçlamışlardır. 2004 yılı Eylül ve Aralık ayları süresince toplanan 4152 serum örneğinin DENV IgG ve IgM antikor varlığı ticari test kitleri (PanBio Capture/Indirect ELISA) kullanılarak araştırılmıştır. Çalışma popülasyonunun %59,0'u IgG, %2,6'sı ise IgM antikoları açısından pozitif bulunmuştur. 18-24 yaş arası grubun sadece %17,2'si IgG pozitifdir. Multivariate (çok değişkenli) analizler Hint etnik kökenli yaşlı ve erkek bireyler ile IgG pozitifliği arasında ilişki olduğunu göstermiştir. Anket çalışmaları süresince her 23 kişiden sadece bir tanesinin klinik vaka olarak rapor edildiği sonucu ortaya çıkmıştır.

Wilder-Smith ve ark.'nın (58) 2004 yılında Singapur'da yapmış oldukları çalışmada 15-45 yaşları arasında rastgele seçilen 298 asemptomatik gönüllüye ait kan örneklerinden ELISA ile Dengue IgG varlığı araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 298 kan

örneğinin 133 (%45)'ünün Dengue IgG antikorları açısından pozitif bulunduğu belirtilmiştir.

Malavige ve ark.'nın (81) 2006 yılında Sri Lanka, Kolombo'da dört okulda 6-17 yaş aralığındaki 313 çocuğun kan örnekleri DENV IgG antikor varlığı açısından ELISA (PanBio, Australia) yöntemi ile çalışılmıştır. Sonuç olarak %34,1 (107/313) oranında IgG pozitifliği bulunmuştur. Ayrıca yaş arttıkça seropozitiflik oranının da arttığı sonucu ortaya çıkmıştır. Dengue pozitif serumlar iki kat dilüsyonla tekrar çalışılmış ve antikor titresindeki artışla donör yaşı arasında bir bağlantı kurulamadığı belirtilmiştir.

Dengue virusunun organ transplantasyonu ile taşınması ile ilgili olarak, 2005 yılında Tan ve ark.'nın (54) Singapur'da yapmış oldukları çalışmada, 23 yaşında böbrek yetmezliği olan erkek hastaya annesinden yapılan böbrek transplantasyonu sonucunda, annesinin ameliyattan 6 hafta önce geçirmiş olduğu DENV enfeksiyonuna bağlı olarak, ameliyat sonrasındaki süreçte yapılan RT-PZR sonucunda DENV-1 serotipine rastlandığı bildirilmiştir.

Sissoko ve ark.'nın (82) 2010 yılında yaptıkları çalışmada, Güneybatı Hint Okyanusu Adaları'nda DENV varlığı belgelenmiş olmasına rağmen buraya komşu Mayotte'de DENV varlığına dair zayıf bilgiler olduğundan, Mayotte'deki DENV IgG antikorlarının seroprevalansının bulunması amaçlanmıştır. Bunun için 2006 Kasım-Aralık aylarında iki yaşından büyük rastgele seçilen 1154 kişinin serum örnekleri DENV IgG antikor (Dengue Fever Virus IgG Focus Diagnostics, Cypress CA, USA) varlığı açısından serolojik olarak incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda DENV IgG antikor pozitifliği %22,7 oranında bulunmuştur. Multivariate (çok değişkenli) analizler, Komaros'ta doğan ve yaşayan düşük sosyoekonomik düzeyli yaşlı bireyler ile DENV IgG antikor pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

