

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK BAKTERİYOLOJİ
VE
İNFEKSİYON HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**KIRIM-KONGO KANAMALI ATEŞ HASTALARINDA ARDIŞIK
SERUM SİTOKİN SEVİYELERİ, VİRÜS TİTRELERİ VE ORAL
RİBAVİRİN TEDAVİSİNİN ETKİSİ**

**Dr. Şafak KAYA
UZMANLIK TEZİ**

**SİVAS
2007**

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK BAKTERİYOLOJİ
VE
İNFEKSİYON HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**KIRIM-KONGO KANAMALI ATEŞ HASTALARINDA ARDIŞIK
SERUM SİTOKİN SEVİYELERİ, VİRÜS TİTRELERİ VE ORAL
RİBAVİRİN TEDAVİSİNİN ETKİSİ**

**Dr. Şafak KAYA
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Nazif ELALDI**

**SİVAS
2007**

TEŐEKKÜR

Asistanlık dönemim boyunca benden yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Mehmet Bakır'a, Sayın Prof. Dr. İlyas Dökmetaş'a, tez danışman hocam Sayın Doç. Dr. Nazif Elaldı'ya, Sayın Yrd. Doç. Dr. Aynur Engin'e ayrıca tez çalışmamda emeği geçen GATA Viroloji Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Tabip Albay Ayhan Kubar'a ve Sayın Doç. Dr. Hafize Sezer'e teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	vi
SUMMARY.....	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	viii
TABLolar.....	x
ŞEKİLLER ve GRAFİKLER.....	xi
1.GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Kırım-Kongo kanamalı ateş.....	3
2.1.1.Tanım.....	3
2.1.2.Epidemiyoloji.....	3
2.1.3.Seroepidemiyojik araştırmalar.....	4
2.1.4.Etken.....	5
2.1.5.Bulaşma.....	5
2.1.6.Klinik bulgular ve hastalığın seyri.....	6
2.1.7.Patogenez.....	7
2.1.8.Teşhis.....	12
2.1.9.Ayırıcı tanı.....	14
2.1.10.Laboratuar bulguları.....	14
2.1.11.Tedavi.....	14
2.1.11.1.Destek tedavisi.....	14
2.1.11.2.Antiviral tedavi.....	15
2.1.12.Korunma ve kontrol.....	16
2.1.13.KKKA virüsü ve biyoterörizm.....	17
2.2.Sitokinler.....	17
2.2.1.Başlıca sitokinler ve özellikleri.....	20
2.3.Yaygın damariçi pıhtılaşması.....	22
2.3.1.Tanım.....	22
2.3.2.Etyoloji.....	22

2.3.3. Altta yatan hastalıklar.....	22
2.3.4. Fizyopatoloji.....	23
2.3.4.1. Trombin oluşumu.....	24
2.3.4.2. Fizyolojik antikoagülan yolların inhibisyonu.....	24
2.3.4.3. Kusurlu fibrinolizis.....	24
2.3.4.4. Koagülasyon ve inflamasyon arasındaki etkileşim.....	25
2.3.5. Laboratuvar tanısı.....	27
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	29
3.1 Çalışmanın şekli.....	29
3.2 Olgu seçimi ve ribavirin tedavisi.....	29
3.3 Sağlıklı Kontrol gurubu ve Hasta Kontrol gurubunun seçilmesi.....	33
3.4 Tanıya yönelik test çalışmaları.....	33
3.4.1 Hasta serumlarının elde edilmesi ve saklanması.....	33
3.4.2 Serolojik, virolojik testler ve KKKA hastalarının tanısı.....	35
3.5 Hematolojik, biyokimyasal ve diğer testler.....	35
3.6 Serum sitokin ve anti-CCHFV IgG seviyelerinin ölçülmesi.....	35
3.7 YDP skorlamasının hesaplanması.....	36
3.8 İstatistiksel analiz.....	37
4. BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA.....	66
6. SONUÇLAR.....	84
7. KAYNAKLAR.....	85

ÖZET

Günümüze kadar Kırım-Kongo kanamalı ateşi (KKKA)'nin patogenezinde sitokinlerin rolü netlik kazanmamıştır. Biz burada KKKA hastalarının serum virüs titreleri, sitokin seviyelerini araştırdık. Ribavirin, KKKA hastalığı için potansiyel bir terapötik ajan olduğu düşünülen antiviral bir ilaçtır. Biz, ayrıca KKKA hastalarında serum virüs titresi ve sitokin seviyeleri üzerine oral ribavirin tedavisinin etkinliğini de değerlendirdik.

Bu çalışmaya 2005 yılında, KKKA salgını esnasında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesine KKKA hastalığını düşündüren akut infeksiyon tablosu ile başvuran hastalar dahil edildi. Tüm hastalardan gelişde ve takip edildiği 7 gün süresince uygun şekilde seroloji, viroloji ve sitokin analizleri için serum örnekleri toplandı. Ek olarak tüm hastalarda rutin kan ve biyokimyasal tetkikler çalışıldı. KKKA virüs antijeni real time RT-PCR ile çalışıldı, KKKA spesifik IgM ve IgG antikorları ve serum sitokin seviyeleri ELİSA ile ölçüldü. Hastalardan çalışmaya sadece viral RNA pozitif olan hastalar dahil edildi. Onbeş sağlıklı kontrol bireyi alındı. Gelişde uzamış INR değeri ($INR \geq 1.4$) ve şuur değişikliği olan vakalar şiddetli vaka olarak kabul edilip oral ribavirin tedavisi başlandı. Tedavi almayan hastalar kontrol gurubu olarak alındı. Toplam 31 hastanın KKKA nedeniyle kaybedilen 11 vakası değerlendirildi. Ölen vakalarda başlangıç virüs titresi $5.5E+09$ copy/ml, yaşayanlarda ise $5.7E+08$ copy/ml idi ($P < 0.05$). Hiçbir vakada IL-1 β seviyesinde anlamlı değişiklik gözlenmedi. Kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında IL-6, IL-10, TNF- α ve IF- γ seviyeleri anlamlı ölçüde yüksekti ($P < 0.05$). Ayrıca ölen vakalarda IL-6 ve TNF- α seviyeleri anlamlı derecede artmıştı ($P < 0.05$). Serum virüs titreleri ölenlerde yüksek kalırken yaşayanlarda ardışık ölçümlerde düştü. Yaşayan hastaların serumlarında 9. günde spesifik IgG antikorları anlamlı derecede yüksekti ve ölen hastaların ardışık serum örneklerinde anlamlı antikor yüksekliği gözlenmedi. Tedavi alan 14 ve almayan 17 hasta yeniden değerlendirildi. Gelişde ortalama virüs titreleri ribavirin alan gurupda $3.2E+09$ copy/ml, kontrol gurubunda $1.7E+08$ copy/ml idi ($P > 0.05$).

Biz genellikle, kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında ardışık serum örneklerinde ne virüs yükü ne de serum sitokin seviyeleri ve rutin laboratuvar testlerinde ribavirin tedavisinin etkin olmadığını gözlemledik.

Bu çalışma, serum virüs titreleri ve sitokin fırtınasının, KKKA patogenezinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Hem inflamatuvar cevap hem de virüse özgül bağışıklık ölümle ilişkili olabilir ve ribavirin KKKA'da serum virüs titresi üzerinde önemli bir etkiye sahip değildir.

Anahtar Kelimeler: Kırım-Kongo kanamalı ateş, Sitokin, Virus titresi, Ribavirin

SUMMARY

Up to date, the role of cytokines in the pathogenesis of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) remains unclear. Herein we investigated the presence of serum cytokine levels and viral titers in CCHF cases. Ribavirin is an antiviral drug supposed to be a potential therapeutic agent for CCHF. We also evaluated the efficacy of oral ribavirin treatment on serum viral titers and cytokine levels in CCHF cases.

During CCHF outbreak in 2005, patients admitted to Cumhuriyet University Hospital in Sivas with an acute infection resembling CCHF were included. Serum samples were obtained from all patients on admission and continued for 7 days for serologic, virologic and cytokine (IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α and IF- γ) analysis as appropriate. Routine blood and biochemical analysis were also performed in all cases. CCHF viral antigen was studied by real-time RT-PCR, CCHF specific IgM and IgG antibodies and serum cytokine levels were measured by ELISA method. Only the patients that the viral RNA positive were included in the study. Fifteen healthy subjects were accepted as controls. Cases who have prolonged international normalized ratio (>1.4) and/or altered sensorium on admission were accepted as severe and received oral ribavirin therapy. Untreated CCHF cases were accepted as controls. A total of 31 of which 11 were fatal CCHF cases (15 female and 16male) were enrolled. Initial mean viral titer was 5.5E+09 copy/ml in fatal cases and was 5.7E+08 copy/ml in survivors (P<0.05). No significant alterations for IL-1 β levels were recorded in all cases. The serum levels of IL-6, IL-10, TNF- α and IF- γ were found to be significantly elevated in CCHF cases compared to controls (P<0.05). The levels of IL-6 and TNF- α were also found to be significantly elevated in fatal cases (P<0.05). Serum viral titers remained high in fatal cases and decreased in survivors in sequential determinations. Specific IgG antibody increased significantly on the 9th day of illness in survivors and fatal cases did not produce significant antibody in sequential serum samples of the patients. Fourteen ribavirin treated and 17 untreated CCHF cases were reenrolled. The mean viral titer on admission was 3.2E+09 copy/ml in the ribavirin group and was 1.7E+08 copy/ml in the control group (P>0.05).

In general, we observed no significant effect of ribavirin treatment either on viral load or the serum cytokine levels and routine laboratory analysis in sequential serum samples when compared to controls (P>0.05).

The results of this study demonstrate that serum virus titers and cytokine storm played significant role in the pathogenesis of CCHF. Both defective inflammatory response and virus specific immunity might be associated with fatality and ribavirin has no significant effect on serum viral titers in CCHF.

Key Words: Crimean-Congo hemorrhagic fever, Cytokine, Virus titer, Ribavirin

SİMGELER VE KISALTMALAR

- ALT: Alanin aminotransferaz
aPTT: Aktive parsiyel trombin time
AST: Aspartat aminotransferaz
AT III: Antitrombin III
C5aR: C5a reseptörü
CDC: Centers for Disease Control and Prevention
CPK: Kreatin fosfokinaz
CRP: C-reaktif protein
CÜTFAM: Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Merkezi
DEET: N, N-Dietil-metatoluamide
DIC: Dissemine İnvasküler Koagülasyon
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
EIA: Enzim Immune Assay
ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ESH: Eritrosit sedimentasyon hızı
F1+2: Protrombin fragmanı 1+2
FDA: Food and Drug Administration
FDP: Fibrin yıkım ürünleri
GATA: Gülhane Askeri Tıp Akademisi
G-CSF: Granülosit-Koloni Stimülan Faktör
GGT: Gama glutamiltransferaz
GM-CSF: Granülosit, Makrofaj-Koloni Stimülan Faktör
HIV: Human Immun Yetmezlik Virüsü
IFA: Immun Floresan Assay
IF: Interferon
IgG: Immünglobulin G
IL: Interlökin
INR: International normalized ratio
KKKA: Kırım-Kongo kanamalı ateş
LDH: Laktat dehidrogenaz
MCP: Monosit kemoatraktan faktör

NIAID: National Institute for Allergy and Infectious Diseases

NK: Naturel killer

NO: Nitrik oksit

PAI: Plazminojen aktivatör inhibitörü

PAP: Plazmin- α 2-anti-plazmin

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

PT: Protrombin time

RT-PCR: Reverse transcriptase-Time Polymerase Chain Reaction

TAT: Trombin antitrombin

TF: Doku faktörü

TFPI: Doku faktörü yolu inhibitörü

TNF: Tümör nekrozis faktör

TT: : Trombin time

VKA: Viral kanamalı ateş

YDP: Yaygın damariçi pıhtılaşması

TABLOLAR

Tablo 2.1.8.1.KKHA klinik tanımlama, vaka tanımı ve vakalara yaklaşım önerileri....	13
Tablo 2.2.1. Proinflamatuvar sitokinlerin başlıca sistemik etkileri	21
Tablo 2.3.1. Yaygın damariçi pıhtılaşması tanı algoritması.....	29
Tablo 4.1.Kırım-Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen hastalar ile sağlıklı kontrol ve hasta kontrol grubundaki hastaların demografik özelliklerinin karşılaştırılması.....	36
Tablo 4.2.Takip sırasında ölen ve yaşayan Kırım-Kongo kanamalı ateş hastalarına ait başlangıç semptom ve klinik bulgularının karşılaştırılması.....	38
Tablo 4.3.Kırım-Kongo kanamalı ateşli hastalara ait başlangıç rutin laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması	45
Tablo 4.4.KKKA'lı hastalar, sağlıklı kontrol ve hasta kontrol grubuna ait başlangıç serum sitokin seviyeleri, CCHF viral yükleri ile anti-CCHFV antikor yanıtlarının karşılaştırılması	46
Tablo 4.5.Kırım-Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen ve yaşayan ve ölen hastalara uygulanan kan ürünleri ile sonuç verilerinin karşılaştırılması.	47
Tablo 4.6.Ölen ve yaşayan kontrol KKKA'lı hastaların ardışık sitokin, viral yük ve anti-CCHFV IgG değerlerinin karşılaştırılması incelenmesi.....	48
Tablo 4.7.Ölen ve yaşayan KKKA hastalarına ait ardışık rutin laboratuvar verilerinin karşılaştırılması.....	49
Tablo 4.8.Kırım Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen ve ribavirin tedavisi alan hastalar ve kontrol gurubu KKKA hastalarına ait semptom ve bulguların karşılaştırılması.....	55
Tablo 4.9.Ribavirin tedavisi alan ve almayan kontrol gurubu Kırım-Kongo kanamalı ateşli hastalara ait başlangıç rutin laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması	56
Tablo 4.10.Kırım Kongo Kanamalı Ateş tanısı ile takip edilen ve ribavirin tedavisi alan hastalarla almayan kontrol hastalara ait kan ürünleri tedavileri ile sonuç verilerinin karşılaştırılması.....	57
Tablo 4.11.Ribavirin alan ve almayan kontrol KKKA'lı hastalara ait ardışık sitokin, viral yük ve anti-CCHFV IgG değerlerinin karşılaştırılması	58
Tablo 4.12.Ribavirin tedavisi alan ve almayan kontrol KKKA hastalarına ait ardışık rutin laboratuvar verilerinin karşılaştırılması.....	59

Tablo 4.13.Ribavirin tedavisi alan ve almayan kontrol KKKK hastalarına ait ardışık rutin laboratuvar verilerinin karşılaştırılması.....	60
---	----

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.Kırım-Kongo kanamalı ateş patogenezi	11
Şekil 2.2.Virus-antikör kompleksi oluşumunu takiben koagülasyon ve fibrinoliz aktivasyonu. C5aR, C5a reseptörü; IL, interlökin; TNF, tümör nekroz faktör; PAI, plazminojen aktivatör inhibitörü	12
Şekil 2.3.1 Dissemine intravasküler koagülasyonun patogenezi. IL-6:interlökin, TNF- α : tümör nekrozis faktör- α ,TF: doku faktörü, PAF-1: plazminojen aktivatör inhibitörü-1	27
Şekil 4.1. Sitokin seviyelerinin ölçümünde TNF- α için pozitiflik veren serum örnekleri.....	65
Şekil 4.2. Sitokin seviyelerinin ölçümünde IL-6 için pozitiflik veren serum örnekleri.....	65

GRAFİKLER

Grafik 1. Kırım-Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen ve takip sırasında ölen ve yaşayan hastalara ait ardışık ortalama serum (A) TNF- α , (B) IF- γ , (C) IL-6, (D) IL-10, (E) viral yük ve anti-CCHFV IgG seviyelerinin hastalık günlerine göre dağılımı.....	50
Grafik 2. Kırım-Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen ve takip sırasında ölen ve yaşayan hastalara ait ardışık ortalama (A) kan lökosit; (B) platelet; (C) CPK, Kreatin fosfokinaz; (D) AST, aspartat aminotransferaz; (E) LDH, laktat dehidrojenaz; (F) ALT, alanin aminotransferaz değerlerinin hastalık günlerine göre dağılımı.....	51
Grafik 3. Kırım-Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen ve ribavirin tedavisi alan ve almayan kontrol grubu hastalara ait ardışık ortalama serum (A) TNF- α , tümör nekroz faktör –alfa; (B) IL-6, interlökin-6; (C) IF- γ , interferon-gamma; (D) IL-10, interlökin-10 ve (E) viral titrelerinin hastalık günlerine göre dağılımı.....	61
Grafik 4. Kırım Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen ve ribavirin alan ve almayan kontrol grubuna ardışık ortalama (A) kan lökosit; (B) platelet; (C) CPK, Kreatin fosfokinaz; (D) AST, aspartat aminotransferaz; (E) LDH, laktat dehidrojenaz; (F) ALT, alanin aminotransferaz değerlerinin hastalık günlerine göre dağılımı.....	62

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kırım-Kongo kanamalı ateşi (KKKA), Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV) ile oluşan, temelde ateş ve kanama ile seyreden ama şiddetli hastalığı olanlarda ilave olarak şok ve önemli oranda mortal seyredabilen bir viral kanamalı ateş (VKA) hastalığıdır (1-5). VKA infeksiyonlarının seyri sırasında inflamatuvar mediatörler, immün cevabın anahtar elementleri olarak rol oynar. Hastalıkta fibrinoliz ve koagülasyon anormallikleri, peteşi, ekimoz, mukozal kanama ve venöz ponksiyon bölgelerinde kontrol edilemeyen kanamalar şeklinde kendini gösterir. Yaygın damariçi pıhtılaşması (YDP), vasküler yatakta yaygın fibrin depolanmasına yol açan koagülasyonun sistemik aktivasyonudur ve multiple organ yetmezliği gelişimine neden olur. VKA'larda yaygın tromboz ve kanama sıklıkla eş zamanlı oluşmakta, eğer YDP de varsa hastalardaki prognoz kötüleşmektedir (6-8).

Sitokinler, çeşitli hücrelerde sentezlenip karmaşık bir ağ yapısı oluşturarak immün yanıtta, inflamasyonda, hematopoezde, sistemler ve hücreler arasındaki biyolojik ilişkilerde ve temelde konağa zarar veren etkenlere karşı savunmasında çok önemli görevler yapan protein yapılı maddelerdir (6). Organizmada yüksek konsantrasyonlarda toksik, hatta ölümcül etkilere sahip olabilirler. Gerçekte septik şok çalışmaları, proinflamatuvar sitokinlerin anormal üretimi ile hastalığın şiddeti ve ölümcül sonuçla ilişkilendirilmiştir. İnsan ve primatların VKA infeksiyonları, interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8), interlökin-10 (IL-10), tümör nekroz faktör- α (TNF- α), monosit kemoatraktan protein-1 α (MCP-1 α) ve nitroz oksit (NO)'i de içeren bir gurup inflamatuvar mediatörün ekspresyonunu tetikler. İnsan hücreleri invitro koşullarda VKA etkenleriyle infekte edildiklerinde inflamatuvar mediatörlerden pek çoğunu üretebilmektedir (7).

Hafif olgularda kendiliğinden iyileşme özelliğine sahip bu hastalıkta günümüzde hâlâ özgül antiviral tedavi planının olmadığına inanılmaktadır. Daha önce RNA virüslerine karşı geniş spektrumlu bir antiviral ajan olan ribavirinin invitro çalışmalarda hücre kültüründe CCHFV replikasyonunu durdurduğu saptanmıştır (9,10). İlacın yine deneysel olarak infekte edilmiş farelerdeki virüs replikasyonunu

azalttığı, hayvanlardaki viremiyi önlemediği ancak organ patolojisini önleyebildiği gösterilmiştir (11). Amerikan Food and Drug Administration (FDA) kurumu onaylamamış olmasına rağmen, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) KKKA tedavisinde oral ribavirin kullanımını potansiyel etkinliği nedeniyle önermektedir. Literatürde ribavirin tedavisinin KKKA'da etkin olduğunu bildiren olgu sunumları ve klinik çalışmalar bulunmaktadır (12-14).

Bugüne kadar literatürde bu hastalığın patogenezinin aydınlatılabilmesine yardımcı olabilecek çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu araştırmanın kaleme alındığı Haziran 2007 ayına kadar KKKA hastalarında proinflatuar sitokinlerin araştırıldığı yalnızca iki araştırma bulunmaktadır. Bunlardan birinde Ergönül ve ark. (15), 2002-2004 yılları arasında takip ettikleri 3'ü fatal 27'si non-fatal toplam 30 KKKA olgusunda serum IL-6, IL-10 ve TNF- α seviyeleri araştırılmıştır. Diğer çalışmada ise Papa ve ark. (16), CCHFV pozitif 16, CCHFV negatif, seroloji pozitif 9 ve hem CCHFV ve hem seroloji negatif 26, toplam 51 KKKA hastasında serum IL-6, IL-10 ve TNF- α seviyelerini değerlendirmişlerdir. Literatürde hastalığın patogenezinin aydınlatılmasına yardım edecek bu iki çalışmaya rağmen hâlâ eksikliklerin olduğunu düşünmekteyiz. Birincisi bu çalışmalarda hasta sayıları azdır. İkincisi ise bu çalışmalarda hastalara ait serum sitokin seviyeleri sadece hastaların belli günlerinde ölçülmüştür. Yani KKKA hastalarının serum sitokin seviyeleri yaşayan ve ölen hastalarda ardışık günlerde ölçülmemiştir. KKKA patogenezinin anlaşılabilmesi için serum virus yükü, serum proinflatuar sitokin seviyeleri ve etken virusa karşı gelişen özgül antikor değerlerinin bilinmesinin önemli olduğu kadar, bunların hastalığın seyrindeki kinetiklerinin bilinmesi de önemlidir. Bazı VKA'larda serum sitokin kinetiği ölçüldüğü halde günümüze kadar KKKA hastalarında böyle bir çalışma yapılmamıştır. Buradan yola çıkarak bu çalışmada biz, real-time reverse transcriptase polimeraz zincir reaksiyon (RT-PCR) yöntemi ile serum örneklerinde virus titresi pozitif olan KKKA hastalarında kliniğe yatırıldıktan sonra ardışık olarak 7 gün boyunca yukarıda bahsedilen parametreleri ölçtük. Amacımız, ölen ve yaşayan ve ayrıca oral ribavirin kullanımı için seçilmiş şiddetli kategorideki KKKA hasta grubu ile oral ribavirin tedavisi almamış KKKA hastalarındaki anılan parametrelerin kinetiğini ortaya çıkarmak idi.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 KIRIM-KONGO KANAMALI ATEŞİ

2.1.1 Tanım

VKA terimi coğrafik olarak sınırlı çok sayıda virüs ile ilişkili hastalığı yansıtmaktadır. Bu hastalık ateş ile karakterizedir ve çoğu şiddetli vaka kanama ve şokla seyretmektedir (17). *Filoviridae* (Marburg, Ebola virüsü), *Arenaviridae* (Lassa virüs, Junin, Machupo, Sabia, Guanarito virüsleri), *Bunyaviridae* (Kırım-Kongo kanamalı ateş virüsü, Rift Vadisi ateşi virüsü ve Hanta virüs) ve *Flaviviridae* (Yellow fever virüsü ve Dang virüsü) VKA etkenleridir. Bu kadar VKA etkeni virüs arasında sadece Lassa, Marburg, Ebola ve KKKA ajanlarının kişiden kişiye geçiş ile önemli salgınlar oluşturduğu bilinmektedir. Ayrıca infeksiyon hastane personeli arasında ve klinik örnekleri inceleyen laboratuvar çalışanları arasında da yayılabilir (17,18).