2006 yılında Hindistan'da Gupta ve ark. (25) 2003, 2004 ve 2005 yıllarında tüm Hindistan Tıbbi Bilimler Enstitülerinde toplanan 1820 serum örneğini dahil ettikleri çalışmada bu dönemde ortaya çıkan dengue vakalarının serolojik olarak kıyaslanması amaçlanmıştır. Toplanan 1820 serum örneği dengue IgM antikorları (IgM capture ELISA PanBio, Australia) açısından test edilmiş, serotiplendirme ise RT-PZR yöntemi ile yapılmış (QIA amp viral RNA mini kit, Qiagen, Germany) ve bunların toplamda 811 (%44.5) tanesinin dengue virus IgM antikorları açısından pozitif bulunduğu belirtilmiştir. Yıllara göre dağılım kıyaslandığında ise 2005 yılında (%23,8) diğer

yıllara oranla (2003 yılında %10,3, 2004 yılında %10,5) daha fazla dengue vakası görülmüştür ve DENV-3'ün baskın serotip olarak bulunduğu belirtilmiştir. Ayrıca araştırmacılar, muson yağmurları (Eylül-Kasım) sonrasında özellikle Ekim ayının 2-3. haftalarında bir artış olduğunu belirtmişlerdir.

Garg ve ark. (83) 2011 yılında DENV'nun seroprevalansını araştırmak için Kuzey Hindistan'nın, Kanpu şehrinde 5 yılı kapsayan retrospektif bir çalışma yapmışlardır. Ocak 2006-Aralık 2010 tarihleri arasında dengue şüpheli 1227 kan örneği toplamışlar ve ELISA (Panbio Pty limited, Queensland, Australia) yöntemiyle IgM ve IgG antikor varlığını araştırmışlardır. Sonuç olarak %19,7 (242/1227) oranında dengue pozitifliği bulunmuş ve bu pozitiflerin %8 (18/242)'inin primer, %92 (224/242)'sinin ise sekonder enfeksiyon olduğu belirtilmiştir. Enfeksiyonun, beş yıl boyunca Ocak-Temmuz ayları arasında gözlenmediği, Ağustos ayından itibaren yayılmaya başlayıp Ekim ayında en üst seviyeye ulaştığı ve Aralık ayında ise azalmaya başladığı belirtilmiştir. Yaş aralığı olarak ise 0-5 yaş arası (pediyatrik grup)'nın en çok etkilendiğini ve bunu 16-30 yaşın izlediğini vurgulamışlardır.

Hati ve ark.'nın (84) 2009 yılında Hindistan'nın Batı Bengal eyaletinde yaptıkları çalışmada, 2005 Ağustos ayında başlayan ve Batı Bengal boyunca devam eden dengue salgınında ELISA yöntemi ile IgM ve IgG antikor varlığı araştırılarak serosürveyans bilgilerinin elde edilmesi ve bu salgında mevsimsel bir bağlantı olup olmadığının saptanması amaçlanmıştır. Çalışmaya 2005 Ağustos-2007 Aralık tarihleri arasındaki dengue şüpheli 1668 (2005:868, 2006:627, 2007: 173) vaka dahil edilmiştir. Toplamda %18,1 (302/1668; 101/302 primer dengue enfeksiyonu, 201/302 sekonder dengue enfeksiyonu) oranında dengue pozitifliği bulmuşlardır. Belirlenen 101 adet primer dengue enfeksiyonu pozitifliğinin yıllara göre dağılımına bakıldığında 2005 yılında 77 (%34,3), 2006: 23 (%37,0), 2007: 1 (%6,2), 201 sekonder dengue enfeksiyonunun yıllara göre dağılımına bakıldığında; 2005 yılında 147 (%65,6), 2006: 39 (%62,9), 2007: 15 (%93,7) şeklindedir. Primer ve sekonder dengue enfeksiyonunun en çok görüldüğü ayın Eylül olması ise muson mevsimi sonrası olarak yorumlanmıştır.

Hindistan'da yapılan bu çalışmalar, Ekim ayında (muson yağmurları dönemi) DENV seroprevalansında artış olduğunu göstermektedir. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da IgM pozitifliğinin görüldüğü ayların Kasım, Ocak ve Şubat ayları olduğu

tespit edilmiştir. Bunun sebebi olarak bu aylardaki yağış miktarının fazla olması düşünülmektedir.

Diğer yandan, DENV'u ile ilgili klinik olguları belirlemeye yönelik çalışmalar da bulunmaktadır.

Ukey ve ark.'nın (85) 2010 yılında Hindistan'da yapmış olduğu çalışmada, dengue, DHA veya DSS'ndan şüphelenilen hastalar arasından 131 pediyatrik kan örneği toplanmıştır. Serumlar anti-dengue IgM ve IgG varlığı açısından immünokromotografik test yöntemi (Standard Diagnostics, Inc., Korea) ile test edilmiştir. Alınan 131 kan örneğinin 41 (%31,3)'inin IgM-IgG antikoru açısından pozitif bulunduğu belirtilmiştir.

DA, epidemik bir hastalık olarak son yıllarda Pakistan'da önem kazanmıştır. Siddiqui ve ark. (86) 2009 yılında Pakistan'ın Karachi şehrinde iki gecekondu bölgesinde Haziran 1999-Aralık 2001 dönemini kapsayan retrospektif bir çalışma yapmışlardır. Kan örnekleri 16 yaşından büyük ve 72 saatten fazla 38°C veya daha yüksek ateşi olan çocuklardan alınmıştır. Yaygın görülen enfeksiyonlar klinik muayene ve laboratuvar testleri sonucu ekarte edilmiştir (kan kültürü, idrar analizi, tam kan sayımı, tifoid [Typhidot® test], malarya için mikroskopi). 341 kan örneği dengue IgM ELISA (Diagnostic Automation, Inc., Calabasas, CA, USA) yöntemiyle araştırıldığında %47,4 (114/341) oranında pozitiflik bulunmuştur. DA'nin bu toplumdaki insidansı yılda her 100.000 kişide 185 olasılığında olarak belirtilmiştir.

Vektörler aracılığı ile bulaşan hastalıkların sorun oluşturabilmeleri için vektör-parazit-konak üçlüsünün aynı ortamda bulunması ve bunların birlikte yaşamasına olanak sağlayacak ilişkili iklimsel faktörlerin de elverişli olması gerekmektedir. Dünyamız, günümüzde çeşitli baskıların altında iklimsel bir değişime uğramaktadır. Yapılan ölçümlere göre dünyanın ortalama sıcaklığı önümüzdeki 50-100 yıl içerisinde 2-4°C artacaktır. İşte bu artış, bugün üçlünün birlikte olamadığı birçok ülkede, yakın gelecekte önemli iklimsel değişiklikler sonucu bir arada bulunabilir (70).

Örneğin, DENV için temel vektör *A. aegypti*'dir ancak diğer *Aedes* cinsi sivrisineklerin, özellikle de *A. albopictus*'un da bulaşa neden olduğu bilinmektedir. Ülkemizde *A. albopictus*'un varlığı henüz gösterilememiştir fakat coğrafi ve ekolojik özellikler göz önüne alındığında bu tür ya da vektör olarak görev yapabilecek diğer türlerin bulunabilmesinin mümkün olduğu dikkati çekmektedir (87). Nitekim

Bulgaristan'da 1960'lı yılların başından itibaren görülmeyen sıtma, yine belirtilen nedenlerden dolayı, 1996 yılında tekrar görülmeye başlamış ve günümüzde bu ülkenin önemli halk sağlığı sorunları arasında yerini almıştır (70).

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, yaptığımız bu çalışmada, Mersin bölgesinde yaşayan sağlıklı popülasyonu temsilen kan donörlerinde %16,6 oranında DENV IgG ve %0,9 oranında DENV IgM seropozitifliği bulunmuştur.

Ülkemizde son zamanlarda yapılan farklı bir çalışma ile karşılaştırıldığında, bu kadar yüksek oranda IgG pozitifliğinin bulunmasında, diğer flavivirus antikolarıyla çapraz reaksiyon ihtimali düşünülmektedir. Yapılacak daha sonraki çalışmalarda bu DENV IgG ve IgM pozitif serum örneklerinin Batı Nil Virusu, Sarı Humma Virusu ve Japon Ensefalit Virusu gibi filaviviruslar yönünden de taranarak doğrulanması gerekmektedir.