2.1.2 Epidemiyoloji

KKKA hastalığı, insanlarda şiddetli kanamalı ateşe neden olabilen zoonotik bir infeksiyondur. İlk kez II. Dünya Savaşı yıllarında 1944-1945 yaz aylarında Batı-Kırım steplerinde çoğunlukla ürün toplamaya yardım eden eski Sovyet askeri personeli arasında görülmüş ve 200'den fazla kişiyi etkilemiştir. O zamanlar hastalığın kene ile ilişkisi belirlenmiş ve hastalığa Kırım kanamalı ateşi adı verilmiştir. Etken olarak da hastaların kanlarından bir virüs elde edilmiştir. İlerleyen yıllarda aynı hastalığın eski Sovyetler Birliği'nin özellikle Orta Asya Cumhuriyetleri olmak üzere diğer bölgelerinde uzun yıllardan beri bilindiği, yine eski Yugoslavya ve Bulgaristan'da olduğu anlaşılmıştır. Kongo virüsü ise 1956 yılında Zaire'de ateşli bir hastadan izole edilmiştir. Aradan geçen 11 yıl sonra 1967 yılında Simpson ve arkadaşları 5'i laboratuvar kaynaklı 12 hasta tanımlamış ve virüs, yenidoğan farelere enjekte edilerek soyutlanmıştır. Aynı araştırmacılar, 1956 yılında izole edilen virüs ile bu virüslerin aynı virüs olduklarını bildirmişlerdir. Bindokuzyüzaltmışdokuz yılında ise Kongo virüsü ile Kırım kanamalı ateşi virüsünün biyolojik olarak benzer oldukları gösterilmiştir. İlerleyen yıllarda hastalığın eski Sovyetler Birliği, Bulgaristan, Pakistan, Irak, Dubai, Kuveyt, Birleşik Arap Emirlikleri, Büyük Sahra'nın güneyindeki Afrika ülkeleri ve kuzeybatı Çin'de epidemiler yaptığı bildirilmektedir (19).

KKKA majör epidemilerinin, Pakistan'da 1975, 1986, 1996, 1998, 1999 ve 2000 yıllarında olduğu bildirilmektedir. Bu ülkede en son 2002 yılında Rawalpindi'de bir doktor ve hastanın hemorajik ateş nedeniyle öldükten sonra aynı bölgede yüzden fazla kişinin karantina altına alındığı kaydedilmektedir (19,20).

Türkiye'de ilk defa 2002 yılının ilkbahar ve yaz aylarında başta Tokat, Sivas, Çorum, Amasya, Yozgat, Gümüşhane, Bayburt, Erzurum, Erzincan ve çevresi olmak üzere İç ve Doğu Anadolu bölgelerinin kuzeyi ile Karadeniz bölgesinin güney kesimlerini kapsayan geniş bir coğrafi alanda kene teması öyküsü olan, ateş ve kanama ile seyreden bir salgın dikkati çekmiş, 2003 yılında da hastalığın KKKA olduğu anlaşılmıştır. Daha sonra Kastamonu, Bartın, Ankara, Çankırı, Bolu, Balıkesir gibi illerde de vakaların ortaya çıkmasıyla hastalığın görüldüğü alan daha da genişlemiştir. (21). İkibinüç yılında yine Bakır ve ark. (4)'nin yaptığı araştırmada da nisan ve eylül ayları arasında vakaların görüldüğü bildirilmiş, Anadolu'nun merkezini ve doğusunu da içine alan birbirine komşu 11 şehrin kırsal alanında vakalar görülmüş olup dikkate değer biçimde olguların %80'i ilimizin de içinde bulunduğu belli şehirlerin (Sivas, Tokat, Yozgat) kırsal sahalarından bildirilmiştir (4).

Hastalık mevsimsel özellik göstermektedir. Eski Sovyetler Birliği'nde Haziran ve Temmuz aylarında olgu sayısı açısından en yüksek seviyeye ulaşılmaktadır. Güney Afrika Cumhuriyeti'nde olguların çoğu ilkbahar ve sonbaharda ortaya çıkmaktadır. Genel olarak hastalığın Haziran-Eylül arasındaki aylarda ortaya çıktığı bildirilmektedir. Bununla birlikte bölgeye göre değişmekte ve Ocak ayında da görülebilmektedir (22,23).

2.1.3 Seroepidemiolojik Araştırmalar

KKKA, vertebralılar arasında sadece insanlarda şiddetli fatal infeksiyon oluşturmaktadır. İnsanlarda belirtili infeksiyonun belirtisiz infeksiyona oranı bilinmemekte ise de yaklaşık 1/5 olarak tahmin edilmektedir (24). Kuveyt'te 1982 yılında KKKA dışında herhangi bir nedenle hastaneye yatırılan 502 hastanın 17 (%3.4)'sinin serum örnekleri KKKA virüsü açısından pozitif bulunmuştur (19,24).

2.1.4 Etken

KKKA hastalığının etkeni olan Kırım-Kongo kanamalı ateş virüsü, *Bunyaviridae* ailesinin *Nairovirus* cinsine mensup, zarflı, tek sarmallı, negatif polariteli bir RNA virüsüdür. Aynı ailede Orthobunyavirüs, Hantavirüs, Phlebovirüs ve Tospovirüsler de bulunmaktadır (21). Kırım-Kongo kanamalı ateş virüsü, small (S), medium (M), large (L) olmak üzere üç genomlu RNA segmentinden oluşmaktadır. S segmenti nükleokapsid proteinlerini, L ve M segmentleri RNA bağımlı RNA polimeraz ve yüzey glikoproteinlerini kodlamaktadır (25). KKKA virüsünün filogenetik analiz çalışmaları ile değişik coğrafi bölgelerde görülen sekiz genotipi tanımlanmış, Türkiye'den izole edilen suşun Kosova ve Güneybatı Rusya tipi ile benzer filogenetik yapıda olduğu gösterilmiştir (21).

2.1.5 Bulaşma

KKKA virüsünün temel rezervuarı domuz, tavşan, fare gibi vertebralı yabancı hayvanlar ve kenelerdir. Sığır, koyun, keçi, at gibi evcil hayvanların serumlarında da antikorlar gösterilmiştir (21). Virüs insanlara başlıca vektör olan *Hyalomma* cinsi keneler ile bulaşıp zoonotik infeksiyon oluşturmaktadır. Günümüzde yaklaşık 850 tür kene tanımlanmıştır (19). Bu keneler genellikle koyunlar olmak üzere evcil hayvanlarda sıktır ve insanı konakçı olarak seçebilmektedir. Beslenmek için hızlı hareket ederler (19,24).

İnsanlarda *Hyalomma* cinsi keneler ile bulaşıp zoonotik infeksiyon oluşturan KKKA virüsü, *Hyalomma truncatum*, *Hyalomma marginatum rufipes*, *Hyalomma impeltatum*, *Hyalomma impressum*, *Amblyomma variegatum* ve *Boophilus decoloratus* türlerini de içine alan 30 civarında keneden izole edilmiştir (26).

Virüs genellikle insanlara ya infekte kenelerin ısırması ile yada viremik hayvanların kesilmesi esnasında hayvana ait kan ve dokulara temas ile bulaşmaktadır (27). Başka bir bulaşma yolu ise nozokomiyal bulaşma şeklindedir (28). Nozokomiyal epidemilerin ağır kliniği olan hastalara ait kan ve/veya kanlı sekresyonlarla direkt temas ve hava yolu ile de oluşabileceği açıktır. Literatürde infekte hastalar ile temastan sonra gelişen nozokomiyal epidemilerde mortalite oranları kene ısırığından sonra gelişmiş KKKA olgularına göre yüksektir. Bulgaristan'da 1960'lı yıllardaki bir epidemide 14 sağlık çalışanından %40'ının KKKA nedeniyle öldüğü rapor

edilmektedir (29). KKKK virüsünün laboratuarda personele de bulaşabildiği bilinmektedir. Bindokuzyüzaltmışyedi yılında Güney Afrika Cumhuriyeti'nde 5 laboratuvar kaynaklı olgu bildirilmiştir (30).

Hastalık için tarım çalışanları ve hayvancılık ile uğraşanlar (çiftlik çalışanları, çobanlar, kasaplar, mezbaha çalışanları, et ve et ürünleri market işçileri), veterinerler, hasta hayvan ile teması olanlar ve akut dönemdeki hastalar ile temas olasılığı olduğundan endemik bölgelerde görev yapan sağlık personeli, askerler, kamp yapanlar ile deri fabrikası yüksek risk altında bulunmaktadır (22,23,31).

2.1.6 Klinik bulgular ve hastalığın seyri

Hastalığın inkübasyon süresi virüsün alınma yoluna bağlıdır (5). Kene ısırığını izleyen infeksiyonda inkübasyon süresi genellikle 1-3 gün olmakla beraber, en fazla 9 gündür. İnfekte kan yada doku ile temas sonrasında gelişirse inkübasyon süresi 5-6 gün, en fazla 13 gün olabilmektedir. Klinik tablo hafif, orta ve ciddi-ağır olmak üzere farklı formlarda görülebilir. Başlangıç semptomları nonspesifiktir ve bazen ani bir başlangıç söz konusu olabilir (5,17,32,33). İlk semptom genellikle başağrısıdır. Daha sonra üşüme-titretilme ile yükselen ateş, boğaz ağrısı, aşırı halsizlik ve yorgunluk, yaygın kas ve eklem ağrıları ortaya çıkar. Başlangıç bulguları gribe benzer. Şikayetlere baş dönmesi, ense ağrısı, fotofobi, sarılık, duygu-durum değişikliği eklenebilir, ateş ve titremeler görülür. Başlangıçta bulantı ve kusma olabilir. Bu belirtilere karın ağrısı ve sulu ishal eşlik edebilir (5,34).

Hasta huzursuzluk içindedir. Çeşitli derecelerde duygu-durum değişiklikleri olabilir. Birkaç gün içinde hastaların bilinci bulanıklaşır, konfü ve ajite hale gelebilir. İki-dört gün sonra, ajitasyon yerini bitkinlik ve depresyona bırakır. Hastaların yüzü ve konjunktivaları kızarıktır. Hepatik tutulum tabloda muhakkak yer alır. Olguların çoğunda karaciğer enzim değerlerinde yükselme, yaklaşık yarısında hepatomegali gibi hepatit bulguları da saptanır. Lenfadenopati ve splenomegali de saptanabilir. Başlangıçta bradikardi, kanamalardan sonra taşikardi görülebilir (5,32,35).

Hastalığın 3-6. günlerinde hem ağız, burun ve mide gibi iç mukozal yüzeylerde hem de deride peteşiyal bir döküntü ortaya çıkar (5,32). Peteşiler ekimoza ilerleyebilir ve büyük ekimozlar gelişebilir. Hastalarda kanama eğilimi vardır. Hematemez, melena, epistaksis, hematüri, dişeti kanaması, vaginal kanama ve iç organlara kanama gibi diğer hemorajik bulgular ortaya çıkar. İntestinal alana

kanama, hastada karın ağrısına yol açar. Bazı olgulara akut batın ön tanısı ile cerrahi müdahalede bulunulmuştur. Gastrointestinal kanal, burun, ağız ya da uterustan açık kanamalar sonucu hipotansif kriz görülebilir (5,17,36).

Laboratuar bulguları olarak, lökopeni, trombositopeni görülür (5,37). Klinik tablosu ağır olgularda, eritrosit sayısında ve hemoglobinde de düşme saptanır. Alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), gama glutamiltransferaz (GGT), kreatin fosfokinaz (CPK) ve laktat dehidrogenaz (LDH) değerleri artmıştır. Total protein ve albumin değerleri azalabilir. Kanama zamanı, protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) uzamıştır. Fibrin yıkım ürünleri artar, fibrinojen azalır. Ciddi olgularda bilirubin, üre ve kreatinin değerleri de artabilir (5,35,36).

Ağır seyreden formlarda hastalığın beşinci gününden sonra hepatorenal sendrom ve solunum yetmezliği gelişebilir (5,35). Terminal dönemde kardiyovasküler kollaps, şok ve YDP gelişebilir. Santral sinir sistemi tutulumu kötü prognoz göstergesidir. Hastalar beyin, karaciğer, böbrek, kalp ve akciğer yetmezliğinden ölürlür. Ölümler genellikle klinik bulguların ikinci haftasında görülür. Hafif ve orta derecede klinik seyir gösterenler yaklaşık 9-10 günde iyileşir. Tam iyileşme süreci genellikle 2-6 haftalık bir sürede gerçekleşir (5,36,37). Güçsüzlük ve halsizlik iyileşmeden sonra haftalarca sürer (38). İyileşen olgularda sekel görülmez (5,17) Mortalite oranı ile ilgili çok farklı rakamlar mevcuttur. Literatürde farklı serilerde % 8 ile 80 arasında değişmekle birlikte ortalama ölüm oranı % 20-50 arasındadır (39).

2.1.7 Patogenez

VKA'lar hakkında son yıllarda artan sayıdaki araştırmalara rağmen bu hastalıkların patogenezinin altında yatan özgül mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır (7). Aynı şekilde KKKA'nın patogenezini konusunda da bilgiler yeterli değildir. Viremi kontrol edilemediğinde Lassa ateşi ve Rift Vadisi ateşi'nde olduğu gibi KKKA'da da ölüm ile sonuçlanan olgular bulunmaktadır. VKA'larda bağışıklık sistemi hastalıktan iyileşmede önemlidir. Nitekim ağır hastalarda bozulmuş bağışık yanıt söz konusudur (40). Ebola viruslarının oluşturduğu VKA'da hastalığın ikinci haftasında hala virusa özgül antikor yanıt yok ise hastalık ölümlerle sonuçlanmaktadır (41,42). Yine KKKA nedeniyle ölen hastalarda antikor yanıtının

yetersiz olduğu bildirilmektedir (43-45). Ölümcül vakalarda, inflamatuvar mediatörler muhtemelen önemli rol oynamakta, bu hastalarda şok ile birlikte fulminan seyir gözlenmektedir (7). Daha önce KKKA nedeniyle ölen hastalarda interlökin-6 (IL-6), interlökin-10 (IL-10), interlökin-12 (IL-12) ve tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) gibi sitokinler araştırılmış ve yaşayan hastalara göre anlamlı yükseklik olduğu gözlenmiştir (15,16).

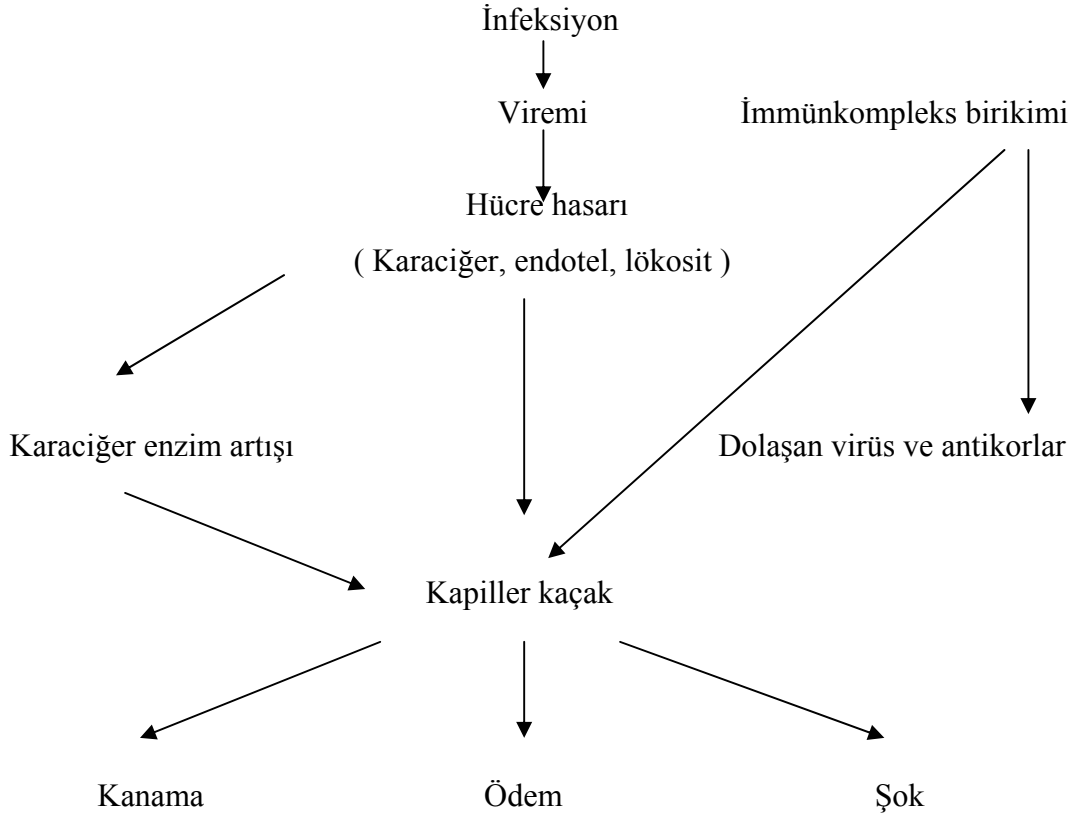
Genellikle VKA oluşturan viruslar çok sayıda hücre tipini infekte ederler. Ölüm ile sonuçlanan olgular ve deneysel olarak infekte edilmiş primatlardan alınan dokuların immünohistokimyasal ve insitu hibridizasyon analizleri, monosit, makrofaj, dendritik hücre, endotelial hücre, hepatosit ve adrenal korteks hücrelerinde bu virüslerin replike olduğuna işaret etmektedir (40,46). Bütün VKA'larda direkt ya da dolaylı olarak kapiller endotel hedefdir. VKA'ya neden olan viruslar esas olarak mononükleer hücreleri aktive eder ve çeşitli kemokin ve sitokinler salgılar. Bu kemokinler dolaylı olarak endotelyumu hedef alır. Ayrıca endotelyumun direkt infeksiyonu sonucu da harabiyet meydana gelir. Dolaşımdaki mediatörler endotel hücre fonksiyonlarını düzenlemektedir ve hemorajik ateş virüslerinin hedef hücrelerin infeksiyonları esnasında mediatör salgılamasını indüklediği gösterilmiştir (47). Esasen KKKA'da virusun esas hedef hücreleri monositler, endotelial hücreler ve hepatositlerdir (44). İmmünohistokimyasal ve ultrastrüktürel çalışmalarda KKKA olgularının endotel hücrelerinde virüs gösterilmiştir. Endotel hücrelerinde virüs ve virüs ile ilişkili tübüloretiküler cisimciklerin saptanmasının kapiller damarlarda fonksiyon bozukluklarının gelişmesine, bunun da hastalık sırasındaki klinik ve patolojik değişikliklere yol açtığını düşündürmektedir. Kapiller permeabilite artışı ve pıhtılaşma fonksiyon bozuklukları kanamaya eğilim oluşturmaktadır (36). KKKA'da muhtemel patogenezi şekil 2.1'de gösterilmiştir.