Yaptığımız bu çalışma ile virusun sirkülasyonu bölgemizde belirlenmiş olup, kan donörlerinin DENV ile temas ettiğini belirgin bir şekilde ortaya koymaktadır. Bu çalışma ile bölgeye ait ilk epidemiyolojik veriler elde edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. **Gubler DJ.** Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev.* **1998**; 11(3):480-496.
2. **Sekaran SD, Lan EC, Maheswarappa KB, Appanna R, Subramaniam G.** Evaluation of a Dengue NS1 capture assay for the rapid detection of Dengue. *J Infect Developing Countries* **2007**; 1(2):182-188.
3. **Mumtaz A, Afzal N, Sami W, Tahir R, Javeed K, Mehmood S.** Evaluation of four ELISA based immunoassays for the detection of IgM antibodies against dengue virus. *Biomedica* **2010**; 26:54-57.
4. **Vaughn DW, Nisalak A, Solomon T, Kalayanarooj S, Dung NM, Kneen R, Cuzzubbo A, Devine PL.** Rapid serologic diagnosis of dengue virus infection using a commercial capture ELISA that distinguishes primary and secondary infections. *Am J Trop Med Hyg*, **1999**; 60(4):693-698.
5. **Bandyopadhyay S, Lum LCS, Kroeger A.** Classifying dengue: a review of the difficulties in using the WHO case classification for dengue haemorrhagic fever. *Trop Med International Health* **2006**; 11(8):1238-1255.
6. Dengue and dengue haemorrhagic fever, *WHO Fact Sheet* No 117 (November 1998).
7. **Gurukumar KR, Priyadarshini D, Patil JA, Bhagat A, Singh A, Shah PS, Cecilia D.** Development of real time PCR for detection and quantitation of Dengue Viruses. *Viol Journal.* **2009**; 23(6):10.
8. **Schwartz E, Mileguir F, Grossman Z, Mendelson E.** Evaluation of ELISA-based sero-diagnosis of dengue fever in travelers. *J Clin Virol*, **2000**; 19(3):169-173.
9. **Malavige GN, Fernando S, Fernando DJ, Seneviratne SL.** Dengue viral infections. *Postgrad Med J*, **2004**; 80:588-601.
10. **Gautret P, Simon F, Hervius Askling H, Bouchaud O, Leparac-Goffart I, Ninove L, Parola P; EuroTravNet.** Dengue type 3 virus infections in European travellers returning from the Comoros and Zanzibar, February-April 2010. *Euro Surveill.* **2010**; 15(15):19541.
11. **Weaver SC, Reisen WK.** Present and future arboviral threats. *Antiviral Research*, **2010**; 85:328-345.
12. **Öter K.** İstanbul'da Görülen Sivrisinek Türlerinin Tespiti. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, **2007**.
13. **Serter D.** Arbovirus İnfeksiyonlarında Tanı İlkeleri, XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Klimik **2007**.
14. **Gökahmetoğlu S.** Hemorojik Ateş Etkeni Viruslar, İnfeksiyon Dergisi **2006**; 20(2):137-144.
15. **Whitehorn J, Farrar J.** Dengue. *British Medical Bulletin*, **2010**; 95:161-173.