Viral infeksiyonlarda trombositopeniyle sıklıkla karşılaşılır ve hemen hemen bütün VKA'larda mevcuttur. Özellikle fatal seyreden olgularda hastalığın erken döneminde ileri derecede trombositopeni bulunmaktadır (1). Ya platelet üretiminde azalma ya da platelet yıkımı trombositopeniye yol açabilir. KKKA'da kemik iliği tablosu değişkendir. Kemik iliği incelemelerinde hematopoetik öncül hücrelerinin fagositozu (hemofagositoz) ve kemik iliği hipoplazisi gözlenmiştir (2,40). Ülkemizdeki bir olgu serisinde KKKA'lı olguların %50'sinde hemofagositoz

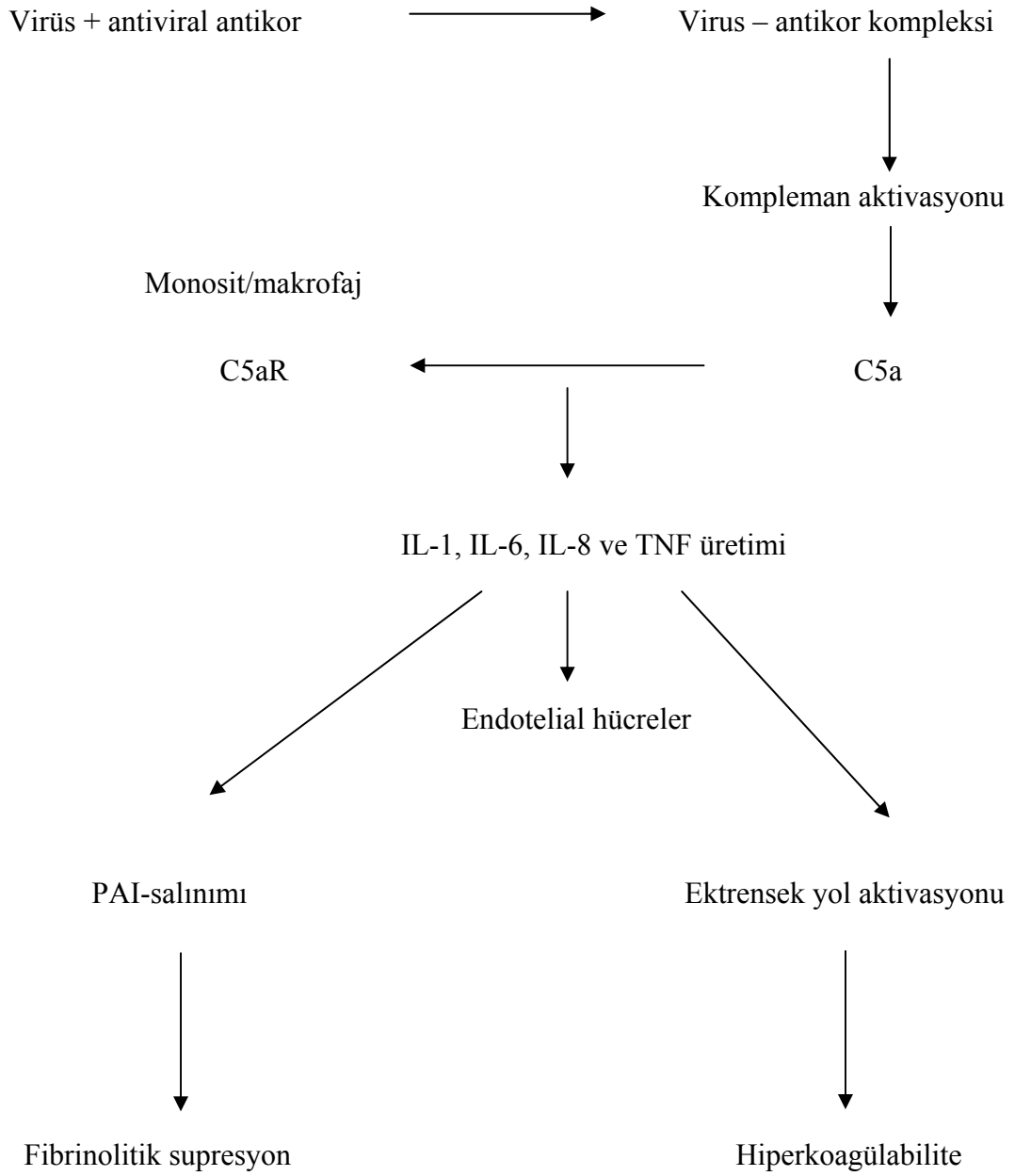
gözlendiği ve hastalardaki sitopeniyi açıklayabileceği ileri sürülmüştür (2). Endotel hasarı da trombositopeninin bir nedeni olabilir (36). Plazma koagülasyon faktörlerinin düşüklüğü ya artmış tüketim yada bozulmuş sentezin sonucudur. Artmış tüketim YDP'de meydana gelir. YDP, KKKA'nın erken ve belirgin özelliğidir (40). Kanda kompleman sisteminin aktivasyonu ile birlikte immünkompleks oluşumu ile ilgili bulgular vardır ve bu şekilde kapiller yatak hasar görüp renal ve pulmoner yetmezlik gelişebilir (5,36). İmmünkomplekslerin komplemanın C3a ve C5a fragmanlarını aktive ederek vasküler hasar oluşturduğu bilinmektedir. Bu fragmanlar aynı zamanda mast hücreleri, bazofiller ve trombositlerden vazoaaktif aminlerin salınmasını sağlarlar. C5a aynı zamanda monositlerden IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF salgılanmasını aktive eder. IL-1 ve TNF ile de endotel hücrelerinden fibrinolizin baskılanması için plazminojen aktivatör-inhibitör (PAI) ve ekstrensek pıhtılaşma yolağının başlaması için de doku faktörü serbestleşir. Sonuçta vasküler hasar ve permeabilite artışı ile damariçi pıhtılaşma şiddeti artar (Şekil 2.2). Endotel hasarı döküntüye neden olabilir ve trombosit birikimi ve degranülasyonu ile intrinsik koagülasyon mekanizmalarını aktive edebilir (5). Plazma koagülasyon faktör sentezinin bozulması ise karaciğer disfonksiyonunun sonucudur. Karaciğer çoğu koagülasyon faktörünün sentez yeridir. KKKA'da karaciğer disfonksiyonu özellikle hastalığın geç döneminde hemostazın bozulmasına katkıda bulunmaktadır (40). Hastalıkta meydana gelen karaciğer hasarının direkt viral sitopatik etkiye bağlı olduğu bildirilmektedir (44).

Hastalıktan ölenlerde serebral kanama, şiddetli anemi, dehidratasyon ve şok, miyokard infarktüsü, akciğer ödemi ve plevral effüzyon görülmektedir (1). Postmortem histopatolojik inceleme yapılan olgularda karaciğerde yaygın nekrotik odaklar, yağlanma, Kupffer hücre hiperplazisi, portal alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonu ve sinüzoidal alanlarda genişleme ve safra stazı gözlenmektedir. Dalakta hücre azalması ve fokal nekroz alanları, akciğerlerde diffüz alveoler hasar, alveoler kanama alanları, hyalen membran oluşumu ve interstisyel alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonu, kalp dokusunda konjesyon ve interstisyel ödem gözlenmiştir (44). KKKA nedeniyle ölen ve böbrek yetmezliği gelişen başka bir hastada böbreklerin postmortem histopatolojik incelenmesinde sadece glomerüllerde orta dereceli mezangial genişleme görüldüğü ve böbrek yetmezliğinin sitokinlerin

aracılık ettiği intrarenal hemodinamik disregölasyona bağlı olduğu bildirilmektedir (45).



Şekil 2.1. Kırım-Kongo kanamalı ateş patogenezi (36 No'lu kaynaktan alınmıştır).



Şekil 2.2. Virus-antikor kompleksi oluşumunu takiben koagülasyon ve fibrinolitik aktivasyonu. C5aR, C5a reseptörü; IL, interlökin; TNF, tümör nekroz faktör; PAI, plazminojen aktivatör inhibitörü (40 No’lu kaynaktan alınmıştır).

2.1.8 Teşhis

Nozokomial infeksiyonlara neden olabilmesinden dolayı hastalığın erken tanısı önemlidir. Klinik semptomlar ve hastanın öyküsü, özellikle endemik bölgeye seyahat ve kene ısırığı hikayesi yada hasta insanların yada hayvanların kan yada dokularıyla temas KKKA'nın göstergeleridir (1).

Şiddetli vaka tanımı (5)

1-Kan lökosit sayısı ≥ 10 bin/mm³

2-Kan trombosit sayısı ≤ 20 bin/mm³

3-AST değeri ≥ 200 İU/L

4-ALT değeri ≥ 150 İU/L

5-aPTT ≥ 60 sn veya fibrinojen seviyesi ≤ 110 µg/dl

Swanepoel ve ark. (5), hastalığın klinik semptomlarının başlamasından sonraki ilk beş gününde yukarıdaki laboratuvar değerlerinden en az biri varsa **şiddetli vaka**, hiçbiri yoksa **hafif vaka** olarak tanımlamış ve bu bulgulardan en az birinin varlığında hastaların %90'ının ölümle sonuçlandığını belirtmişlerdir. Ülkemizden bir çalışmada AST ve ALT'nin daha yüksek seviyeleri (>700 ve >900 İU/L) şiddetli vakalarda daha fazla sensitif bulunmuştur (48). Bakır ve ark. (4) da splenomegali ve şuur değişikliğinin kötü prognostik faktörler olduğunu belirtmişlerdir.

Hastalığın teşhisinde biyogüvenlik açısından tam güvenli laboratuvarlara ihtiyaç olup tüm laboratuvar örneklerini incelemede sıkı önlemler alınmalıdır. Serum örneklerinde KKKA IgM ve IgG antikoları ve KKKA viral antijenlerinin tesbiti "IgM capture assay, antigen sandwich capture assay ve antibody sandwich capture assay, ELISA, immünfloresan assay" testleri ile saptanabilir (49).

Virüse özgül IgG ve IgM antikoları hastalığın yaklaşık 6. gününden itibaren serumda belirlenebilir. IgM türü antikolar 4 ay kadar serumda tespit edilebilirken, IgG türü antikolar ömür boyu serumda saptanabilir. Bazı kişilerde hastalık, özgül antikolar kanda belirlenene kadar ölümle sonuçlanabileceğinden tanı konulamayabilir. Bu durumlarda tanı özellikle hastalığın ilk 5 gününde kan ve dokulardan alınan örneklerden virüs izolasyonu ile yapılabilir. Bu amaçla hücre kültürleri (Vero E6), immünfloresan yöntemi ve EIA (Enzyme Immun Assay) ve IFA (immünfluoresan assay) kullanılabilir (1,3,50).

Tablo 2.1.8.1. KKKA'da klinik tanımlama, vaka tanımı ve vakalara yaklaşım önerileri (50).

1. Klinik tanımlama:

- Hastaların anamnezinde ateş, ani başlayan baş ağrısı, myalji/artralji, halsizlik, bulantı/kusma, karın ağrısı/ishal.
- Laboratuvar bulgularında lökopeni, trombositopeni, karaciğer enzimleri ALT, AST, LDH ve CPK değerlerinde yükselme.

2. Destekleyici Bulgular:

- Hemorajik veya purpurik döküntü
- Epistaksis
- Hematemez
- Melena
- Diğer hemorajik semptomlar

3. Epidemiyolojik hikaye:

- Kene ısırma veya kene ile temas
- Hayvanlarla yakın temas
- Kırsal kesimde yaşama veya son iki hafta içinde kırsal alan ziyareti
- Hayvan dokusu, kanı veya vücut sıvılarına temas (Kasap, kesimhane çalışanları, veteriner hekimler vb.)
- Hastaların kan veya vücut sıvılarına temas ya da laboratuvarlarda çalışma
- Hasta çevresinde benzer şikayetleri olan başka vakaların varlığı

4. Vaka Tanımları:

Şüpheli vaka: Klinik tanımlamaya uyan ve başka bir nedenle açıklanamayan vaka

Olası vaka:

- a) Şüpheli vaka tanımlaması ile epidemiyolojik hikayeye uyan ve destekleyici bulgulardan en az ikisinin bulunduğu vaka yada
- b) Bir bölgede herhangi bir nedenle açıklanamayan birden fazla vakanın görülmesi halinde destekleyici bulgular olmasa da klinik tanımlamaya uyan vaka

Kesin vaka:

- a) Klinik tanımlamaya uyan ve aşağıdaki laboratuvar kriterlerinden en az birisi ile doğrulanmış vaka veya
- b) Kesin tanı almış bir vaka ile epidemiyolojik olarak bağlantısı olan vaka

5. Tanı için laboratuvar kriterleri:

- Kan, vücut sıvısı veya doku örneklerinden virüs izolasyonu veya virüs RNA'sının gösterilmesi
 - Virüse özgül IgM antikor pozitifliği
 - Akut ve konvelesan dönem serumlarında virüse özgül IgG titresinde \geq 4 kat artış
-

Hastalığın tanısında RT-PCR gibi moleküler tanı yöntemleri de başarı ile uygulanmaktadır (1,3,50,51).

2.1.9 Ayırıcı tanı

Ayırıcı tanıda riketsiyoz, leptospiroz, borreliyoz ve bruselloza ilaveten meningokal infeksiyonlar, hepatit, tifo, sepsis, Q ateşi, diğer viral kanamalı ateş infeksiyonları, malarya, sistemik inflamatuvar cevap sendromu akla gelmelidir (1).

2.1.10 Laboratuvar bulguları

KKKA hastalarında laboratuvar bulguları olarak, lökopeni, trombositopeni görülür (5,37). Klinik tablosu ağır hastalarda eritrosit sayısında ve hemoglobinde de düşme saptanır (5,17). Atipik lenfositler vakaların % 60' ında gözlenir. Başlangıçta proteinüri, daha sonra hematüri saptanır. Serum transaminaz değerleri (ALT, AST ve GGT), CPK ve LDH değerleri artmıştır. Total protein ve albümin değerleri azalabilir. Kanama zamanı, PT, aPTT uzamıştır, fibrin yıkım ürünleri artar, fibrinojen azalır. Ciddi olgularda bilirubin, üre ve kreatinin değerleri de artabilir (5,34).

Ağır seyreden vakalarda hastalığın beşinci gününden sonra hepatorenal sendrom ve solunum yetmezliği gelişebilir (5,20). Terminal dönemde kardiyovasküler kollaps, şok, hepatorenal yetmezlik ve YDP gelişebilir. Santral sinir sistemi tutulumu kötü prognoz göstergesidir (17,35).

2.1.11 Tedavi

2.1.11.1 Destek Tedavisi

Destek tedavisi KKKA'da ana tedavidir. Hastaların vital bulguları yakından izlenmeli ve desteklenmelidir. Ciddi olgularda solunum desteği ve mekanik ventilatör ihtiyacı hastanın yoğun bakımda izlenmesini gerektirebilir. Hemodinamik yönden hastalar yakın takip edilebilmeli, sıvı ve elektrolitler izlenmelidir. Gerektiğinde vazopressörler ve kardiyotonik ilaçlar kullanılmalıdır. Sedasyon ve analjezi yapılabilir. Hematolojik parametreler yakından izlenmeli, gerekirse trombosit ve pıhtılaşma faktörleri yerine konulmalı, ciddi kanama varlığında tam kan transfüzyonu yapılmalıdır. Trombositler için toksik olan ya da fonksiyon bozukluğu yapan aspirin benzeri ilaçlar, nonsteroid antiinflamatuvarlar, atikoagülan tedavi ve intramuskuler injeksiyon kontrendikedir. Steroidler tedavide kullanılmaz (35,52).

İyileşen hastalardan elde edilen bağışık serum ile yapılan pasif immünizasyonun hastalığın erken döneminde kullanılmasının (1-2 gün süreyle 250 ml İV) faydalı gibi görüldüğü bildirilmişse de yararı olmadığına ilişkin görüşler de mevcuttur (32,35,38). Ayrıca Dang hemorajik ateşinde immün serumun hayvan deneylerinde viral replikasyonu artırdığı gösterilmiştir (53).

Monoklonal antikorların üretimindeki gelişmeler ve son zamanlarda insan orjinli ya da saflaştırılmış oldukça etkili ürünlerin elde edilmesi konusundaki ilerlemeler gelecekte tedavi yaklaşımlarına ışık tutacaktır (9).

2.1.11.2 Antiviral Tedavi

Özgül antiviral tedavi planı yoktur. Hafif olgularda kendiliğinden iyileşen özelliğe sahip bu infeksiyonda RNA virüslerine karşı geniş spektrumlu bir antiviral ajan olan ribavirin in vitro çalışmalarda hücre kültüründe virüs replikasyonunu durdurduğu saptanmıştır (9,10). Hayvan deneylerinde infekte farelerde virüs replikasyonunu azalttığı, viremiyi önlemediği ancak organ patolojisini önleyebildiği gösterilmiştir (11).

Ribavirin (1-β-D-ribofuranosil-1,2,4-triazol-3-karboxamid) 1970 yılında sentetize edilmiş bir guanozin analogudur. Etki mekanizmasının hücresel nükleik asit ve viral m-RNA sentezinde değişikliklerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. İntraselüler fosforilasyonun mono-di ve trifosfatlara dönüşümü konak hücre enzimleriyle ilişkilidir. Sitotoksik etkiye ilaveten geniş bir antiviral spektruma sahiptir. Miksovirüs, paramiksovirüs, arenavirüs, bunyavirüs, herpesvirüs, adenovirüs, poksvirüs ve human immündeficiency virüsü (HIV) içeren RNA ve DNA virüslerinin çoğunun invitro replikasyonunu inhibe eder (54).

Metanat ve ark. (55)'nin yaptıkları bir çalışmada, oral ribavirin tedavisinin hastalığın başlangıcından itibaren 5 gün içerisinde verildiği takdirde KKKA sağaltımında etkili olabileceği belirtilmiştir. Ribavirin kullanımıyla ilgili en kapsamlı bildiri İran'dan Mardani ve ark. (13) tarafından yapılmış; 69 hastada oral ribavirin kullanıldığı ve sağkalımın % 88.4 (61/69) olduğu vurgulanmıştır. İran' da 1999-2004 yılları arasında yapılan diğer bir çalışmada KKKA tanısı ile takip edilen 255 hastada oral ribavirin tedavisinin etkinliği % 75 olarak bulunmuştur (14).

Erişkin hastalarda oral ribavirin 2 gr yükleme dozuna müteakip, 6 saat arayla 1000 mg dozunda 4 gün; daha sonra da 500 mg dozunda yine 6 saat arayla 6 gün

verilebilir. İV ribavirin 17 mg/kg (maksimum 1gr) yükleme dozuna müteakip, 6 saat arayla 17 mg/kg (maksimum 1gr) dozunda 4 gün; daha sonra da 8 saat arayla 8 mg/kg (maksimum 500 mg) dozunda yine 6 gün verilebilir. Tedavi geç kalınması veya gerek görülmesi durumunda yükleme dozu 30 mg/kg (maksimum 2gr) olabilir. Çocuk hastalarda 30 mg/kg yükleme dozuna müteakip, 6 saat arayla 15 mg/kg dozunda 4 gün; daha sonra da 7 mg/kg dozunda yine 6 saat arayla 6 gün verilebilir. İV ribavirin erişkinlerde verildiği gibi vücut ağırlığına göre hesaplanır (17,50).

KKKA'lı hasta kan serum ve atıklarıyla maruziyet durumunda 500 mg dozunda 6 saat arayla 7 gün profilaksi amacıyla verilebileceğini belirten yayınlar varsa da maruziyet durumunda profilaktik amaçlı ribavirin kullanımı Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından önerilmemektedir (1,17,50).

Gebelerde ribavirin embriyotoksik ve teratojenik etkileri bulunması nedeniyle kullanımı kontrendikedir. Ancak gerekli görüldüğünde erişkin dozlarında verilebilir. Ayrıca ribavirinin mutajenik, tümör oluşumunu kolaylaştırıcı ve gonadotoksik etkileri vardır. Hemolitik anemi, kaşıntı, döküntü, depresyon, uyku bozuklukları ve öksürük de yan etkileri arasındadır (5).

2.1.12 Korunma ve Kontrol

Tüm infeksiyon hastalıklarında olduğu gibi KKKA'da da kontrol ve korunma önlemlerinin alınması çok önemli ve gereklidir.

Hastane personelinin korunmasında hasta ve hastanın sekresyonları ile temas sırasında mutlaka universal önlemler (eldiven, önlük, gözlük, maske vb.) alınmalıdır. Kan ve vücut sıvıları ile temastan kaçınılmalıdır. Bu şekilde temas söz konusu olduğunda, temasının en az 14 gün kadar ateş ve diğer belirtiler yönünden takip edilmesi gerekmektedir (50). Ateş ≥ 38.3 olduğu taktirde günde iki defa 200 mg oral ribavirin 5 gün süreyle verilmesi önerilmektedir (56). Geceleri deri yüzeyine N, N-dietil-metatoluamide (DEET) kullanılması, permetrin takviyeli giysiler giyilmesi ve kene için sık muayene önemlidir. Ayrıca koyun ve inek gibi hayvanlar ile yakın temastan kaçınılmalıdır (1,49).

KKKA'yı bulaştıran Hyalomma soyuna ait keneler genel olarak Nisan ve Ekim ayları arasında aktiftirler; bu dönemlerdeki salgınların sebebi de budur. Bu

nedenle öncelikle insanlar kenelerden uzak tutulmalı ve kenelerin kan emmeleri engellenmelidir (50).

Yıllar önce Rusya ve Bulgaristan'da fare beyninden izole edilen virüsün formalin ile inaktivasyonu ile hazırlanan aşı kullanılmıştır. Eski Sovyetler Birliği'nin Rostov bölgesinde 1500 kişi aşılanmış ve sıklıkla antikor saptanmıştır. Bunun gibi, Bulgaristan da istemli kişilere aşı yapılmış ve yüksek antikor üretimi ile sonuçlanmıştır (1).

2.1.13 KKKA Virüsü ve Biyoterörizm

KKKA virüsü *Bunyaviridae* ailesinin *Nairovirus* grubuna aittir. *Bunyaviridae* ailesi virüsleri RNA içerir. Lipid ve deterjanlar ile inaktive olabilmektedir. Nispeten dayanıksızdır. Konakçı dışında yaşayamaz. Ultraviyole ile hızla ölür, 57 °C' de 30 dakikada inaktive olur. Kanda 40 °C' de 10 gün yaşayabilir. Dezenfektanlardan %1 hipoklorit ve %2 gluteraldehite duyarlıdır. Hücre kültüründe üretilebilir. *Nairovirus*'ların 7 alt grubu olup, moleküler analiz sonucu negatif iplikli üç RNA segmenti içerdiği gösterilmiştir (33).

Yüksek patojenik özelliği nedeniyle KKKA virüsü Amerika Birleşik Devletlerinde National Institute for Allergy and Infectious Diseases (NIAID) tarafından potansiyel biyoterörizm ve/veya biyolojik savaş ajanları listesine alınmıştır. Bunyavirus ailesine mensup Rift Vadisi ateşi virüsü ve Hanta virüsler bu kuruluşun listesinde A kategorisinde, KKKA virüsü ise C kategorisindedir (1).

2.2 SİTOKİNLER

Sitokinler immün sistemin modülasyonuna ve selüler cevaba neden olan ve mikroorganizmalara karşı başlangıç cevabı süresince üretilen hormon benzeri polipeptitlerdir. Özellikle makrofajlar ve aktive lenfositlerden olmak üzere birçok farklı hücreden üretilirler. İnfeksiyon ile ilişkili genel semptomların bir çoğu sitokin kaskadına katkıda bulunur. Birçok sitokinin birden fazla biyolojik özelliği vardır ve bir takım fonksiyonları paylaşırlar. Bu muhtemelen moleküler biyolojik teknik alanında son gelişmeler yapılan kadar sitokinlerin bireysel fonksiyonlarının ayırt edilememesine ve sadece bir hastalığın sitokin salınımı ya da eksikliğine neden olmamasına bağlıdır. Toksin ve mikrobiyal ürünler gibi yabancı maddeler immün sistemi tetikler, sonrasında non antijen spesifik kaskad sitokinleri salar, bir uyum içinde mikroorganizmalara karşı direnç aktive olur. Sitokinler immün sistemde ilk

basamaktır ve spesifik immün cevapta etkileri başlangıçtır. Sürekli düşük seviyedeki aktiviteleri hastanın sağlığında kararlı durumunun korunmasına yardımcı olur. Bu kararlı durum aktivitesi azalabilir veya artabilir (57).

Sitokinler genellikle diğer sitokinlerin sentez ve etkilerini değiştirebilirler. Genellikle uyarılan hücrelerce uyarıldıklarında sentezlenirler, depo edilmezler, sentez ve salgılanmaları geçici ve kısa sürelidir (58).

Sitokinler, içinde 100'den fazla sayıda farklı molekül bulunan büyük bir grup oluşturur. Keşfedilen ilk sitokin interferondur. Daha sonra interlökinler ve koloni stimüle edici faktör bulunmuştur. Aktive T lenfositleri tarafından sentezlenip salınan sitokinlere lenfokin, aktive monosit ve makrofajlardan sentezlenip salınan sitokinlere monokin ve lökositler arasında etkileşim yapan sitokinlere interlökin (IL) adı verilir. Daha sonraları interlökinlerin bir kısmının lökositlerden başka hücreler tarafından da yapıldığı ve lökosit olmayan hücreleri de etkiledikleri anlaşılmıştır. İnterlökinlerin sayısı 26'ya ulaşmıştır. Sitokinler indüklenebilir nitelik taşırlar. Sitokinler, lenfoid hücrelerin ve diğer bazı hücrelerin çoğalma ve farklılaşmasını sağlar, immün cevabı şiddetlendirmek veya baskılamak suretiyle regüle eder, inflamasyon olaylarına katılan hücreleri aktive eder ve reaksiyon yerine toplayarak çeşitli biyolojik etkinlik gösterir. Ateş ve akut faz cevabını oluşturur. Antiviral etkinlik gösterir. Kemotaksis yapan 40 kadar sitokin ayrı bir grup oluştururlar ve kemokin adını alırlar. Bunlar lökositleri inflamasyon alanına toplarlar, immün cevabın Th1 ve Th2 yönünde gelişimine katkı yaparlar, graft rejeksiyonuna katılırlar (59).

Sitokinler, bazı fizyolojik fonksiyonları dışında, immün yanıtın başlamasını ve sürmesini regüle ederler (6,60). Bu çerçevede içinde patojenlere karşı dirençte aracılık edecek immün yanıtın tipini ve efektör mekanizmalarını da tayin ederler. Ancak aşırı sentezlendikleri takdirde, bunların patogenezi de indükleyebildiklerini biliyoruz. Belli bir hücre tipi, birbirine sinerjik veya antagonistik davranabilen birçok sitokin molekülünü sentezleyebilir (6).

Sitokinler, hedef hücrelerin ve olayın gelişim evrelerine göre değişebilen etkiler gösterirler. Örneğin güçlü bir immünsüpresif sitokin olarak bilinen TGF- β , olgunlaşmamış hücrelerle istirahat halindeki hücrelerin büyümesini stimüle ettiği halde, aynı hücre popülasyonları aktive olduklarında onları inhibe etmektedir. Yine IL-6, belirlenmiş bir takım etkileri dikkate alınarak önceleri proinflamatuvar sitokin

olarak kabul edilmişti. Ama şimdi bu sitokinin önemli antiinflamatuvar ve immünespresif etkinliğe sahip olduğu ortaya konulmuştur. Aslında immünolojik olarak aktif hemen bütün sitokinler pleotropik ve çoğul aktivite gösterirler (61).

Sitokinler aynı hücre tipinde farklı etkiler indükledikleri gibi, çeşitli hücre tiplerine göre de farklı etkiler gösterebilmektedirler. Örneğin, IL-1'in hepatositlerde akut faz proteinlerinin sentezini, endotelde adezyon moleküllerinin sentezini, makrofajlarda prostanooidlerin ve NO'nun sentezini indüklediği bilinir. Biraz farklı başka örnek şudur: Transforming growth faktör- β (TGF- β), IL-6 yapımını monositlerde, fibroblastlarda ve sinoviyal hücrelerde süpresyona uğrattığı halde, intestinal hücrelerde ve keratinositlerde stimüle etmektedir (6).

Sitokinler, normal veya orta şiddetteki immün ve inflamatuvar yanıtlarda başlıca lokal etkilidirler. İmmün sistemin aktivasyonu, çoğunlukla polarize, yani lokal bir süreç olarak ortaya çıkar. Örneğin, çok defa bu, belirli bir lenf nodunun drene ettiği bir infeksiyon yeridir. Düşük düzeyde antijenik stimülasyon sadece çok az sayıda T hüresinin antijenle reaksiyona girmesine ve sitokin sekrete etmesine neden olabilir. Ama bu, gerekli immün yanıtın yetersizliği anlamına gelmez. Çünkü immün sistemin hücreleri, kendi sitokinlerini oldukça büyük miktarlarda sekrete edebilirler. Bir T hüresinin onbine kadar varabilen sayıda hedef hücrenin proliferasyonuna yetecek miktarda IL-4 yapabileceği gösterilmiştir. Böylece, bir yerde yüksek düzeyde sitokin oluşturan bir hücre, yakın komşuluk gösteren birçok hücreyi etkileyebilir (parakrin etki). (6).

Lokal yanıtlar sırasında sitokin yoğunluğu periferik kanda çok kez anlamlı düzeylere ulaşmaz. Sistemik yanıt ise, sitokin setlerindeki yoğunluğun, sistemik inflamasyon sonucu kanda yüksek düzeylere ulaşması halidir. Bu durumun septik şok, serebral malarya ve toksik şok sendromu gibi konak için hasarlayıcı patolojilere yol açabileceğini biliyoruz (6).

Sonuç olarak, organizmada, birçok parametrenin etkilediği, karmaşık pleotropi ve molekül zenginliği gösteren bir sitokin ağı mevcuttur. Her bir immün hücre tipi, sitokin ve diğer solübl ve membran aktivatörlerinin agonistik ve antagonistik kombinasyonlarından salınan farklı sinyalleri integre eder ve bu suretle hücre, ortaya çıkan yanıtın kalitesini, kantitesini ve zamanlamasını belirlemektedir.

Sitokin ile onun doğal antagonistleri arasındaki denge, bu sitokinin absölü konsantrasyonundan daha önemli olabilmektedir (6).

2.2.1 Başlıca Sitokinler ve Özellikleri

IL-1, IL-1 α ve IL-1 β ' dan oluşmaktadır, ikisi arasında %25 homoloji vardır fakat biyolojik etkinlik aynıdır. Dendritik hücreler, keratinositler, makrofajlar, glial hücreler, endotel hücreleri, bazı B hücreleri, nötrofiller başlıca kaynaklarını oluşturur. İki farklı reseptörü vardır. T hücre aktivasyonu, B hücre proliferasyonundan sorumludur. Hematopoietik büyüme faktörleri için kofaktör görevi yapar, ateşten, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, interferon (IFN), koloni stimulan faktör (CSF) ve TNF sentezinin indüksiyonundan sorumludur. Hepatositleri aktive ederek akut faz proteinlerinin sentezine neden olur. TNF ile sinerjik etkilidir (59).

IL-6, dendritik hücreler, makrofajlar, monositler, aktive Th2 hücreleri, glial hücreler, endotel hücreleri, stromal hücreler, mezengial hücreler, osteoklastlar ve mast hücrelerinden salınır. B hücrelerinin immünglobulin yapımının indüksiyonu, T hücre aktivasyonu IL-2 yapımının indüksiyonu, hematopoietik koloni stimülasyonu, hepatosit aktivasyonu, ateş, glukokortikoid sentezinin indüksiyonu ve osteoklast aktivasyonundan sorumludur. TNF ve IL-1 ile sinerjik etkilidir (59).

Th2 ve Th0 subset hücreleri, timositler, monosit, makrofajlar, B hücreleri ve langerhans hücreleri IL-10'un başlıca kaynağıdır. Th1 subset proliferasyonun supresyonu, IL-2 ve IFN- γ sentezinin inhibisyonu, IL-1, IL-6, IL-8, granülosit, makrofaj-koloni stimulan faktör (GM-CSF), granülosit-koloni stimulan faktör (G-CSF) sentezinin inhibisyonu, doğal öldürücü hücreler (NK) ve makrofaj aktivasyonunun inhibisyonundan sorumludur. Birçok infeksiyon esnasında IFN- γ cevabına IL-10 yapımı da eşlik eder. Bu, tip 1 sitokin cevabı ile oluşabilecek doku hasarının minimize edilmesini amaçlamış olabilir (59).

IFN- γ , CD8 T, Th1 subset ve NK hücrelerinden salınır. CD4 T hücrelerinin Th1 fenotipine diferansiyasyonu, Th1 ve NK hücre aktivitesinin şiddetlenmesi, makrofaj ve endotel hücrelerinin aktivasyonu, B hücre proliferasyonu ve farklılaşması, diğer sitokin etkinliklerinin şiddetlendirilmesi ve zayıflatılması, lenfosit ve monosit kemotaksisinden ve kaşeksiden sorumludur. Antiviral etkinliği mevcuttur. IFN- α ' nın 20 varyantı var. IFN- α ve IFN- β aynı reseptöre, IFN- γ farklı bir reseptöre bağlanır (59).

TNF- α , B hücreleri, makrofajlar, NK hücreleri, keratinositler, astrositler, Kupffer hücreleri, fibroblastlar, T hücreleri, nötrofiller, mast hücreleri, eozinofiller ve epitelyal hücrelerden salınır. IL-1 ile fonksiyonel olarak büyük bir benzerliğe sahiptir. Ateş yapıcı etkisi vardır. Hepatosit aktivasyonu, endotel hücresi ve makrofaj aktivasyonu, osteoklast aktivasyonu, IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF, araşidonik asid türevlerinin sentezinin indüksiyonu, nötrofil adezyonunun artması, anjiyogenez, fibroblast ve mezansimal hücre proliferasyonu ve trombomodulin ekspresyonunun inhibisyonundan sorumludur. TNF, IL-1 ile birlikte infamasyonun temel mediatörüdür (14).

Tablo 2.2.1. Proinflamatuvar sitokinlerin başlıca sistemik etkileri (59).

Hücre aktivasyonu ve çoğalması

Nötrofli

Sitokin havuzunun giderek büyümesi

Nöropeptid salınımı ve hipotalamik-hipofizer-adrenal eksenin aktivasyonu

Ateş ve akut faz proteinlerinin indüksiyonu

Adezyon moleküllerinin sentezlenmesi

Kapiller geçirgenliğin artması

Kemotaksis

Kompleman aktivasyonu

Araşidonik asid türevlerinin sentezi

Endotelde prokoagulan aktivasyonun indüksiyonu

Hipotansiyon ve şok

2.3 YAYGIN DAMARIÇİ PIHTILAŞMASI (YDP)

2.3.1 Tanım

YDP veya diğ er adıyla dissemine intravasküler koagülasyon (DİK); farklı nedenlerle meydana gelen ve sınırlanamayan intravasküler koagülasyonun aktivasyonu, mikrovasküler fibrin oluşumu, koagülasyon faktörlerinin tüketimi, trombin ve plazminin endojen üretimi ile tanımlanan yaygın edinsel bir klinikopatolojik bozukluktur (62).

YDP bir hastalık değildir. Altta yatan bir hastalığ a ikincil olarak gelişmektedir. YDP'de küçük ve orta büyüklükteki damarların tıkanması sonucu organlara giden kan akımı azalır, multipl organ yetmezliğine neden olan hemodinamik ve metabolik değişiklikler olur. Koagülasyon sisteminin aktivasyonu koagülasyon proteinlerinin ve trombositlerin tüketimi ve harcanmasına, bunun sonucunda da kanamaya yol açar. Böylece aynı anda tromboz ve kanama problemleri gelişir. Sendromun laboratuvar bulguları; pro-koagülan aktivasyonu, fibrinolitik sistem aktivasyonu, inhibitör madde tüketimi ve son organ hasarı veya yetmezliğinin biyokimyasal göstergelerini içermektedir (63,64).

2.3.2 Etiyoloji

YDP kendiliğinden oluşmaz. Hipoksi, asidoz, doku nekrozu, şok ve endotel hasarı gibi hayatı tehdit eden patolojik süreçlerin birkaçı YDP'nin tetiğini çekebilir. Ayrıca sepsis (özellikle meningokoksemi), uygunsuz kan transfüzyonları, riketsiyal infeksiyonlar, yılan ısırması, purpura fulminans, dev hemanjiomlar ve başlıca akut promiyelositik lösemi olmak üzere malignensiler YDP'ye neden olabilir. Vakaların 2/3'ünden infeksiyonlar sorumludur (62,65,66).

2.3.3 Altta yatan hastalıklar

YDP çoğunlukla birçok hastalık durumu ile ilişkilidir. Genel olarak YDP' ye neden olabilen iki ana yol vardır; a) Sitokin ve koagülasyon zincirini aktive eden sistemik inflamatuvar cevap (sepsis ve ağır travma gibi) ve b) Kan akımına pro-koagülanların salınmasıdır (kanser veya obstetrik hastalıklar gibi) (67).

Sepsis YDP' nin altta yatan en sık nedenidir. Klinik olarak belirgin YDP Gram (-) sepsisli hastaların %30-50'sinde oluşabilir. YDP'nin insidansında Gr (-) ve Gr (+) sepsisli hastalar arasında farklılık yoktur. Septisemik hastalıklarda bakteriyel hücre membranının içeriği (lipopolisakkarit veya endotoksin) veya bakteriyel

ekzotoksinler (stafilokok alfa toksini gibi) koagülasyon bozukluklarının tetiğini çekerek YDP' ye yol açar. Bu bileşenler trombositlerin salınımına ve endotelde birikimine neden olurlar. Koagülasyon faktörlerini de uyararak koagülasyonu aktive ederler. Endotoksinler; sitokinler (TNF- α , IL-1) ve kompleman aktivasyonunu uyaran proinflamatuvar durumu kolaylaştırarak, endotel hasarı ve bozukluklarına ve böylece son organ hasarına yol açar (65,67,68).

Varisella zoster virüs, hepatit virüsleri ve sitomegalovirüs en sık YDP ile ilişkili virüslerdir. Herhangi bir nedenle oluşan fulminan viral hepatit ve akut karaciğer yetmezliği YDP' ye yol açabilir, ancak YDP' nin ciddi karaciğer fonksiyon bozukluğu ile ilişkili koagülasyon bozukluklarından ayırımı zordur (66,69).

Sistemik inflamatuvar cevap sendromu olan ağır travmalı hastalar arasında YDP insidansı %50-70'tir. Ağır travmalı vakalarda, özellikle beyin gibi doku faktörünün (Tissue Factor: TF) zengin olduğu bölgelerden TF'nin salınımı, endotel hasarı, sitokin cevabı ve hemoliz olayları bir araya gelerek YDP' nin tetiğini çekerler (62,68,70).

Aktive nötrofillerden elastazın salınması endotel hücre hasarına neden olarak sistemik inflamatuvar cevabın sürmesine ve multipl organ fonksiyon bozukluğu sendromuna neden olur. Ağır yanıklı hastalarda da mikrohemoliz sonucu dolaşıma eritrosit membran fosfolipidleri ile adenosin difosfatın salınması, nekrotik yanık dokularından hücre enzimleri ve TF' nin sistemik dolaşıma salınması YDP gelişimine yönelik tetiği çeken unsurlar olabilir (62,70).

Metastatik tümörlü hastaların % 10-15' inde YDP bulguları vardır. Sendrom akut lösemili hastaların yaklaşık %15' inde görülür. Bazı solid tümör hücreleri prokoagülan molekülleri (TF ve faktör X'u aktive eden sistein proteaz) salgılar. Kanser ile ilişkili YDP çoğunlukla kronik bir süreçtir, klinik bulguları olsun ya da olmasın kompanse bir durumdadır (62,68).

2.3.4 Fizyopatoloji

Aynı anda birkaç mekanizma YDP' nin patogenezinde rol oynar. Doku faktörü aracılı trombin oluşumu sistemik fibrin birikimine neden olurken aynı anda fizyolojik antikoagülanlar baskılanır ve PAI-1 yoluyla da fibrinolizis bozulur. Birkaç proinflamatuvar sitokin YDP' de koagülasyon ve fibrinolizisin bozulmasına yol açar.

IL-6, koagülasyon aktivasyonunun asıl mediyatörüdür ve TNF- α fizyolojik antikoagülan yolları ve fibrinolizisi inhibe eder (Şekil 3) (62,70,71).

YDP' yi tetikleyen faktörlerden bağımsız olarak fazla trombin ve plazmin oluşumu vardır. Bu nedenle bütün bozuklukların neden olduğu YDP patofizyolojisinde fibrin ve fibrin yıkım (fibrinolizis) ürünlerinin artmış oluşumu vardır (72).

2.3.4.1 Trombin oluşumu:

Doku faktörü aracılı trombin oluşumu YDP patogeneğinde asıl rolü oynar. YDP' de trombin oluşumu, TF/aktive faktör VII kompleksi ile başlatılır. Doku faktörü /faktör VIIa kompleksi faktör IX ve X' un dönüşümünü katalize eder. Faktör IXa ve Xa, faktör X ve protrombinin aktivasyonunu artırarak trombinin oluşumuna yol açar. Trombin fibrinojeni fibrine dönüştüren güçlü bir trombosit aktivatörüdür (69,73,74).

2.3.4.2 Fizyolojik antikoagülan yolların inhibisyonu:

Normalde trombin oluşumu AT III, protein C ve doku faktörü yolu inhibitörü (TFPI) ile sınırlanır. Bu düzenleyici sistem YDP' de endotelial fonksiyon bozukluğu nedeniyle kusurludur. Antitrombin III; trombin ve faktör Xa' nın en önemli inhibitörüdür (75). YDP' de plazmadaki AT III düzeyleri, tüketim, aktive nötrofillerden elastaz salınımı ile yıkıma uğrama, karaciğerde bozulmuş sentez ve kapillerlerden damar dışına sızıntı nedeniyle çok düşüktür. YDP' de düşük AT III düzeyleri sepsisli hastalarda artmış mortalite ile ilişkilidir (73,76). Protein C sistemi de belirgin bir şekilde bozulmuştur. Bu özellikle TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinler ile endotelial hücrelerde trombomodulin oluşumunun baskılanması sonucudur. Artmış tüketim, bozulmuş sentez ve vasküler sızıntı sepsiste görülen protein C yetersizliğine katkıda bulunan unsurlardır (77). Doku faktörü yolu inhibitörü, TF' nin doğal inhibitörüdür. YDP' de TFPI' nin endojen konsantrasyonlarının azaldığını gösteren kanıtlar vardır (67).

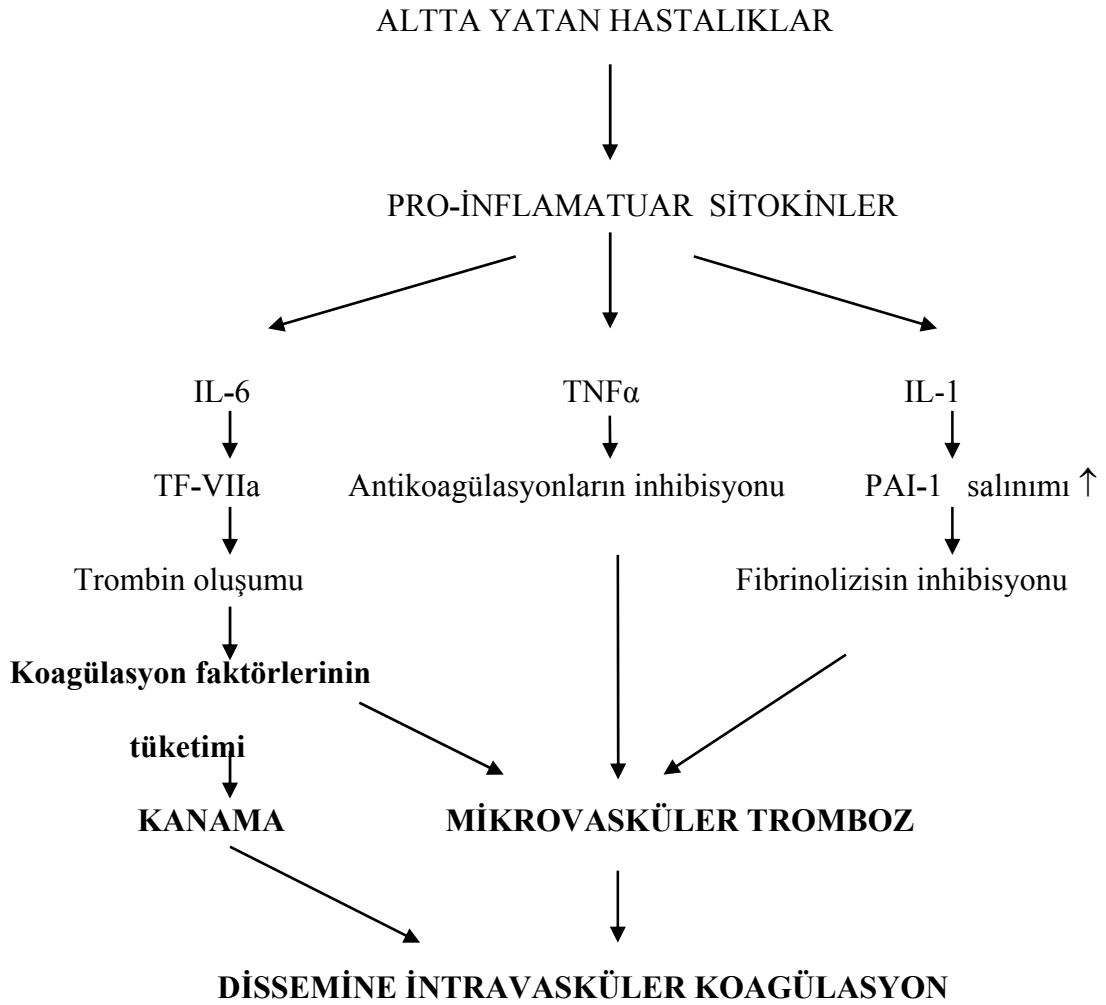
2.3.4.3 Kusurlu fibrinolizis:

Fibrinolitik aktivite, temel inhibitörü olan PAI-1 ile belirgin bir şekilde düzenlenmektedir. Fibrinolitik sistem veya plazminojen sistemi YDP' de doğrudan baskılanma ve inhibisyona uğrar. Doku plazminojen aktivatörü (tPA) komşu endotelial hücrelerden plazmini oluşturmak için salınmakta ve oluşan plazmin fibrini

parçalamaktadır. Dolaşımdaki tPA, fibrinin doğal inhibitörü olan PAI-1, PAI-2 ve α 2-antiplazmin ile nötralize edilir (67,74).