16. **Strauss JH, Strauss EG.** Viruses And Human Disease. 2 Ed, California: Elseiver, **2008**: 106-112.
17. **Serter D.** Flaviviruslar. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2002**: 1247-1248.
18. **Liev SC.** Development of Novel Vaccines for the Concurrent Immunisation against Multiple Dengue Virus Serotypes. Doktora tezi, School of life science, Quesland university of technology, Australia, **2006**.
19. **Teo DNg, LC, Lam S.** Is dengue a threat to the blood supply?. *Transfusion Medicine*, **2009**;19:66–77.
20. **Chan KS, Chang JS, Chang K, Lin CC, Huang JH, Lin WR, Chen TC, Hsieh HC, Lin SH, Lin JC, Lu PL, Chen YH, Lin CY, Tsai JJ.** Effect of serotypes on clinical manifestations of dengue fever in adults. *J Microbiol Immunol Infect.* **2009**; 42(6):471-478.
21. **Murphy BR, Whitehead SS.** Immune Response to Dengue Virus and Prospects for a Vaccine. *Laboratory of Infectious Diseases, National Institutes of Allergy and Infectious Diseases*, **2011**; 29:587–619.
22. **Ross TM.** Dengue Virus. *Clin Lab Med*, **2010**; 30:149–160.
23. **Messer WB, Gubler DJ, Harris E, Sivananthan K, Silva AM.** Emergence and global spread of a dengue serotype 3, subtype III virus. *Emerg Infect Dis* **2003**; 9:800–809.
24. **Savage HM, Fritz CL, Rutstein D, Yolwa A, Vorndam V, Gubler DJ.** Epidemic of dengue-4 virus in Yap State, Federated States of Micronesia, and implication of Aedes hensilli as an epidemic vector. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **1998**; 58:519–524.
25. **Gupta E, Dar L, Kapoor G, Broor S.** The changing epidemiology of dengue in Delhi, India. *Virology Journal*, **2006**; 3:92.
26. **Ooi EE, Goh KT, Gubler DJ.** Dengue prevention and 35 years of vector control in Singapore. *Emerging Infectious Diseases*, **2006**; 12:887–893.
27. **Anderson JR, Rico Hesse R.** Aedes aegypti vectorial capacity is determined by the infecting genotype of dengue virus. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **2006**; 75(5):886–892.
28. **Ashley EA.** Dengue fever. *Trends in Anaesthesia and Critical Care*, **2011**;39-41.
29. **Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA.** Togaviruslar ve Flaviviruslar, Tıbbi Mikrobiyoloji. 6. Baskı, Ankara: Atlas Kitap, **2010**:609-620.
30. **Guzman A, Istúriz RE.** Update on the global spread of dengue. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **2010**; 36: 40–42.
31. **Hemungkorn M, Thisyakorn U, Thisyakorn C.** Dengue infection: a growing global health threat. *Biosci Trends*. **2007**;1(2):90-96.
32. **Chareonsook O, Foy HM, Teeraratkul A, Silarug N.** Changing epidemiology of dengue hemorrhagic fever in Thailand. *Epidemiol Infect*, **1999**; 122:161–166.

33. **Ha DQ, Tien NT, Huong VT, Loan HT, Thang CM.** Dengue epidemic in Southern Vietnam, 1998. *Emerg Infect Dis* **2000**; 6:422–425.
34. **Messer WB, Vitarana UT, Sivananthan K, Elvtigala J, Preethumala LD, Ramesh R, Withana N, Gubler DJ, Silva A.** Epidemiology of dengue in Sri Lanka before and after the emergence of epidemic dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* **2002**; 66(6):765–773.
35. **Dar L, Broor S, Sengupta S, Xess I, Seth P.** The First major outbreak of dengue hemorrhagic fever in Delhi, India. *Emerg Infect Dis* **1999**; 5:589–590.
36. **Guzman MG, Kouri G, Vazquez S, D. Rosario, J. Bravo, Valdés L.** DHF epidemics in Cuba, 1981 and 1997: some interesting observations. *Dengue Bulletin* **1999**; 23:39–43.
37. **Guzman MG, Kouri G.** Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: lessons and challenges. *J Clin Virol* **2003**; 27:1-13.
38. **Halstead SB, Streit TG, Lafontant JG, Putvatana R, Russell K, Sun W, Thasan NK, Hayes CG, Watts DM.** Haiti: absence of dengue hemorrhagic fever despite hyperendemic dengue virus transmission. *Am J Trop Med Hyg* **2001**; 65(3):180–183.
39. **Amarasinghe A, Kuritsky JN, Letson GW, Margolis HS.** Dengue Virus Infection in Africa. *Emerging Infectious Diseases*, **2011**; 17(8):1349-1354.
40. **Jelinek T, Muhlberger N, Harms G, Corachán MP, Grobusch MP, Knobloch J, Bronner U, Laferl H, Kapaun A, Bisoffi Z, Clerinx J, Puente S, Fry G, Schulze M, Hellgren U, Gjørup I, Chalupa P, Hatz C, Matteelli A, Schmid M, Nielsen LN, Cunha S, Atouguia J, Myrvang B, Fleischer K.** Epidemiology and clinical features of imported dengue fever in Europe: sentinel surveillance data from TropNetEurop. *Clin Infect Dis*, **2002**; 35:1047–1052.
41. **Jelinek T.** Trends in epidemiology of dengue fever and their relevance for importation to Europe. *Euro Surveill*, **2009**; 14(25):pii=19250.
42. **Halstead SB, Lan NT, Myint TT, Shwe TN, Nisalak A, Kalyanarooj S, Nimmannitya S, Soegijanto S, Vaughn DW, Endy TP.** Dengue hemorrhagic fever in infants: research opportunities ignored. *Emerg Infect Dis*, **2002**; 8:1474–1479.
43. **Huang YH, Liu CC, Wang ST, Lei HY, Liu HS, Lin YS, Wu HL, Yeh TM.** Activation of coagulation and fibrinolysis during dengue virus infection. *Journal of Medical Virology*, **2001**; 63:247–251.
44. **Van Gorp EC, Suharti C, Mairuhu AT, Dolmans WM, Ven J, Demacker PN, Meer JWM.** Changes in the plasma lipid profile as a potential predictor of clinical outcome in dengue hemorrhagic fever. *Clin Infect Dis*, **2002**; 34:1150–1153.
45. **Wiwanitkit V.** Non vector-borne transmission modes of dengue. *J Infect Dev Ctries*, **2010**; 4(1):051-054.
46. **Sirinavin S, Nuntnarumit P, Supapannachart S, Boonkasidecha S, Techasaensiri C, Yoksarn S.** Vertical Dengue Infection. *Pediatr Infect Dis J*, **2004**; 23:1042-1047.
47. **Seed CR, Kiely P, Hyland CA, Keller AJ.** The risk of dengue transmission by blood during a 2004 outbreak in Cairns, Australia. *Transfusion*, **2009**; 49:1482-1487.