2.3.4.4 Koagülasyon ve inflamasyon arasındaki etkileşim:

Koagülasyonun aktivasyonu, koagülasyon protein zimogenleri ve inflamasyonu bildiren yolları uyaran hücre reseptörlerinin her ikisiyle de etkileşen proteazları üretir. Proinflamatuvar mediyatörler dolaşımdaki monositler, doku makrofajları ve nötrofillerde TF' nin oluşumunu uyarır. Koagülasyon proteinleri (faktör Xa, trombin ve fibrin gibi) proinflamatuvar sitokinleri ve büyüme faktörlerini salgılayan endotel hücrelerini aktive eder. Koagülasyon ve inflamasyon arasındaki etkileşimde proteaz aktive eden reseptörün önemli rolü vardır (66,78,79).



Şekil 2.3. Dissemine intravasküler koagülasyonun patogenezi. IL:interlökin, TNF- α : tümör nekrozis faktör- α , TF: doku faktörü, PAI-1: plazminojen aktivatör inhibitörü-1(66,70,71 No'lu kaynaklardan alınmıştır).

2.3.5 Laboratuvar tanısı

YDP testleri aşağıda sınıflandırılmıştır (66):

1-Damariçi fibrin oluşum testleri ve fibrin(ojen) yıkım ürünleri için testler: YDP'nin patogenezinde asıl tetikleyici unsur kusurlu fibrin oluşumu olduğu için, plazmada çözünebilir fibrinin gösterilmesi YDP tanısı için esastır. Klinik çalışmalar artmış çözünebilir fibrin düzeylerinin YDP'in tanısında % 90-100 arasında yüksek duyarlılıkta olduğunu göstermiştir (80). Fibrin(ojen) yıkım ürünleri, plazminin fibrin ve/veya fibrinojeni parçaladığı sırada oluşur. Fibrin yıkım ürünlerinin düzeyleri YDP'li hastaların % 80-100'ünde yükselir. Fibrin yıkım ürünleri karaciğerde metabolize edilir ve böbreklerden atılır. Bu nedenle plazma düzeyleri hepatic ve renal fonksiyonlara bağlıdır (72,81).

D-dimer, çapraz bağlı fibrin pıhtısının lizisi sonucu oluşur. Pozitif D-dimer testi güçlü tanısal bir testtir çünkü trombin ve plazminin her ikisinin de oluşumunu doğrular. Bu nedenle koagülasyon ve fibrinolizis aktivasyonu doğrulamak için D-dimer ölçümü, fibrin yıkım ürünleri (FDP)' nin ölçümünden daha duyarlıdır (66,81,82).

2-Trombin oluşum belirteçleri: Yükselmiş plazma trombin düzeylerini; protrombin parçaları 1+2 (F1+2), trombin-antitrombin (TAT) kompleksi ve fibrinopeptid A'nın artmış düzeyleri yansıtabilir. Yükselmiş F1+2, TAT ve fibrinopeptid A düzeyleri klinik bulguları belirgin olmayan YDP' in duyarlı göstergeleridir (63,66,72). Trombin zamanı uzamıştır. Plazminin artmış miktarının güçlü kanıtlarını sağlayan TT ilk 10 dakikada pıhtı lizisinin başlangıcını gösteren basit bir testtir (63).

3-Trombosit sayısı: Trombinin uyardığı trombosit agregasyonu YDP' deki trombosit tüketimini anlamlı bir şekilde açıklayabilir. Bununla birlikte çok ağır hastalarda aynı anda trombosit üretimi de bozulabilir. Trombosit sayımının 1-4 saat aralıklarla yapılması, trombin oluşumunun izlenmesi için önemlidir (66).

4-Koagülasyon faktörleri ve inhibitörleri: Koagülasyon faktörlerinin tüketimi ile PT ve aPTT gibi genel pıhtılaşma ölçütlerinin uzaması YDP' li hastaların sadece %50-70' inde olur. Bundan dolayı normal değerlerde olmaları YDP tanısını dışlamaz (66,72). Faktör V ve VII gibi pıhtılaşma faktörlerinin plazma konsantrasyonları çoğunlukla düşüktür. YDP'si olan çoğu hastada tersine faktör VIII

düzei yükselmiş olabilir. Faktör VIII gibi bir akut faz reaktanı olan fibrinojen, süren tüketime rağmen normal plazma düzeylerinde kalabilir (80)

AT III ve protein C gibi koagülasyonun fizyolojik inhibitörlerinin plazma düzeyleri koagülasyonun aktivasyonunun dolaylı belirleyicileridir. Ağır YDP'si olan hastalarda düşük plazma protein C konsantrasyonu kötü klinik sonuçlarla ilişkilidir (66,74).

5-Artmış fibrinolizis belirteçleri: Birkaç test YDP'de fibrinolizisin artmış olduğunu gösterebilir. Yaygın damariçi pıhtılaşması olan hastalarda plazminojenin plazmine dönüşmesi ve α 2-antiplazmin de hızla plazmin- α 2-antiplazmin (PAP) kompleksini oluşturması sonucu, her ikisinin de düzeyleri düşer (72,73). Düşük düzeylerde PAP kompleksi ve PAI-1'in yüksek düzeyleri şiddetlenen hastalığın belirleyicileridir (73). International Society on Thrombosis and Haemostasis alt komitesi 2001 yılında YDP için beş adımlık tanısal bir algoritma oluşturmuştur. Bu skorlama Tablo 2.3.1'de verilmiştir (73,81).

Tablo 2.3.1. Yaygın damariçi pıhtılaşması tanı algoritması

1.Riski değerlendiriniz.

Yaygın damariçi pıhtılaşması ile ilişkili olduğu bilinen altta yatan hastalık var mı? Eğer varsa algoritmaya devam ediniz.

2. Koagülasyon testlerini yapınız.

Trombosit sayısı, protrombin zamanı, fibrinojen düzeyi, çözünebilen fibrin monomerleri, fibrin yıkım ürünleri

3. Testlerin sonuçlarını skorlayınız.

a. Trombosit sayısı ($10^3/\text{mm}^3$) (>100=0 puan; <100=1 puan;<50=2 puan).

b.Yükselmiş çözünebilen fibrin monomerleri ve fibrin yıkım ürünleri (Artmamış=0 puan; orta derecede artmış=2 puan; çok artmış= 3 puan).

c. Uzamış protrombin zamanı (sn) (3=0 puan; 3-6=1 puan; >6=2 puan).

d. Fibrinojen düzeyi ($\geq 1\text{g/l}=0$ puan; $<1\text{g/l}=1$ puan).

4. Skorlamayı hesaplayınız.

5. Puan ≥ 5 ; belirgin YDP ile uyumlu, skorlamayı günlük olarak tekrarlayınız.

Puan<5; şüpheli YDP, skorlamayı 1-2 gün sonra tekrarlayınız.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Çalışmanın şekli

Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Bakteriyoloji Anabilim Dalı'na Nisan-2005 ile Eylül-2005 tarihleri arasında KKKA ön tanısı ile takip edilen erişkin yaştaki hastalar arasında ileriye dönük olarak yapılmıştır. Çalışma için Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Etik Kurul Başkanlığı'ndan 20.06.2006 tarih ve 5/5 sayılı karar ile izin alınmıştır.

3.2 Olgu seçimi ve ribavirin tedavisi

Hastanemize Tokat, Yozgat ve Sivas İlleri kırsal kesimlerinden 2002 yılından beri KKKA hastaları yatırılarak takip ve tedavi edilmektedir. Nisan-2005 ile Eylül-2005 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Bakteriyoloji Anabilim Dalı'na KKKA ön tanısı ile yatırılarak takip ve tedavi edilen erişkin hastalar çalışmaya alındı. Türkiye'de ilk KKKA olgularının 2003 yılında tanımlanmasından sonra T.C. Sağlık Bakanlığı ve KKKA çalışma gurubu tarafından KKKA olgu tanımlama kriteri oluşturulmuştu. Buna göre aşağıdaki iki kritere sahip olan hastalar şüpheli KKKA olgusu olarak değerlendirilip çalışmaya alındılar.

1. KKKA için epidemiyolojik risk faktörü hikayesi olan hastalar:

- a) Kene teması (Kene ile ısırılma, kene kırma öyküsü) ve/veya
- b) KKKA için epidemik olan bölgeye seyahat veya o bölgede yaşama öyküsü

2. VKA'yı düşündüren akut hastalık tablosu

- a) Ateş (aksiller, $>38^{\circ}\text{C}$) ve trombositopeni (kan trombosit sayısı $< 150 \times 10^9$ hücre/L) ve/veya
- b) Hemorajik manifestasyonlar (ekimoz, purpura, peteşi, gastrointestinal kanamalar, epistaksis, kan alınan vücut bölgelerinden kanamalar veya kadınlarda adet dışı vajinal kanamalar)

Yukarıdaki olgu tanımına uyan hastalar acilen hastaneye yatırıldılar. Daha önce aralarında hastanemizin de bulunduğu çok merkezli bir klinik çalışmada KKKA hastalarında oral ribavirin tedavisinin etkinliği araştırılmıştır. Bu çalışmada 2004

yılında 4 farklı hastanede KKKA ön tanısı ile hastaneye yatırılan hastalara oral ribavirin tedavisi uygulanmış ve bu hastalar arasındaki vaka-ölüm oranları yine aynı hastanelerde 2003 yılında yatırılarak takip edilen ve oral ribavirin tedavisi almayan hastalar arasındaki vaka-ölüm oranları karşılaştırılmıştır. Oral ribavirin tedavisi uygulanan 126 hastadaki %7.1 olan vaka-ölüm oranı, 92 hastalık kontrol gurubundaki %11.9'luk vaka-ölüm oranından farklı olmadığı ve dolayısıyla bu hastalarda ribavirin tedavisinin etkin olmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada ayrıca hastalardaki şuur bozukluğu, splenomegali ve/veya uzamış INR (>1.4)' nin birbirinden bağımsız olarak hastalardaki mortaliteyi tahmin ettikleri ve bu bulgulardan en az birinin olması halinde olgunun şiddetli olgu olarak tanımlanması ve oral ribavirin tedavisinin verilmesi gerektiği bildirilmiştir (82). Buradan yola çıkarak çalışmanın yapıldığı 2005 yılında KKKA olgu tanımına uyan şiddetli kategorideki KKKA hastalarına yatırıldıktan hemen sonra Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)' nün önerdiği şema ve dozda (30 mg/kg'lık başlangıç yükleme dozunun ardından 4 gün süreyle 15 mg/kg her altı saatte bir ve 6 gün süreyle 7.5 mg/kg her sekiz saatte bir) toplam 10 gün süreyle oral ribavirin tedavisi uygulandı (12). Çalışmaya alınan hastaların detaylı anamnezleri alındıktan sonra kendilerine yapılacak işlem hakkında bilgi verildi. Takip sırasında eğer hasta KKKA dışında bir tanı almışsa ribavirin tedavisi kesildi. Bütün hastalara takip sırasında gerektiğinde kan ve kan ürünleri ve diğer destek tedavileri uygulandı. Hastalık nozokomiyal yol bulaşabildiğinden hastaların takibi sırasında sıkı bariyer önlemleri (eldiven, önlük, maske v.b.) alındı.

Her hasta için şu veriler hasta dosyalarına ve önceden oluşturulmuş formlara kaydedildi: (1) Demografik ve edpidemiyolojik veriler: yaş, cins, hastanın işi, hastanın yaşadığı yer, epidemiyolojik alanına seyahat öyküsü, kene ısırığı ve kene kırma öyküsü, hayvan teması; (2) Klinik veriler: Hastalık semptomlarının başlama tarihi, başvuru anındaki hastalık semptomları ve klinik bulguları; (3) Laboratuvar verileri: Rutin kan ve biyokimyasal test sonuçları, mikrobiyolojik test sonuçları; (4) Uygulanan tedaviler: ribavirin tedavisinin uygulanıp uygulanmadığı ve verilen kan ve kan ürünleri (trombosit süspansiyonu, eritrosit süspansiyonu, taze donmuş plazma); (5) Sonuç verileri: şifa veya ölüm.

HEMORRAJİK FEVER TANISI İLE TAKİP EDİLEN HASTALARA AİT TAKİP FORMU

ADI SOYADI: CİNSİYETİ: YAŞI: YATIŞ T: / /200

MESLEK: YAŞADIĞI İL: İLÇE:KÖY: ÇIKIŞ T: / /200

HASTALANDIĞI TARİH: / /200

HAYVANCILIK YAPIYOR YAPMIYOR

YABANI HAVAN TEMASI: Yok Tavşan Domuz Tilki Diğer

Hayvan ısırması: Yok Kene Köpek Yabani Hayvan

Akibeti: Salah ile taburcu Yatıyor Ölüm infeksandan Ölüm kanamadan

Ölüm diğer

SEMPTOMLAR

BİLİNÇ: Açık Konfüze Kapalı
Baş ağrısı: Yok Hafif Şiddetli
Kas ağrısı: Yok Var Şiddetli-yaygın
Kırıklık: Yok Var
Boğaz ağrısı: Yok Var
Bulanti: Yok Var
Kusma: Yok Var
İshal: Yok Var
Öksürük: Yok Var
İdrar şikayeti: Yok Var

Ateş: Yok Titreyerek artan Devamlı İntermittan Remittan

Kanama: Yok Epistaksis Hematemez Melena Hematüri Multiple

BULGULAR

Yüzde hiperemi: Yok Var
Ense sertliği: Yok Var
Konjuktivit: Yok Var
Sarılık: Yok Var

Periton irritasyon bulguları: Yok Var

Akciğer dinleme bulguları: Yok Var

Hepatomegali: Yok Var
Splenomegali: Yok Var
Lenfadenopati: Yok Tek bölgede var Çok bölgede var
Kalp dinleme bulguları: Yok Üfürüm var Aritmi var İki de var
Serbest sıvı bulguları: Yok Peritonda Plevrada Perikardda 2 bölgede 3 bölgede
Deri döküntüsü: Yok Var (Çıkış tarihi): / /200
Makül Papül Püstül Peteşi-ekimoz Eritem Vezikül
Yerleşim yeri: Baş-boyun Gövde Ekstremitte Gövde-ekstremitte

LABORATUVAR BULGULARI (BASVURU ANINDA) TARİH: / /200

Trombosit sayısı: Hemoglobin: Kan lökosit : Sedimentasyon :
PT: aPTT: ALT AST : LDH : CPK :
Kan şekeri: BUN : Kreatinin : CRP :
Proteinüri: Hematüri:
D-dimer: Coxiella IgM Wright agg testi: Weil-felix

UYGULANAN TEDAVİLER :

Oral ribavirin tedavisi : Uygulandı (/ /200) Uygulanmadı

Kan ve kan ürünleri (Ünite)

Trombosit suspansiyonu: Eritrosit suspansiyonu : Taze donmuş plazma:

LABORATUVAR BULGULARI (TABURCU/ÖLDÜĞÜ ANDA) TARİH: / /200

Trombosit sayısı: Hemoglobin: Kan lökosit : Sedimentasyon :
PT: aPTT: ALT AST : LDH : CPK :
Kan şekeri: BUN : Kreatinin : CRP :
Proteinüri: Hematüri:
D-dimer: Coxiella IgM Wright agg testi: Weil-felix

3.3 Sağlıklı Kontrol gurubu ve Hasta Kontrol gurubunun seçilmesi

Sağlıklı Kontrol gurubu olarak aynı yörede bulunan, yaşam özellikleri benzer, yaş ve cinsiyetleri hasta grubu ile uyumlu sağlıklı gönüllü erişkin erkek ve kadınlar arasından seçilen 15 kişi tarafından oluşturuldu. Kontrol grubundan sadece bir kez serum sitokin seviyeleri ölçülerek her kontrol için ayrı ayrı kaydedildi. Kontrol gurubunda hiçbir olguda bilinen hepatik, renal ve pankreatik yetmezlik, gastrointestinal, akut kardiyovasküler, serebrovasküler hastalık ve hipertiroidizm öyküsü mevcut değildi. Ayrıca olguların hiçbiri son bir aydır sigara ve ilaç kullanmıyordu. Çalışılan süre içinde hastanemizde KKKA dışındaki bir hastalık nedeniyle yatarak tedavi gören 5 hastadan da Hasta Kontrol gurubu oluşturuldu. Bu hasta gurubundan da sadece bir kez serum sitokin seviyeleri ölçülerek her hasta için ayrı ayrı kaydedildi. KKKA dışı hasta kontrol gurubundan 4 hasta sepsis tanısıyla takip ediliyordu ve dördünde de kan kültürlerinde üreme mevcuttu (*S. aureus*, *E. coli*, *S. Epidermidis*). Diğer hasta ise Steven Johnson sendromu tanısına sahipti. Takip sırasında bu hastalardan üçünün öldüğü gözlemlendi, diğer iki hasta ise şifa ile taburcu oldu.

3.4 Tanıya yönelik test çalışmaları

3.4.1 Hasta serumlarının elde edilmesi ve saklanması

KKKA şüpheli her hasta hastaneye kabul edildiğinde acilen her hastadan 4 adet en az 2 ml serum eldesi için kan örnekleri alındı. Bir serum örneği, KKKA tanısında kullanılan serolojik ve virolojik testlerin yapılması için KKKA Ulusal Referans Merkezi (Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü, Ankara)' ne gönderildi. Diğer 3 serum örneğinden biri CCHFV viral yükünün başvuru anında ölçülmesi için Gülhane Askeri Tıp Fakültesi (GATA, Ankara) Viroloji Laboratuvarına sonradan gönderilmek üzere -80°C 'de saklandı. Diğer iki serum örneği ise serum sitokin seviyelerinin ve anti-CCHFV immünoglobulin-G (IgG) seviyelerinin başvuru anı için sonradan ölçülmek üzere yine -80°C 'de saklandı. Tüm hastalardan hasta yatışının en az 7. gününde, yada 10. gününde yaşıyorsa KKKA tanısında kullanılmak üzere konvelesan serum örnekleri alınarak serolojik testlerde kullanılmak üzere Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü'ne gönderildi. Kanda viral yük ve sitokin çalışması için 31 Temmuz 2005 tarihine kadar olan ilk 52 hasta dahil edildi. Bu hastalardan yattığı günden itibaren yaşayan hastalardan 7 gün boyunca, ölen hastalarda ise öldüğü güne

kadar ardışık serum viral yük tayini ve serum sitokin seviyeleri için serum örnekleri alınarak -80°C 'de saklandı. 1 Ağustos 2005 tarihinden itibaren gelen 33 hastanın tanısı için ise sadece akut ve konvelesan dönem kan örnekleri alınıp hastalık tanısı için kullanıldılar. Bu hastalar çalışmaya dahil edilmediler. Böylece 2005 yılı boyunca toplam 95 KKKA olgu tanımına uyan hasta Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Bakteriyoloji Kliniği'ne yatırılarak takip ve tedavi edildi. Bu hastalar arasında KKKA olgu tanımına uyan şiddetli kategorideki hastalara oral ribavirin tedavisi verilmeye devam edildi. Fakat bu hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

3.4.2 Serolojik, virolojik testler ve KKKA hastalarının tanısı

Hasta serumlarında anti-CCHFV IgM ve IgG antikorlarının varlığı sırasıyla Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) IgM capture assay ve sandwich capture assay testleriyle yapıldı. Serum örneklerde viral antijen double antibody sandwich capture assay testiyle yapıldı. Bu üç test de Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü'nde yapıldı. Bu testlerde kullanılan reagentler Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Viroloji Laboratuvarından elde edildi (4). Ardışık hasta serumlarında viral yük araştırması Kubar ve ark.(100)' nın 2005 yılında tariflediği real-time RT-PCR yöntemine göre yapılarak copy/ml olarak ifade edildi. KKKA hastalarının tanısı akut ve konvelesan örneklerin en az birinde özgül anti-CCHFV IgM test pozitifliği ve/veya ELISA antijen test pozitifliği veya real time RT-PCR test pozitifliği ile kondu.

3.5 Hematolojik, biyokimyasal ve diğer testler

KKKA olgu tanımına uyan tüm hastalarda hasta yatışından itibaren mümkün olduğunca günlük olarak tam kan sayımı (testlerinde kan beyaz küre sayısı, trombosit sayısı ve hemoglobin) ve rutin biyokimyasal testler çalışılarak her hasta için ayrı ayrı formlara kaydedildi. Rutin biyokimyasal testlerde kan AST, ALT, LDH, CPK ve total bilirubin testleri günlük olarak kan üre azotu (BUN), kreatinin, albümin seviyeleri hasta yattığı sürece iki-üç günde bir çalışıldı. Ayrıca her hastada kan koagülasyon testleri prothrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) ve international normalized ratio (INR) iki-üç günde bir çalışıldı. Serum C-reaktif protein (CRP) seviyeleri (nephelometrik yöntem ile, immage, USA cihazında) ve eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) da hasta yattıktan hemen sonra en az bir kez

çalışıldı. Tam idrar analizleri dipstik yöntemlerle en az bir kez yapıldı. Bütün hastalardan yatışında en az 3 kez kan kültürü alınarak Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderildi. Gerekliğinde ishali olan hastalarda dışkı mikroskopi ve kültürü, üriner yakınması olan hastalardan idrar kültür ve mikroskopi işlemleri yapıldı. Tüm hastalarda başlangıçta postero-anterior göğüs röntgenogramları mutlaka, ekokardiyografi işlemi ise gerektiğinde yapıldı. Hasta serum örnekleri Brucella antikorlarının varlığı açısından Rose Bengal ve tüp aglütinasyon testleri ile incelendi. Giemsa ile boyanmış periferik yaymalar hücre içi Ehrlichia inklüzyonları (morula) ve sıtma açısından her hasta için değerlendirildi. Bütün hastalar akut viral hepatit A ve akut viral hepatit B açısından mutlaka serolojik açıdan değerlendirildiler.

Tam kan sayımı, hastanemiz Hematoloji Laboratuvarında modul 1: ADVA120 cihazı ile, hücrelerin flow cell' den geçişi ve lazer tarafından algılanması ile mm^3 'deki hücre sayısı ölçülerek yapıldı. ESH, Becton Dickinson SEDI system cihazı, USA ile ölçülerek milimetre/hr olarak ifade edildi. Kan PT ve aPTT süreleri STA cowpact, USA cihazı ile sitratlı tüpte 3000 devirde 10 dk süreyle santifüj edilerek çalışıldı ve sonuçlar sn olarak ifade edildi. Rutin biyokimyasal testler hastanemiz Biyokimya laboratuvarında Beckman coulter/synchron LX20, USA cihazında çalışılarak kaydedildi.

3.6 Serum sitokin ve anti-CCHFV IgG seviyelerinin ölçülmesi

Hasta grubunda, önceden bilinen kronik böbrek yetmezliği, diabetes mellitus, kronik karaciğer hastalığı, aktif veya kronik tüberkülozu olanlar, KKKA harici bilinen akut enfeksiyonu olanlar, anti-inflamatuar ilaç alanlar ve gebeler çalışmaya dahil edilmedi. Takipte yeni diabetes mellitus, viral hepatit tanısı alanlar ile KKKA tanısı için yapılan test sonuçları negatif olanlar serum sitokin seviyesi ölçümü ve anti-CCHFV IgG seviyelerinin ölçümü çalışmasına alınmadılar.

KKKA hasta gurubu, sağlıklı kontrol gurubu ve hasta kontrol gurubundaki bireylere ait önceden alınan ve önceden -80°C 'de saklanan serum örneklerinde 5 sitokin (IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10)' in serum seviyeleri üretici firmanın talimatına uygun olarak ölçüldü. Dondurulmuş serum örnekleri ölçüm işleminden önce oda sıcaklığında eritildi ve tüm ölçümler her sitokin için aynı günde yapıldı. Sitokin seviyesi ölçümünde kullanılan ELISA kitleri piyasadan satın alındı (Biosource Immunoassay Kit, USA). Optik dansite 450 nm dalga boyunda ELISA

okuyucu (Awarizeness, Stat Fax 3200 model) yardımı ile ölçüldü. Optik dansite sonuçları alındıktan sonra Biosource firmasının ürettiği Microsoft Windows tabanlı Briowin version 2.3 adlı bilgisayar programına her sitokin plağından elde edilen optik dansite sonuç verileri girilerek serum sitokin seviyeleri belirlenip her sitokin için pg/ml olarak ifade edildi. Çalışılan her sitokin kiti plağındaki standart optik dansite değerlerinin firmanın önceden belirlediği sınırlar içinde olduğu gözlemlendi. Serum anti-CCHFV IgG antikor titreleri sadece KKKA hasta gurubunda ölçüldü. Bu test kiti (Vector-Best Laboratories, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia) de ELISA prensibiyle çalışıyordu ve piyasadan satın alındı. Serum anti-CCHFV IgG antikor titreleri üretici firmanın uygulama talimatına göre ELISA okuyucuda (Awarizeness, Stat Fax 3200 model) 450 nm dalga boyunda ölçülerek optik dansite olarak ifade edildi. Üretici firma serum örneklerinde ölçülen optik dansite değeri 0.90 nm ve üzerinde ise bu serum örneğinin anti-CCHFV IgG titresini pozitif olarak kabul etmesine rağmen biz, hasta serumlarından ölçülen optik dansite değerlerini pozitif yada negatif olarak ifade etmeyip, sadece ölçülen optik dansite değerlerini grafik üzerinde gösterdik. Tüm sitokin ve anti-CCHFV IgG ölçümleri Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Merkezi (CÜTFAM)' nde biyogüvenlik seviyesi II olan güvenlik kabinlerinde sıkı bariyer önlemleri (N95 maske, eldiven, önlük v.b.) alınarak yapıldı.

3.7 YDP skorlamasının hesaplanması

KKKA hastalarında YDP skorlaması International Society on Thrombosis and Haemostasis skorlama sistemine göre yapıldı. Skorlama, trombosit sayısı ($10^9/L$) ($>100=0$ puan; $<100=1$ puan; $<50=2$ puan), yükselmiş çözünebilen fibrin monomerleri ve FDP (Artmamış= 0 puan; orta derecede artmış= 2 puan; çok artmış= 3 puan), uzamış protrombin zamanı (saniye) ($3= 0$ puan; $3-6= 1$ puan; $>6= 2$ puan), fibrinojen düzeyi ($>1g/L= 0$ puan; $<1g/L= 1$ puan) ele alınarak yapıldı. Puan ≥ 5 ; belirgin YDP ile uyumlu olduğu düşünöldü (73,K22).

Çalışılan süre içinde (1 Nisan 2005 – 31 Temmuz 2005) ardışık serum örnekleri alınan ve viral yükleri pozitif 26 hasta çalışmaya alındı. Bu hastalardan 6'sı takip sırasında ölen hastalar idi. Çalışılan dönemde ölen hasta sayısı oldukça düşük (6 hasta) olduğundan, KKKA nedeniyle takip edildiği sırada ölen, daha önce serum örnekleri -80^0C 'de saklanmış olan ve ardışık serum viral yükleri pozitif olan 2004

yılından 2, 2006 yılından 3, toplam 5 KKKA hastası da çalışmaya dahil edildi. Bu hastalardan ikisi ölmeden önce ribavirin tedavisi almışlardı. Çalışmaya dahil edilen bu 5 hasta da çalışma alınma şartlarını karşılıyordu. Böylece sitokin ve anti-CCHFV antikor ölçümü çalışmasına 11'i ölen 20'si yaşayan toplam 31 hasta dahil edildi. Bu hastalardan 14'ü ribavirin tedavisi alan, 17'si ise ribavirin tedavisi almayan hastalardan oluşuyordu.

3.8 İstatistiksel analiz

Çalışmaya alınan 31 hastadan elde edilen tüm veriler Microsoft Windows veritabanlı Statistical Package for Social Sciences (SPSS; Ver:10.0) istatistik programına yüklendi. Hastalara ait epidemiyolojik veriler önce sağlıklı kontrol gurubu ve hasta kontrol gurubu ile istatistiksel olarak karşılaştırıldılar. Daha sonra KKKA hasta gurubu ölen ve yaşayan KKKA hastaları olarak iki guruba ayrıldı ve bu hastalardan elde edilen epidemiyolojik veriler, başlangıç klinik, laboratuvar, tedavi ve sonuç verileri gerektiğinde kontrol gurubu hastalar olmak üzere karşılaştırıldılar. En sonunda KKKA hastaları ribavirin tedavisi alanlar ve almayanlar olmak üzere iki guruba ayrılarak elde edilen sonuç veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Verilerin değerlendirilmesinde; Bağımsız gruplar arasında iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testinde gerektiğinde Mann-Whitney U testi, gerektiğinde Kruskal-Wallis testi, kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı. Denek sayısı az olduğunda Fisher'in kesin Ki-Kare testi kullanıldı. Ardışık ölçümlerde grup içindeki değerler arasında fark olup olmadığı Friedman ve Wilcoxon testi ile değerlendirildi. Korelasyon analizleri Pearson testi ile yapıldı. İstatistiksel değerlendirmelerde kullanılan testler tablo altlarında da dip not olarak verildi. Tüm veriler çift yönlü olarak karşılaştırılmış olup, $P < 0.05$ olduğunda aradaki fark önemli kabul edildi. Grafikler, Microsoft Windows veritabanlı GraphPad Prism (version 4.0) bilgisayar programı ile çizildi.

4.BULGULAR

Çalışmaya alınan hasta gurubunda 15 (%48.4) kadın, 16 (%51,6) erkek, toplam 31 olgunun yaşları (ortalama \pm Standart hata) 48.7 ± 16.02 yıl, sağlıklı kontrol gurubundaki 15 olgunun yaşları 41.2 ± 15.79 yıl, hasta kontrol gurubundaki 5 olgunun yaşı ise 43.8 ± 21.84 yıl idi. Guruplar arasında yaş açısından fark istatistiksel olarak önemsizdi ($P > 0.05$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Kırım-Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen hastalar, sağlıklı kontrol gurubu ve hasta kontrol gurubuna ait demografik özelliklerinin karşılaştırılması.

Değişken	Tüm hastalar (n=31)	Sağlıklı Kontrol (n=15)	Hasta Kontrol (n=5)
Yaş, Ort. \pm SE	$48.7 \pm 16.02^{a,b}$	41.2 ± 15.79^c	43.8 ± 21.84
(Sınırlar) y	(19-82)	(18-80)	(18-76)
Hastaneye gelmeden önceki gün, Ort. \pm SE, sınırlar	$5.8 \pm 2.8, 1-12$		
Cins, n (%)			
Erkek	16 (51.6) ^b	9 (60)	3 (60)
Kadın	15 (48.4)	6 (40)	2 (40)
Meslek, n (%)			
Ev hanımı	15 (48.4) ^c	6 (40)	2 (40)
Çiftçi	11 (35.5) ^c	3 (20)	0 (0)
İşsiz	2 (6.4) ^c	2 (13.3)	3 (60)
Çoban	3 (9.6) ^c	4 (26.7)	
Risk faktörleri, n (%)			
Hayvan teması	27 (87.1)		
Kırsal kesimde yaşama	20 (64.5)		
Kene teması*	20 (64.5)		
Kırsal kesime seyahat	5 (16.1)		

* Kene ısırması, kene kırma, kene temizleme

^a Tüm hastalar ile kontrol grupları arasında fark yok $P > 0.05$. Kruskal-Wallis test.

^b Tüm hastalar ile kontrol grupları arasında fark yok $P > 0.05$. Ki-Kare test.

^c Tüm hastalar ile sağlıklı kontrol grubu arasında fark yok $P > 0.05$. Ki-Kare test.

Hasta grubunda 16 (%51.6) erkek, 15 (%48.4) kadın, hasta kontrol grubunda 9 (%60) erkek, 6 (%40) kadın, hasta kontrol grubunda 3 (%60) erkek, 2 (%40) kadın mevcuttu. Cinsiyet yönünden gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ($P>0.05$). Hasta grubunun 15 (%48.4)'i ev hanımı, 11 (%35.5)'i çiftçi, 2 (%6.4)'si işsiz, 3 (%9.6)'ü çoban idi. Gruplar arasında meslek yönünden de istatistiksel fark önemsizdi ($P>0.05$). KKKK hasta gurubu önceden bildirilmiş olan risk faktörleri açısından incelendiğinde 31 hastanın 27 (%87.1)'sinde hayvan teması, 20 (%64.5)'sinde kırsal kesimde (KKKA olgularının varlığının belirlendiği bir bölgede) yaşama, 20 (%64.5)'sinde kene teması ve 5 (%16.1)'inde kırsal kesime (KKKA olgularının varlığının belirlendiği bir bölgeye) seyahat öyküsü mevcuttu. KKKK hasta gurubu, sağlıklı kontrol gurubu ve hasta kontrol gurubuna ait elde edilen epidemiyolojik veriler Tablo 4.1'te gösterilmiştir.

KKKK hastaları hastaneye başvurduğu sıradaki hastalık semptom ve fizik muayene bulguları açısından incelendiğinde; 31 hastanın tümünde halsizlik, 29 hastada (%93.5) kas ağrısı, yorgunluk ve ateş, 22 (%70.9)'sinde baş ağrısı, 23 (%74.1)'ünde üşüme titreme, 24 (%77.4)'ünde bulantı mevcuttu. Hastaların ilk değerlendirmedeki fizik muayene bulguları incelendiğinde; 31 hastanın 29 (%93.5)'unda ateş, 16 (%51.6)'sında döküntü mevcuttu. Ölen ve yaşayan hasta grupları semptom ve fizik muayene bulguları açısından karşılaştırıldığında yaşayan hasta grubunda üşüme ve titreme daha fazla idi (%95 vs %36.4) ve aradaki fark önemli olarak bulundu ($P<0.05$). Aynı şekilde ölen hasta grubunda 4 (%36.3) hastada sarılık varken yaşayan hastalarda sarılık yoktu ($P<0.05$). Ölen hastada sadece bir hastada stupor varken yaşayan hastalar arasında yoktu ($P<0.05$).

Tablo 4.2. Takip sırasında ölen ve yaşayan Kırım-Kongo kanamalı ateş hastalarına ait başlangıç semptom ve bulgularının karşılaştırılması.

Değişken	Tüm hastalar (n=31)	Yaşayanlar (n=20)	Ölenler (n=11)	P*
Semptomlar n (%)				
Halsizlik	31 (100)	20 (100)	11 (100)	–
Kas ağrısı	29 (93.5)	19 (95)	10 (90)	1.000
Ateş	29 (93.5)	18 (90)	11 (100)	1.000
Yorgunluk	29 (93.5)	19 (95)	10 (90)	1.000
Bulantı	24 (77.4)	14 (70)	10 (90)	0.372
Üşüme titreme	23 (74.1)	19 (95)	4 (36.4)	0.0009
Baş ağrısı	22 (70.9)	12 (83)	10 (90)	0.107
Kusma	19 (61.3)	12 (60)	7 (63)	1.000
İshal	16 (51.6)	13 (65)	3 (27.2)	0.07
Öksürük	12 (38.7)	8 (40)	4 (36.4)	0.698
Boğaz ağrısı	1 (3.2)	0 (0)	1 (9.1)	0.355
Bulgular, n (%)				
Ateş**	29 (93.5)	18 (90)	11 (100)	0.527
Makülopapüler döküntü	16 (51.6)	9 (45)	7 (63.9)	0.458
Kanama	13 (41.9)	7 (35)	6 (54.5)	0.449
Fasial hiperemi	10 (32.2)	7 (35)	3 (27.2)	1.000
Konjunktival hiperemi	10 (32.2)	7 (35)	3 (27.2)	1.000
Peteşi-ekimoz	8 (25.5)	4 (20)	4 (36.3)	0.406
Hepatomegali	4 (12.9)	3 (15)	1 (9)	1.000
Sarılık	4 (12.9)	0 (0)	4 (36.3)	0.01
Stupor	1 (3.2)	0 (0)	1 (9.1)	0.003

* Fisher Ki-kare test

** Aksiller >38°C

Tüm KKKA hastalarının ilk değerlendirmedeki laboratuvar bulguları Tablo 4.3'te verilmiştir. Genel olarak tüm KKKA hastalarında hastaneye kabul edildiğinde laboratuvar bulgularında bozulmaların olduğu gözlemlendi. Çoğu hastanın başvuru anında lökopenik olduğu, ama bazı hastalarda da lökositozun olduğu gözlemlendi. Ortalama kan beyaz küre sayısı ölen hasta grubunda yaşayanlara göre istatistiksel olarak daha yüksekti ($P<0.05$). Hastaneye başvuru anında ölen ve yaşayan hastalara ait rutin laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında genellikle ölen hastaların laboratuvar parametreleri yaşayan hastalara göre daha bozuk idi. Kan hemoglobini, platelet sayıları, ESH, karaciğer fonksiyon testlerinden ALT, kan CPK'sı ve kan albümin değerleri hariç, çalışılan diğer laboratuvar değerleri ölen hasta grubunda istatistiksel olarak daha yüksek yada daha düşük olarak bulundu ($P<0.05$). Örneğin kötü prognoz göstergesi olan INR değeri yaşayan hastalarda ortalama 0.97 iken, ölen hastalarda ise ortalama 1.90 idi ($P<0.05$). Aynı şekilde YDP skoru 5 ve üzerinde olan hasta oranı yaşayan hasta grubunda %25 iken, ölen hasta grubundaki 11 hastanın hepsinde de YDP skoru 5 ve üzerinde ve aradaki fark istatistiksel olarak önemli idi ($P<0.05$).

Hastalar ve kontrol gurupları başlangıçtaki serum sitokin seviyeleri açısından karşılaştırıldılar (Tablo 4.4). Genel olarak tüm KKKA hastalarında IL-1 β hariç diğer sitokinlerde yükselme olduğu gözlemlendi. Tüm hastalarda başlangıç ortalama serum IL-6 düzeyi 161.3 pg/ml, yaşayanlarda 70.7 pg/ml, ölenlerde ise 326.1 pg/ml idi. Sağlıklı kontrol grubunda 3.7 pg/ml gibi düşük seviyede, KKKA dışı hasta kontrol grubunda ise 77.1 pg/ml olarak hesaplandı. Ortalama serum IL-6 seviyeleri ölen KKKA hastaları arasında en yüksek olduğu, ayrıca tüm guruplar arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark olduğu gözlemlendi ($P<0.05$). Tüm hastalarda başlangıç ortalama IL-10 düzeyi 40.8 pg/ml, yaşayanlarda 46.5 pg/ml, ölenlerde 30.5 pg/ml, sağlıklı kontrol grubunda 4.3 pg/ml ve hasta kontrol grubunda 3.1 pg/ml idi. Tüm gurupların ortalama değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli idi ($P<0.05$). Guruplara ait ortalamalar ayrı ayrı karşılaştırıldığında sadece ölen ve yaşayan KKKA hastaları ortalamaları arasında istatistiksel açıdan fark gözlenmedi ($P>0.05$). Yaşayan KKKA hastaları ile, sağlıklı kontroller ve hasta kontroller arasında, ayrıca da ölen KKKA hastaları ile iki kontrol gurubu arasında istatistiksel olarak önemli fark gözlemlendi ($P<0.05$). Tüm KKKA hastalarında ortalama serum TNF- α düzeyi 107.1

pg/ml, yaşayanlarda 77.3 pg/ml, ölenlerde 161.3 pg/ml, sağlıklı kontrol grubunda 19.7 pg/ml, hasta kontrol grubunda ise 25.3 pg/ml olarak hesaplandı. Ortalama serum TNF- α değerleri açısından tüm gruplar arasında istatistiksel fark mevcuttu ($P<0.05$). Sadece sağlıklı kontrol grubu ile hasta kontrol grubu ortalamaları arasında istatistiksel açıdan fark yoktu ($P>0.05$). Serum TNF- α seviyelerinin ölen KKKA hastalarında en yüksek olduğu gözlemlendi. Ortalama serum IFN- γ düzeyleri ölenlerde 18.6 pg/ml ve yaşayanlarda 9.9 pg/ml olarak ölçüldü, ölen hasta grubundaki ortalama seviyeler yaşayanlara göre yüksek olmasına rağmen aradaki fark önemsiz idi ($P>0.05$). Sağlıklı kontrol grubu ile hasta kontrol grubunda hiç yükselme gözlenmedi (Tablo 4.4). Genel olarak tüm hastalar ve kontrol gruplarında birkaç hastadaki sınırlı yükselmeler hariç tutulduğunda IL-1 β seviyelerinde yükselme gözlenmedi. Bu yüzden bu sitokine ait veriler değerlendirmeye alınmayarak çalışmadan çıkarıldı.

KKKA hastaları hastaneye kabul gününde ortalama serum CCHFV viral yükleri açısından karşılaştırıldılar. Ölen hastalardaki ortalama serum viral yük seviyesi yaşayanlara göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu yaşayanlarda $\pm 3.8E+08$, ölenlerde ($5.5E+09$ copy/ml vs. $5.7E+08$ copy/ml; $P<0.05$). KKKA hastalarının hastalıklarının akut ve konvelesan döneminde Ankara, Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü'ne tanı amacıyla gönderilen serum örneklerinin 24 (%77.4)'ünde anti-CCHF IgM pozitifliği, 2 (%6.4)'sinde ise anti-CCHF IgG pozitifliği saptandı. Yaşayan KKKA hastalarının hepsinde anti-CCHF IgM pozitif iken, ölen 11 hastanın 4 (%36.4)'ünde anti-CCHF IgM pozitifliği vardı ($P<0.05$). Anti-CCHF IgG pozitif 2 hasta yaşayan hasta grubunda idi. Ölen KKKA hastalarının hiç birinde anti-CCHF IgG pozitifliğine rastlanmadı (Tablo 4.4).

Tüm hastalar arasında serum IL-6 seviyeleri ile kan CRP düzeyleri arasında pozitif korelasyon mevcuttu ($x^2=0.489$; $P<0.05$). Ayrıca serum IL-6 seviyeleri ile kan PT, aPTT ve INR değerleri arasında da pozitif korelasyon mevcuttu (sırasıyla $x^2=0.462$, $x^2=0.692$, $x^2=0.544$; $P<0.05$). Serum IL-6 seviyeleri ile kan CPK seviyeleri, serum virüs titreleri arasında ilişki yoktu ($P>0.05$). Buna ilaveten serum IL-6 seviyeleri ile YDP skorları arasında pozitif korelasyon mevcuttu ve bu korelasyon önemliydi ($x^2=0.489$; $P<0.05$). Serum IL-6 seviyeleri ile serum TNF- α

seviyeleri arasında da pozitif ilişki mevcuttu ($\chi^2=0.356$; $P<0.05$). Yine serum IL-6 seviyeleri ile IF- γ seviyeleri arasında pozitif ilişki mevcuttu ($\chi^2=0.373$; $P<0.05$)

Serum TNF- α seviyeleri ile kan PT, aPTT, INR, serum CPKseviyeleri ile virüs titreleri arasında ilişki gözlenmedi ($P>0.05$). Fakat serum TNF- α seviyeleri ile YDP arasında pozitif korelasyon mevcuttu ($\chi^2=0.426$; $P<0.05$).

Serum IL-10 seviyeleri ile YDP arasında negatif korelasyon bulmamıza rağmen bu ilişkinin istatistiksel olarak önemli olmadığı gözlemlendi ($\chi^2=-0.286$; $P>0.05$). Serum IL-10 seviyeleri ile kan platelet sayıları arasında korelasyon yoktu ($\chi^2=-0.94$; $P>0.05$).