48. **Tambyah PA, Koay ESC, Poon MLM, Lin R, Ong B.** Dengue Hemorrhagic Fever Transmitted by Blood Transfusion. *The New England Journal of Medicine*, **2008**; 359:1526-1527.
49. **Chuang VWM, Wong TY, Ma ESK, Tsang OTY, Chan KM, Tsang IHL, Oue TL, Yung RWH, Liu SH.** Review of dengue fever cases in Hong Kong during 1998 to 2005. *Hong Kong Med J*, **2008**; 14:170-177.
50. **Beckett CG, Kosasih H, Faisal I, Nurhayati, Tan R, Widjaja S, Listiyaningsih E, Ma'roef C, Wuryadi S, Bangs MJ, Samsi TK, Yuwono D, Hayes CG, Porter KR.** Early Detection Of Dengue Infections Using Cluster Sampling Around Index Cases. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, **2005**; 72(6): 777–782.
51. **Rodríguez MLG, Rodriguez DRR, Blitvich BJ, López MAR, Fernández-Salas IF, Jimenez JR, Farfán-Ale JA, Tamez RC, Longoria CM, Aguilar MIT, Rivas-Estilla AM.** Serologic surveillance for West Nile virus and other flaviviruses in febrile patients, encephalitic patients, and asymptomatic blood donors in northern Mexico. *Vektor Borne And Zoonotic Diseases*, **2010**; 10(2):151-157.
52. **Méndez F, Barreto M, Arias JF, Rengifo G, Muñoz J, Burbano MAE, Parra B.** Human and mosquito infections by dengue viruses during and after epidemics in a dengue-endemic region of Colombia. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, **2006**; 74(4): 678–683.
53. **Mohammed H, Linnen JM, Muñoz-Jordán JL, Tomashek K, Foster G, Broulik AS, Petersen L, Stramer SL.** Dengue virus in blood donations, Puerto Rico, 2005. *Transfusion*, **2008**; 48:1348-1354.
54. **Tan FL, Loh DL, Prabhakaran K, Tambyah PA, Yap HK.** Dengue haemorrhagic fever after living donor renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. **2005**; 20(2):447-448.
55. **Rigau-Pérez JG, Laufer MK.** Dengue-related deaths in Puerto Rico, 1992-1996: diagnosis and clinical alarm signals. *Clin Infect Dis*, **2006**; 42:1241-1246.
56. **Wagner D, With K, Huzly D, Hufert F, Weidmann M, Breisinger S, Eppinger S, Kern WV, Bauer TM.** Nosocomial acquisition of dengue. *Emerg Infect Dis*, **2004**; 10:1872-1873.
57. **Lee KS, Lai YL, Lo S, Barkham T, Aw P, Ooi PL, Tai JC, Hibberd M, Johansson P, Khoo SP, Ng LC.** Dengue virus surveillance for early warning, Singapore. *Emerg Infect Dis*. **2010**;16(5):847-849.
58. **Wilder-Smith A, Foo W, Earnest A, Sremulanathan S, Paton NI.** Seroepidemiology of dengue in the adult population of Singapore. *Trop Med Int Health*. **2004**;9(2):305-308.
59. **Lambrechts L, Scott TW, Gubler DJ.** Consequences of the expanding global distribution of *Aedes albopictus* for dengue virus transmission. *PLoS Negl Trop Dis*. **2010**; 25;4(5):e646.
60. **Özer N.** Batı Nil Virusu Ve Vektörleri. *Mikrobiyoloji Bülteni*, **2006**; 40:121-128.
61. **Jansen CC, Beebe NW.** The dengue vector *Aedes aegypti*: what comes next. *Microbes and Infection*, **2010**; 12:272-279.
62. **Reiter P.** *Aedes albopictus* and the world trade in used tires, 1988-1995: the shape of things to come?. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **1998**;14 (1):83-94.