Hastalar ribavirin haricinde uygulanan kan ve kan ürünleri açısından karşılaştırıldıklarında; yaşayan KKKA hastalarına verilen ortalama TDP miktarı ortalama 5.2 aferez ünite, platelet süspansiyonu 7.1 ünite, eritrosit süspansiyonu 0.7 ünite iken, ölenlerde ise sırasıyla 3.2, 4.7 ve 0.27 ünite idi ve gruplar arasında istatistiksel açıdan fark yoktu ($P>0.05$). Yaşayan hastalar arasında hastalık semptomlarının başlangıcından hastaneye gelene kadarki ortalama süre 5.9 gün, ölen hastalar arasında ise ortalama 4 gün idi. Aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ve ölen hastaların daha kısa sürede hastaneye başvurdukları gözlemlendi ($P<0.05$). Ölen hastaların ölene kadar minimum 1, maksimum 9 gün, ortalama 3.8 gün süreyle, yaşayan hastalara göre daha kısa süre hastanede kaldıkları gözlemlendi ($P<0.01$). KKKA'lı hastalara ait uygulanan kan ve kan ürünleri ile sonuç verilerinin karşılaştırılması Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tüm KKKA hastalarında aynı zamanda ardışık olarak 7 gün boyunca serum sitokin seviyeleri ve rutin laboratuvar değerlerinin de çalışıldığı bu tezin Gereç ve Yöntem bölümünde belirtilmişti. Genel olarak ölen ve yaşayan KKKA hastalarındaki serum ortalama IL-6 seviyelerinin çalışılan dönem içinde yüksek olarak kaldığı gözlemlendi (Tablo 4.6). Ardışık ölçümlerde yaşayan ve ölen hastalar arasında istatistiksel fark gözlenirken ($P<0.05$), grupların kendi içindeki ardışık ölçümlerinde istatistiksel fark gözlenmedi ($P>0.05$). Serum ortalama IL-10 seviyeleri açısından ardışık günlerde ne iki grup arasında ne de gruplar içinde istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmedi ($P>0.05$). Yaşayan hasta grubunda başlangıç IL-10 seviyesine göre azalma, ölenlerde ise başlangıç seviyelerine göre bir artma gözlenmesine rağmen bu artış ve azalmalar önemli değildi. Ardışık günlerde

serum TNF- α seviyeleri ölenler ile yaşayanlar arasında önemli derecede farklı idi ($P<0.05$). Ölen hastalar arasında seviyeler günler içinde düşerken bu düşme istatistiksel olarak anlamlı değildi ($P>0.05$). Ölen hasta gurubunda hastaneye başvuru gününde 161 pg/ml olan TNF- α seviyelerinin bir gün sonra 64 pg/ml gibi değerlere düştüğü, bunun da ilk günün sonunda serum sitokin değerleri yüksek olan 3 hastanın ölmüş olmasına bağlandı. Ardışık ölçümlerde serum IF- γ seviyelerinde her iki gurup hastalarda da azalmalar gözlemlendi ama bu azalmalar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($P>0.05$).

Ölen hasta gurubunda ardışık ölçümlerde serum virus titreleri sürekli yüksek seyretti. Hastaneye yattıktan 5 gün sonra bile hastalarda $7.4E+07$ copy/ml gibi yüksek seviyelerde viral titre bulunmaktaydı. Serum virus titreleri yaşayanlarda sürekli azalarak başlangıçtaki $5.7E+08$ gibi yüksek bir değerden yatışın 6. günündeki 5500 copy/ml seviyelerine kadar düştüğü gözlemlendi. İki gurup hasta arasında ardışık ölçümlerde istatistiksel fark bulunuyordu ($P<0.05$). Ölen hasta gurubu içinde viral yük titrelerinde günler içinde fark gözlenmezken ($P>0.05$), yaşayan KKKK hastaları arasında günler içinde virus titrelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı, özellikle bu azalmanın yatışın 4, 5, ve 6. günlerinde önemli olduğu gözlemlendi ($P<0.05$). Ölen hastalarda CCHFV'ye özgül serum IgG antikor titreleri ardışık günler içinde üretici firmanın belirttiği eşik optik dansite seviyesi olan 0.90 seviyelerine hiç ulaşamazken, yaşayan hastalarda yatıştan 1 gün sonra eşik değerine çıktığı ve daha sonra sürekli yüksek değerlerde olduğu gözlemlendi. yeterli düzeye yükselmezken, yaşayanlarda ardışık günlerde giderek yükseldi. Her iki hasta gurubunda antikor titreleri açısından ardışık ölçümlerde fark istatistiksel olarak önemli idi ($P<0.05$; Tablo 4.6).

Hastalara ait ardışık rutin laboratuvar test sonuçları Tablo 4.7'de gösterilmiştir. Genel olarak ardışık ölçümlerde kan beyaz küre, platelet, AST, ALT, LDH ve CPK ortalamaları açısından ölen ve yaşayan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı derecede farkların olduğu gözlemlendi ($P<0.05$). Çalışılan dönem içinde ölen hastalarda platelet seviyeleri düşük seyretti. Yaşayan hastalarda ise günler içinde sürekli olarak arttığı ve yatıştan sonraki üçüncü günde ortalama kan platelet değerinin 100.000 hücre/mm³ değerinin üzerine çıktığı ve ardışık ölçümlerde bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($P<0.05$). Genel olarak her iki gurup hastalar arasında

ortalama karaciğer enzimleri, LDH ve CPK değerleri ölenlerde ardışık ölçümlerde normal seviyelere inmediği, yaşayan hastalarda bazı parameterlerde düşmeler gözlemlendiği halde bu düşmenin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi (Tablo 4.7).

Takip edildiği sırada ölen ve yaşayan KKKA hastalarının serum ortalama sitokin, viral yük ve anti-CCHFV IgG antikorlarının hastaların hastalık günlerine göre dağılımı Grafik 1'de gösterilmiştir. Genel olarak ölen hastalarda serum TNF- α ve IF- γ seviyelerinin hastalığın 5. gününde pik yaptığı, IL-6'da ise aynı hasta gurubunda hastalığın 4 ve 7. günlerinde pik görüldüğü, IL-10 seviyelerinde ise ölen hastalarda hastalığın 5. günlerinde en düşük seviyelerde, yaşayanlarda ise bu günde maksimum seviyelerde olduğu gözlemlendi. Serum ortalama viral yüklerin hastalık günlerine göre yaşayanlarda hastalığın 6. gününe kadar azaldığı, bu günden sonra tekrar artışa geçerek 8. gündeki bir pikten sonra düştüğü ve hastalığın 12. gününe kadar düşerek bu günde 10.000 copy/ml seviyelerinde olduğu gözlemlendi (Grafik 1). Tüm hastaların ardışık serum anti-CCHFV IgG seviyelerinin hastalık günlerine göre dağılımı incelendiğinde hastalığın 8. gününden itibaren çalışılan ELISA kitlerini üreten firmanın belirlediği 0.90 (optik dansite) seviyelerine ulaşıldığı ve hızla yükseldiği gözlemlendi. Viral titrelerin ölçüldüğü hastalığın ilk 7 günü içinde ne ölen, ne de yaşayan hastalar arasında eşik değer olan 0.90 seviyesinin aşılamadığı gözlemlendi. Hastalığın 12. gününde ölen bir hastanın serumu anti-CCHFV IgG ölçülmesine yetmediği için bu değerler grafik üzerinde gösterilemedi (Grafik 1).

Takip edildiği sırada ölen ve yaşayan KKKA hastalarının rutin kan ve biyokimya testlerinin ortalama değerlerinin hastaların hastalık günlerine göre dağılımı Grafik 2'de gösterilmiştir. Genel olarak çalışılan hastalık günlerinde ölen hastalardaki kan ve serum laboratuvar değerlerinin yaşayanlara göre bozuk seyrettiği gözlemlendi. Örneğin Kan ortalama platelet sayılarının tüm hastalarda hastalığın 4. gününe kadar düştüğü, yaşayan hastalarda hastalığın 8. gününden itibaren artmaya başladığı ve ortalama kan platelet seviyelerinin bu hasta gurubunda hastalığın 11. gününde normal değer seviyelerine ulaştığı gözlemlendi. Ölen hasta gurubunda ise hastaların kan platelet değerlerinin sürekli düşük seyrettiği gözlemlendi. Kan lökosit değerlerinin de yaşayan hastalarda hastalığın 2. gününde lökopenik olduğu hastalığın yine 8. gününden itibaren arttığı ve ortalama değerlerin normal değerlere çıktığı

belirlendi. Ortalama serum AST, ALT ve LDH seviyeleri hastalık günlerine göre yaşıyan hastalarda daha düşük idi. CPK enziminin her iki hasta gurubunda da hastalık günlerine göre giderek arttığı, daha sonra hastalığın 9. gününden sonra azalarak 15. günde normal değerlere geldi (Grafik 2).

Tablo 4.3. Kırım-Kongo kanamalı ateşli hastalara ait başlangıç rutin laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması *

Laboratuvar testi	Tüm Hastalar (n=31)	Yaşayanlar (n=20)	Ölenler (n=11)	P**	Referans aralığı
BK (x10⁹/L)	3.8 (1.2-13.5)	2.9 (1.2-3.6)	5.4 (1.8-13.5)	0.045	4.0-11.0
Platelet (x10⁹/L)	49 (9-153)	53 (11-153)	29 (9-68)	0.094	150-450
Hb (g/dL)	13.3 (6.0-17.6)	13.8 (7.1-16.4)	12.4 (6.0-17.6)	0.07	13.2 (4.3-18.6)
ESH (mm/h)	23 (3-62)	21 (3-62)	27 (9-60)	0.73	19 (2-75)
PT (s)	16.8 (11.6-43.8)	14.0 (11.6-30.9)	21.7 (14.2-43.8)	0.000	9.45-13.0
aPTT (s)	39.7 (27.0-75.3)	34.2 (27.0-44)	49.7 (36.2-75.3)	0.001	25.1-34.7
INR	1.3 (0.8-4.5)	0.97 (0.8-1.3)	1.90 (1.3-4.5)	0.000	
CRP (mg/L)	20.4 (1-136)	6.3 (1-33)	46 (14-136)	0.000	0-8
AST (U/L)	716 (22-4455)	352 (22-839)	1376 (126-4455)	0.043	9-36
ALT (U/L)	330 (12-2541)	275 (12-2541)	428 (55-1575)	0.68	10-28
LDH (U/L)	1625 (110-7300)	922 (110-4550)	2902 (333-7300)	0.004	200-480
CPK (U/L)	1092 (51-4920)	956 (51-3764)	1341 (140-4920)	0.457	20-150
Kreatinin (mg/dL)	1.3 (0.5-5.2)	0.8 (0.8-5.2)	2.1 (0.5-1.3)	0.000	0.6-1.2
Bilirubin (mg/dL)	1.0 (0.4-3.0)	0.84 (0.4-1.5)	1.35 (0.5-3.0)	0.034	0.2-1.6
Albumin (mg/dL)	2.9 (2.0-3.5)	2.9 (2.3-3.3)	2.8 (2.0-3.5)	0.21	3.5-5.0
YDP, n (%)	16 (51.6)	5 (25)	11 (100)	< 0.0001	

* Bütün veriler ortalama (sınırlar) olarak gösterilmiştir.

** Mann whitney U test (YDP, Fisher Ki-kare test). BK, kan beyaz küre; Hb, hemoglobin; ESH, eritrosit sedimentasyon hızı; PT, protrombin time; aPTT, aktive parsiyal tromboplastin time; INR, international normalized ratio; CRP, C-reactive protein; AST, aspartat aminotransferaz; ALT, alanin aminotransferaz; LDH, laktat dehidrojenaz; CPK, kreatin fosfokinaz; YDP, yaygın damar içi pıhtılaşma.

Tablo 4.4. KKKA'lı hastalar ile sağlıklı kontrol gurubu ve KKKA dışı hasta kontrol gurubuna ait başlangıç ortalama serum sitokin seviyeleri ve ölen ve yaşayan KKKA hastalarının başlangıç ortalama serum CCHFV virus titreleri ile anti-CCHFV antikor yanıtlarının karşılaştırılması *

Değişken	Tüm Hastalar (n=31)	Yaşayanlar (n=20)	Ölenler (n=11)	Kontroller (n=15)	Non-KKKA hastalar (n=5)	P ^a
IL-6**	161.3 ± 35.8	70.7 ± 17.4 ^b	326.1 ± 74.9 ^b	3.7 ± 2.5 ^b	77.1 ± 36.4	0.000
IL-10**	40.8 ± 7.7	46.5 ± 9.6 ^c	30.5 ± 12.8 ^d	4.3 ± 1.5 ^e	3.1 ± 2.7	0.000
TNF-alfa**	107.1 ± 12.5	77.3 ± 7.2 ^f	161.3 ± 26.3 ^d	19.7 ± 6.5 ^e	25.3 ± 12.8	0.000
IF-gamma**	12.7 ± 2.9	9.9 ± 2.2 ^c	18.6 ± 8.1	0.0	0.0	
Viral yük***	2.4E+09±7.2E+08	5.7E+08±3.8E+08 ^b	5.5E+09±1.4E+09			
Anti-CCHFV	24 (77.4)	20 (100) ^g	4 (36.4)			
IgM poz., n (%)						
Anti-CCHFV	2 (6.4)	2 (10.0) ^h	0 (0)			
IgG poz., n (%)						

* Bütün veriler (Ortalama ± Standart hata) olarak gösterilmiştir.

** Değerler pg/ml olarak verilmiştir.

*** Değerler kopya/ml olarak verilmiştir.

^a Kruskal wallis test.

^b Grupların kendi aralarında fark var P<0.05. Mann Whitney U test.

^c Yaşayan hasta grubu ortalaması ile ölen hasta grubu arasında fark yok. P>0.05. Mann Whitney U test.

^d Ölen hasta grubu ile sağlıklı hasta grubu ve hasta kontrol grubu arasında fark var. P<0.05. Mann Whitney U test.

^e Sağlıklı kontrol grubu ve hasta kontrol grubu arasında fark yok. P>0.05. Mann Whitney U test.

^f Yaşayan hasta grubu ile tüm grup ortalamaları arasında fark var. P=0.000. Mann Whitney U test.

^g Yaşayan hasta grubu ile ölen hasta grubu arasında fark var. P=0.0001. Fisher Ki-kare test.

^h Yaşayan hasta grubu ile ölen hasta grubu arasında fark yok. P=0.0527. Fisher Ki-kare test.

Kısaltmalar: KKKA, Kırım-Kongo kanamalı ateş; CCHFV, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus; IL6, interlökin-6; IL-10, interlökin-10; TNF-alfa, tümör nekrozis faktör-alfa; IF-gamma, interferon-gamma.

Tablo 4.5. Kırım-Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen ve yaşayan ve ölen hastalara uygulanan kan ürünleri ile sonuç verilerinin karşılaştırılması

	(n) ortalama (sınırlar) *		<i>P</i> **
	Yaşayanlar (n=20)	Ölenler (n=11)	
Kan ürünleri, ünite			
Taze donmuş plazma	(3) 5.2 (2-12)	(4) 3.2 (8-13)	0.212
Platelet süspansiyonu, aferez	(6) 7.1 (1-11)	(5) 4.7 (2-7)	0.233
Eritrosit süspansiyonu	(2) 0.7 (2-12)	(1) 0.27 (3)	1.000
Hospitalizasyondan önceki süre Ort.±SE, sınırlar (g)	5.9 ± 0.44 (2-8)	4.0 ± 0.41 (2-7)	0.011
Hospitalizasyon süresi Ort.±SE, sınırlar (g)	7.3 ± 0.69 (3-17)	3.8 ± 0.87 (1-9)	0.005

* n, Kan ürünü alan hasta sayısı.

** Mann-Whitney U test.

Tablo 4.6. KKKA tanısı ile takip edilen ölen ve yaşayan hastaların ardışık serum sitokin, viral yük ve anti-CCHFV IgG değerleri

Laboratuvar testi	G ü n l e r *							P ^a
	0	1	2	3	4	5	6	
IL-6 (pg/ml)								
Ölen	326 ± 75 ^b	273 ± 81	377 ± 168	185 ± 58	181	231		<0.05
Yaşayan	70 ± 17 ^b	36 ± 9	83 ± 44	47 ± 14	109 ± 61	66 ± 29	91 ± 49	
IL-10 (pg/ml)								
Ölen	30.5 ± 12.8 ^b	51.6 ± 30.4	44.2 ± 22.4	22.6 ± 15.7	53.4	76.7		>0.05
Yaşayan	46.4 ± 9.6 ^b	43.8 ± 9.2	28.1 ± 5.3	20.5 ± 3.4	20.1 ± 2.6	19.0 ± 2.3	20.9 ± 3.5	
TNF-alfa (pg/ml)								
Ölen	161.3 ± 26.3 ^b	64.2 ± 14.5	81.5 ± 26.2	37.6 ± 2.4	56.9 ± 29.9	26.3		<0.05
Yaşayan	77.3 ± 7.2 ^b	76.3 ± 7.4	73.8 ± 7.9	86.2 ± 7.0	84.3 ± 8.2	78.8 ± 6.9	85.2 ± 3.0	
IF-gamma (pg/ml)								
Ölen	11 ± 5.1 ^b	3.1 ± 3.1	2.1 ± 2.0	3.8 ± 1.7	3.9 ± 3.6			>0.05
Yaşayan	12.3 ± 2.8 ^c	12.8 ± 3.7	6.1 ± 1.8 ^d	3.8 ± 1.5 ^d	3.9 ± 1.2 ^d	2.1 ± 0.8	2.8 ± 1.2	
Viral yükler**								
Ölen	5.5E+09 ^b	5.2E+09	9.9E+09	9.9E+09	5.2E+09	7.4E+07		<0.05
Yaşayan	5.7E+08 ^c	4.5E+06	2.3E+06	3.7E+07	3.0E+04 ^d	5.4E+04 ^d	5.5E+03 ^d	
Anti-CCHFV IgG***								
Ölen	0.618 ± 0.06 ^b	0.520 ± 0.06	0.478 ± 0.08	0.714 ± 0.04	0.637 ± 0.09	0.447 ± 0.07	0.690	<0.05
Yaşayan	0.872 ± 0.31 ^c	1.121 ± 0.35	1.530 ± 0.4	1.711 ± 0.36 ^d	1.844 ± 0.39 ^d	1.969 ± 0.17 ^d	2.311 ± 0.3	

* Bütün veriler viral yükler hariç Ortalama ± Standart hata olarak gösterilmiştir. Viral yükler sadece Ortalama olarak verilmiştir.

** Değerler copy/ml olarak verilmiştir.

*** Değerler optik dansite olarak verilmiştir.

^a Mann-Whitney U test.

^b Grup içinde ardışık ölçümler arasında fark yok. (p>0.05). Friedman test.

^c Grup içinde ardışık ölçümler arasında fark var. (p <0.05). Friedman test.

^d Grup içinde bazal değere göre fark var. (p <0.05). Wilcoxon test

Kısaltmalar: CCHFV, Crimean-Congo haemorrhagic fever virus; IL6, interlökin-6; IL-10, interlökin-10; TNF-alfa, tumor nekrozis factor-alfa; IF-gamma, interferon-gamma.

Tablo 4.7. KKKA tanısı ile takip edilen ölen ve yaşayan hastaların ardışık rutin laboratuvar verilerinin karşılaştırılması

Laboratuvar testi	G ü n l e r *							P ^a
	0	1	2	3	4	5	6	
BK (x10⁹/L)								
Ölen	5.4 ± 1.1 ^b	5.1 ± 0.9	6.5 ± 2.4	2.5 ± 0.2	2.5 ± 0.4	2.0 ± 0.09	3.1 ± 1.1	<0.05
Yaşayan	2.9 ± 0.4 ^b	4.4 ± 0.2	7.0 ± 0.4	4.1 ± 0.4	4.5 ± 0.4	5.0 ± 0.5	4.6 ± 0.3	
Platelet (x10⁹/L)								
Ölen	29 ± 6.3 ^b	23 ± 4.1	18 ± 3.2	31 ± 1.2	24 ± 9.1	25 ± 4.9	25 ± 11	<0.05
Yaşayan	53 ± 9.7 ^c	56 ± 8.6	66 ± 7.9 ^d	106 ± 17 ^d	145 ± 25 ^d	171 ± 33 ^d	195 ± 27 ^d	
AST (U/L)								
Ölen	1376 ± 470 ^b	3416 ± 1211	3467 ± 1792	1661 ± 816	2108 ± 308	6329 ± 4832	874 ± 300	<0.05
Yaşayan	450 ± 121 ^c	423 ± 138	615 ± 265	519 ± 304	263 ± 144 ^d	171 ± 67 ^d	97 ± 29	
ALT (U/L)								
Ölen	428 ± 159 ^b	1251 ± 448	752 ± 396	477 ± 258	510 ± 52	1297 ± 979	262 ± 103	<0.05
Yaşayan	176 ± 35 ^c	239 ± 54	234 ± 55	220 ± 49	143 ± 34 ^d	111 ± 29	70 ± 35	
LDH (U/L)								
Ölen	2902 ± 690 ^b	4968 ± 1617	6391 ± 2790	3164 ± 1711	3823 ± 381	7319 ± 4162	2672 ± 614	<0.05
Yaşayan	921 ± 242 ^c	799 ± 305	1199 ± 474	994 ± 463	615 ± 252 ^d	517 ± 150 ^d	298 ± 54 ^d	
CPK (U/L)								
Ölen	1325 ± 419 ^b	938 ± 28	1139 ± 433	1758 ± 894	1482 ± 544	1549 ± 577	874 ± 533	<0.05
Yaşayan	955 ± 233 ^b	869 ± 245	1067 ± 711	1265 ± 1058	1121 ± 1011	1136 ± 1011	72 ± 12	

* Bütün veriler Ortalama ± Standart hata olarak gösterilmiştir.