63. **Gubler DJ, Clark GG.** Dengue/dengue hemorrhagic fever: the emergence of a global health problem. *Emerg. Infect. Dis*, **1995**; (1):55-57.
64. **Halstead SB.** Dengue in the Americas and Southeast Asia: do they differ?. *Rev. Panam. Salud. Publica*, **2006**; 20(6):407-415.
65. **Reiter P.** Climate change and mosquito-borne disease. *Environmental Health Perspectives*, **2001**; 109(1):141-161.
66. **Tayagi BK, Hiriyan J.** Breeding of dengue vector *Aedes aegypti* (Linnaeus) in rural Thar desert, North-western Rajasthan, India. *Dengue Bull*, **2004**; 28:220-222.
67. **Pontes RJS, Freeman J, Oliveira-Lima JW, Hodgson JC, Spielman A.** Vector densities that potentiate dengue outbreaks in a Brazilian city. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, **2000**; 62:378-383.
68. **Sutherst RW.** Global change and human vulnerability to vector-borne diseases. *Clin. Microbiol. Rev.*, **2004**; 17(1):136-173.
69. **Reiter P, Lathrop S, Bunning M, Biggerstaff B, Singer D, Tiwari T, Baber L, Amador M, Thirion J, Hayes J, Seca C, Mendez J, Ramirez B, Robinson J, Rawlings J, Vorndam V, Waterman S, Gubler D, Clark G, Hayes E.** Texas lifestyle limits transmission of dengue virus. *Emerg. Infect. Dis*, **2003**; 9:86-89.
70. **Alten B, Çağlar SS.** Vektör Ekolojisi Ve Mücadelesi, Sağlık Bakanlığı, 1. Baskı **1998**, **Ankara**.
71. **Van Benthem BH, Khantikul N, Panart K, Kessels PJ, Somboon P, Oskam L.** Knowledge and use of prevention measures related to dengue in northern Thailand. *Trop Med Int Health*, **2002**;7:993-1000.
72. **Yarsan E, Çevik A.** Vektör Mücadelesinde Biyopestisidler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, **2007**; 64(1):61-70.
73. **Katyral R, Tewari P, Rahman SJ, Pajni HR, Kumar K, Gill KS.** Susceptibility status of immature and adult stages of *Aedes aegypti* against conventional insecticides in Delhi, India. *Dengue Bulletin*, **2001**; 25:84-87.
74. **Bulugahapitiya U, Siyambalapitiya S, Seneviratne SL, Fernando DJS.** Dengue fever in travellers: A challenge for European physicians. *European Journal of Internal Medicine*, **2007**; 18:185-192.
75. **Serter D.** Present status of arbovirus sero-epidemiology in Aegean region of Turkey. *Zbl Bakt* **1980** (9):155-161.
76. **Ergünay K, Saygan MB, Aydoğan S, Litzba N, Niedrig M, Pınar A, Us D.** Investigation of Dengue virus and yellow fever virus seropositivities in blood donors from Central/Northern Anatolia, Turkey. *Mikrobiyol Bul.* **2010**; 44(3):415-424.
77. **Rigau-Pérez JG, Vorndam AV, Clark GG.** The dengue and dengue hemorrhagic fever epidemic in Puerto Rico, 1994-1995. *Am J Trop Med Hyg*, **2001**; 64(1-2):67-74.

78. **Rodríguez DR, Rodríguez MG, Chavarria AM, Jiménez JR, Rivera MA, Taméz RC, Ale JF, Rivas-Estilla AM.** Dengue virus antibodies in blood donors from an endemic area. *Transfusion Medicine*, **2009**; 19:125–131.
79. **Azami NAM, Salleh SA, Neoh H, Zakaria SZS, Jamal R.** Dengue epidemic in Malaysia: Not a predominantly urban disease anymore. *BMC Research Notes*, **2011**; 4:216.
80. **Yew YW, Ye T, Ang LW, Ng LC, Yap G, James L, Chew SK, Goh KT.** Seroepidemiology of Dengue Virus Infection Among Adults in Singapore. *Ann Acad Med Singapore*, **2009**; 38:667-675.
81. **Malavige GN, Fernando S, Aaskov J, Sivayogan S, Dissanayaka Ta, Peelawattage MK, Dabare M.** Seroprevalence of Anti-dengue Virus Antibodies in Children in Colombo District, Sri Lanka. *Dengue Bulletin*, **2006**; 30:68-71.
82. **Sissoko D, Ezzedine K, Giry C, Moendandze´ A, Lernout T, D’Ortenzio E, Pettinelli F, Malvy D.** Seroepidemiology of Dengue Virus in Mayotte, Indian Ocean, 2006. *PLoS ONE*, **2010**; 5(11):e14141.
83. **Garg A, Garg J, Rao YK, Upadhyay GC, Sakhuja S.** Prevalence of dengue among clinically suspected febrile episodes at a teaching hospital in North India. *Journal of Infectious Diseases and Immunity*, **2011**; 3(5):85-89.
84. **Hati AK.** Dengue serosurveillance in Kolkata, facing an epidemic in West Bengal, India. *J Vector Borne Dis*, **2009**; 46:197–204.
85. **Ukey PM, Bondade SA, Paunipagar PV, Powar RM, Akulwar SL.** Study of Seroprevalence of Dengue Fever in Central India. *Indian J Community Med*, **2010**; 35(4):517–519.
86. **Siddiqui FJ, Haider SR, Bhutta ZA.** Endemic Dengue Fever: a seldom recognized hazard for Pakistani children. *J Infect Dev Ctries*, **2009**; 3(4):306-312.
87. **Knudsen AB, Romi R, Majori G.** Occurrence and spread in Italy of *Aedes albopictus*, with implications for its introduction into other parts of Europe. *J Am Mosq Control Assoc*, **1996**; 12:177-183.

ÖZGEÇMİŞ

16.01.1985 tarihinde Şanlıurfa ilinde doğdu. Liseyi İstanbul'da tamamladı. 2003 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde lisans eğitimine başladı ve 2007 yılında mezun oldu. 2007 yılında Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orta Öğretim Fen ve Matematik Alanları Eğitimi Bölümü'nde tezsiz yüksek lisans eğitimine başladı ve 2008 yılında mezun oldu. 2008 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.

Halen Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrencisi olarak öğrenimine devam etmektedir.