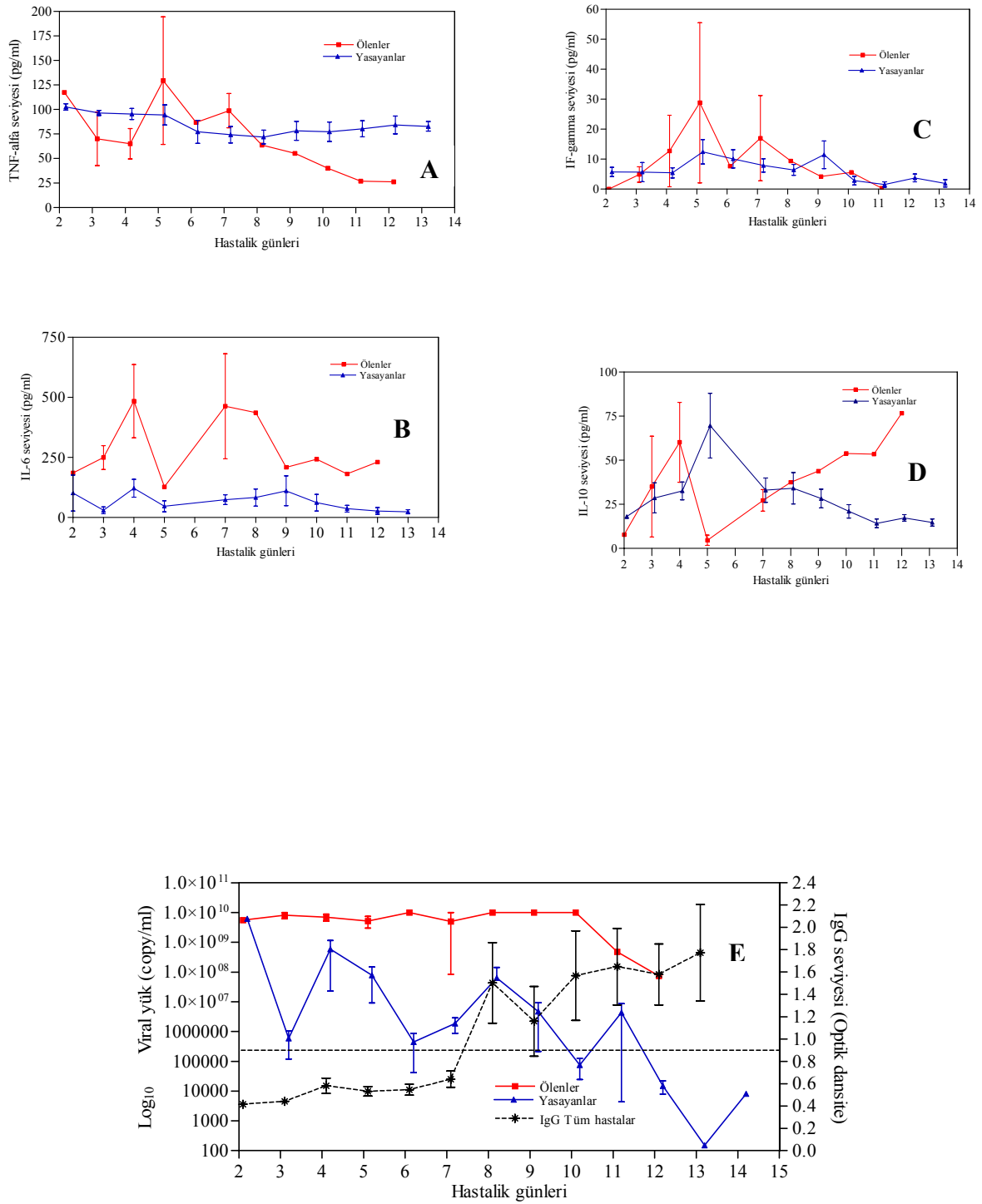
^a Mann Whitney U test.

^b Grup içinde ardışık ölçümler arasında fark yok (p>0.05). Friedman test.

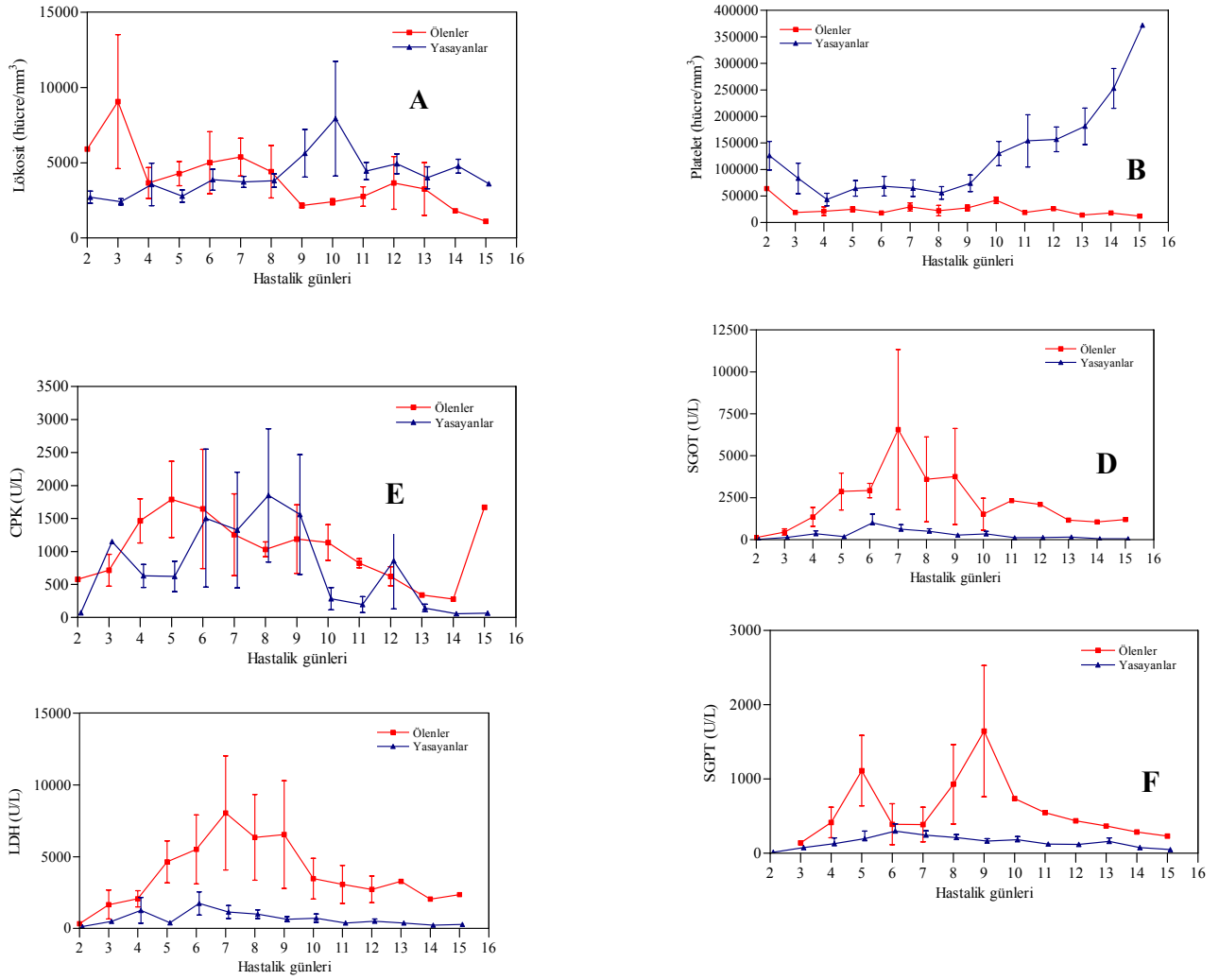
^c Grup içinde ardışık ölçümler arasında fark var (p<0.05). Friedman test.

^d Grup içinde bazal değere göre fark var (p<0.05). Wilcoxon test.

Kısaltmalar: KKKA (Kırım-Kongo kanamalı ateş) BK, kan beyaz küre; Hb, hemoglobin; ESH, eritrosit sedimentasyon hızı; PT, protrombin time; aPTT, aktive parsiyal tromboplastin time; INR, international normalized ratio; CRP, C-reactive protein; AST, aspartat aminotransferaz; ALT, alanin aminotransferaz; LDH, laktat dehidrojenaz; CPK, Kreatinin fosfokinaz.



Grafik 1. Kırım-Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen ve takip sırasında ölen ve yaşayan hastalara ait ardışık ortalama serum (A) TNF- α , (B) IF- γ , (C) IL-6, (D) IL-10, (E) viral yük ve anti-CCHFV IgG seviyelerinin hastalık günlerine göre dağılımı. Veriler ortalama \pm Standart hata olarak verilmiştir. IL6, interlökin-6; IL-10, interlökin-10; TNF-alfa, tümör nekroz faktör-alfa; IF- γ , interferon-gamma.



Grafik 2. Kırım-Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen ve takip sırasında ölen ve yaşayan hastalara ait ardışık ortalama (A) kan lökosit; (B) platelet; (C) CPK, Kreatin fosfokinaz; (D) AST, aspartat aminotransferaz; (E) LDH, laktat dehidrojenaz; (F) ALT, alanin aminotransferaz değerlerinin hastalık günlerine göre dağılımı. Veriler ortalama \pm Standart hata olarak verilmiştir.

Bu çalışmada şiddetli KKKA kliniği olan hastalara oral ribavirin tedavisi uygulanmıştı. Hastaları ribavirin tedavisi alanlar (ribavirin) ve oral ribavirin tedavisi almayanlar (kontrol) olmak üzere iki guruba ayırıp incelediğimizde her iki gurubun yaş ve cins açısından benzer olduğu gözlemlendi. Aynı şekilde ribavirin gurubundaki 14 hastanın başlangıç semptom ve fizik muayene bulguları ile kontrol gurubundaki 17 hastanın başlangıç semptom ve fizik muayene bulgularının üşüme titreme hariç benzer olduğu gözlemlendi (Tablo 4.8). Ribavirin gurubu ile kontrol gurubu hastaları başlangıç rutin laboratuvar testleri açısından karşılaştırdığımızda beklediğimiz şekilde genel olarak ribavirin gurubundaki KKKA hastalarının kontrol gurubu hastalara göre daha bozuk laboratuvar değerlerine sahip olduğunu gözlemledik (Tablo 4.9). Örneğin ribavirin gurubu kontrol gurubuna göre daha fazla trombositopenik ($28 \times 10^9/L$ vs. $58 \times 10^9/L$) olmasına rağmen aradaki fark önemsizdi ($P > 0.05$). Aynı şekilde ortalama ESH, CRP, AST, ALT, CPK, kreatinin ve total bilirübin değerleri ribavirin gurubunda kontrol gurubuna göre daha fazla olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak önemli değildi ($P > 0.05$). Genel olarak ribavirin gurubu hastalarda PT, aPTT ve INR değerleri ile YDP skoru 5 ve üzerinde olan hasta sayısı kontrol hastalara göre istatistiksel olarak daha fazla idi ($P < 0.05$). Ribavirin gurubu ile kontrol gurubu serum sitokin ve CCHFV yükleri açısından karşılaştırıldığında tedavi öncesinde her iki gurubun da benzer olduğu gözlemlendi (Tablo 4.10). Genel olarak çalışılan serum sitokin seviyeleri ve serum viral yükleri ribavirin gurubunda daha yüksek olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak önemli değildi ($P > 0.05$). Böylece çalışma sonunda ribavirin gurubundaki hastalara ait pıhtılaşma fonksiyon testleri hariç tutulduğunda ribavirin gurubu hastalar ile kontrol hastaların benzeşik olduğu sonucu çıkarılabilir.

Her iki grup hastalar uygulanan kan ve kan ürünleri açısından değerlendirildiğinde aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı sonucuna varıldı ($P > 0.05$). Her iki grup hasta hastaneye hastalık semptomları başladıktan sonra ortalama yaklaşık 5 günde başvurdu. Aynı şekilde her iki grup hasta da yaklaşık 6 gün hastanede kaldılar ($P > 0.05$). Bizim amacımız bu çalışmada oral ribavirin tedavisi alanlar ile almayanları vaka-ölüm oranı açısından karşılaştırmak değildi. Çünkü ribavirin gurubu bazı klinik ve laboratuvar bulguları açısından benzeşik olsa da bu gruptaki vaka ölüm oranının yüksek olması bekleniyordu (82).

Nitekim ribavirin gurubundaki 14 hastadan 8 (%57.1)'i, kontrol gurubundaki hastaların ise 3 (%17.6)'ü takip sırasında öldü. Aradaki fark istatistiksel olarak önemli idi ($P<0.05$). Hastalara ait tedavi ve sonuç verilerinin karşılaştırılması Tablo 4.11'de verilmiştir.

Her iki gurup hastalara ait ardışık ortalama serum sitokin değerleri ve viral yükleri karşılaştırılarak Tablo 4.12'de verilmiştir. Genel olarak ardışık günlerde çalışılan ortalama serum sitokin seviyeleri ve viral yükleri ribavirin ve kontrol gurubunda benzerdi ($P>0.05$). Çalışılan 7 gün boyunca serum ortalama IL-6 seviyelerinin kontrol gurubu hastalarda 127 pg/ml'den 50 pg/ml'ye düştüğü gözlemlendi. Özellikle bazal değere göre düşmeler yatışın 5 ve 6. günlerinde önemli idi. Aynı azalma aynı günlerde IF- γ 'da da gözlemlendi ($P<0.05$). Ribavirin gurubu hastalardaki ortalama serum viral yükü başlangıçtaki $3.2E+09$ copy/ml'den 3.100 copy/ml'ye kadar düşerken bu düşmenin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$), fakat kontrol gurubundaki başlangıçtaki $1.7E+09$ copy/ml'den 7.800 copy/ml'ye kadar düşme istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($P<0.05$). Kontrol gurubunda özellikle yatıştan sonraki 2, 5 ve 6. günlerde serum viral titreleri bazal değere göre anlamlı derecede azalıyordu. Her iki gurup hastalarda da ardışık günlerdeki CCHFV'ye özgül serum IgG antikor titrelerindeki artma istatistiksel olarak önemli değil idi ($P>0.05$).

Hastalara ait ardışık rutin laboratuvar test sonuçları Tablo 4.13'te gösterilmiştir. Genel olarak ardışık ölçümlerde kan beyaz küre, platelet, AST, ALT, LDH ve CPK ortalamaları açısından ribavirin ve kontrol gurubu hastalarda istatistiksel olarak anlamlı derecede farkların olduğu gözlemlendi ($P<0.05$). Ribavirin gurubu hastalarda ortalama kan platelet değerlerindeki artış özellikle tedavinin 4, 5 ve 6. günlerinde önemli iken ($P<0.05$), kontrol gurubundaki artış önemli değildi ($P>0.05$). Serum LDH değerleri açısından ardışık günlerdeki ölçümlerde her gurubun kendi içinde bazal değerlere göre anlamlı olarak fark olduğu gözlemlendi. Ribavirin gurubunda yatışın 6. gününde azalma önemli iken kontrol gurubunda 5 ve 6. gününde azalmalar istatistiksel olarak önemli idi ($P<0.05$). Başka bir anlatımla serum LDH seviyeleri kontrol gurubunda yatışın 3. gününden itibaren normal değerlere düşerken aynı günlerde ribavirin gurubu hastalarda hala normal değerlerin üzerinde idi.

Hastaların serum ortalama sitokin seviyeleri, viral yükleri ve anti-CCHFV IgG antikollarının hastalık günlerine göre dağılımı Grafik 3'te gösterilmiştir. Genel olarak ribavirin gurubunda serum TNF- α ve IF- γ seviyelerinin hastalığın 5. gününde pik yaptığı, aynı gurup hastalarda serum IL-6 seviyelerinin hastalığın 4 ve 6. günlerinde pik yaptığı, IL-10 seviyelerinde ise hastalığın 6. gününde en yüksek seviyelerde olduğu gözlemlendi. Serum ortalama viral yüklerin ribavirin gurubunda hastalığın 6. gününe kadar azaldığı, bu günden sonra tekrar artışa geçerek 8. gündeki bir pikten sonra düştüğü ve hastalığın 14. gününe kadar düşerek bu günde 10.000 copy/ml seviyelerinde olduğu gözlemlendi. Çalışılan dönem içinde real time RT-PCR ile 31 serum viral yükü pozitif hasta içinde hastalığının 14. gününden itibaren virus pozitifliğine rastlayamadık. Başka bir anlatımla Bu hastaların hastalığın 14. gününden itibaren viremik olmadığını gözlemledik.

Takip edildiği sırada ölen ve yaşayan KKKA hastalarının rutin kan ve biyokimya testlerinin ortalama değerlerinin hastaların hastalık günlerine göre dağılımı Grafik 4'de gösterilmiştir. Genel olarak çalışılan hastalık günlerinde ribavirin gurubundaki kan ve serum laboratuvar değerlerinin yaşayanlara göre bozuk seyrettiği gözlemlendi. Kan ortalama platelet sayılarının kontrol gurubu hastalarda hastalığın 10. gününde normal değer aralığının alt seviyesinin üzerine ($>150 \times 10^9/L$) çıktığı, ribavirin gurubunda ise ancak hastalığın 14. gününde normalleştiği gözlemlendi.

Tablo 4.8. Kırım-Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen ve oral ribavirin tedavisi alan ve almayan kontrol gurubu hastaların demografik özellikleri ile başlangıç semptom ve bulgularının karşılaştırılması

Değişken	Ribavirin	Kontrol	P*
	(n=14)	(n=17)	
Yaş, Ort., ± SE y	45.1± 4.4	51.6± 3.7	0.399
Kadın cinsiyet, n (%)	8 (57.1)	7 (41.1)	0.479
Semptomlar, n (%)			
Halsizlik	14 (100)	17 (100)	
Üşüme titreme	14 (100)	9 (53)	0.004
Ateş	14 (100)	15 (88.2)	0.488
Kas ağrısı	13 (93)	16 (94)	1.000
Yorgunluk	12 (85.7)	17 (100)	0.196
Bulantı	12 (85.7)	12 (70.5)	0.412
Baş ağrısı	11 (78.5)	11 (64.7)	0.456
Kusma	8 (57.2)	11 (64.7)	0.724
İshal	6 (42.8)	10 (58.8)	0.479
Öksürük	6 (42.8)	6 (35.2)	0.724
Boğaz ağrısı	1 (7.1)	0	0.452
Bulgular, n (%)			
Ateş, aksiller >38 ⁰ C	13 (93)	16 (94.1)	1.000
Makulopapüler döküntü	7 (50)	9 (52.9)	1.000
Kanama	7 (50)	6 (35.4)	0.481
Yüzde hiperemi	5 (35.7)	5 (29.4)	1.000
Konjuktival hiperemi	3 (21.4)	7 (41.1)	0.280
Hepatomegali	3 (21.4)	1 (5.8)	0.304
Peteşi-ekimoz	3 (21.4)	5 (29.4)	0.698
Sarılık	3 (21.4)	1 (5.8)	0.304
Stupor	1 (7.1)	0 (0)	0.452

* Fisher Ki-kare test.(yaş ortalaması Mann Whitney U test)

Tablo 4.9. Kırım-Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen ve oral ribavirin tedavisi alan ve almayan kontrol gurubu hastaların başlangıç rutin laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması*

Laboratuvar testi	Ribavirin (n=14)	Kontrol (n=17)	P**	Referans aralığı
BK (x10⁹/L)	5.3 (1.9-13.5)	2.6 (1.2-3.6)	0.02	4.0-11.0
Platelet (x10⁹/L)	28 (10-53)	58 (9-153)	0.12	150-450
Hb (g/dL)	12.3 (6.0-17.6)	14.1 (11.7-16.4)	0.07	14.3-18.6
ESH (mm/h)	27 (9-62)	21 (3-53)	0.37	19 (2-75)
PT (s)	19.8 (11.6-43.8)	14.3 (11.8-30.9)	0.004	9.45-13.0
aPTT (s)	46.1 (34.3-75.3)	34.4 (27.0-55.8)	0.001	25.1-34.7
INR	1.7 (0.8-4.5)	0.97 (0.8-1.3)	0.001	
CRP (mg/L)	26.9 (1-136)	15.1 (1-90)	0.416	0-8
AST (U/L)	882 (126-3390)	578 (22-4455)	0.142	9-36
ALT (U/L)	439 (55-2541)	240 (12-1575)	0.721	10-28
LDH (U/L)	2547 (297-7300)	865 (110-4507)	0.019	200-480
CPK (U/L)	1296 (140-4920)	925 (51-3090)	0.382	20-150
Kreatinin (mg/dL)	1.3 (0.7-5.2)	0.8 (0.5-1.6)	0.085	0.6-1.2
Bilirubin (mg/dL)	1.15 (0.5-3.0)	0.91 (0.4-1.8)	0.49	0.2-1.6
Albumin (mg/dL)	2.8 (2.0-3.5)	2.9 (2.5-3.3)	0.82	3.5-5.0
YDP, n (%)	12 (38.7)	2 (11.8)	< 0.0001	

* Bütün veriler ortalama (sınırlar) olarak gösterilmiştir.

** Mann-Whitney U test (YDP, Fisher Ki-kare test).

Kısaltmalar: BK, kan beyaz küre; Hb, hemoglobin; ESH, eritrosit sedimentasyon hızı; PT, protrombin time; aPTT, aktive parsiyal tromboplastin time; INR, international normalized ratio; CRP, C-reaktif protein; AST, aspartat aminotransferaz; ALT, alanin aminotransferaz; LDH, laktat dehidrojenaz; CPK, kreatin fosfokinaz; YDP, yaygın damar içi pıhtılaşma.

Tablo 4.10. Kırım-Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen ve oral ribavirin tedavisi alan ve almayan kontrol gurubu hastaların başlangıç ortalama serum sitokin seviyeleri ve CCHFV virus titrelerinin karşılaştırılması *

Laboratuvar testi	Ribavirin (n=14)	Kontrol (n=17)	P^a
IL-6**	202.7 ± 49.9	127.3 ± 50.6	0.084
IL-10**	34.2 ± 10.2	46.1 ± 11.3	0.399
TNF-alfa**	112.4 ± 19.9	102.8 ± 16.3	0.860
IF-gamma**	12.7 ± 4.3	11.2 ± 2.9	0.860
Viral yük***	3.2E+09±1.1E+09	1.7E+09±9.0E+08	0.186

* Bütün veriler (Ortalama ± Standart hata) olarak gösterilmiştir.

** Değerler pg/ml olarak verilmiştir.

*** Değerler copy/ml olarak verilmiştir.

^a Mann-Whitney U test.

Kısaltmalar: IL6, interlökin-6; IL-10, interlökin-10; TNF-alfa, tümör nekrozis faktör-alfa; IF-gamma, interferon-gamma.

Tablo 4.11. Kırım Kongo Kanamalı Ateş tanısı ile takip edilen ve ribavirin tedavisi alan hastalarla almayan kontrol hastalara ait kan ürünleri tedavileri ile sonuç verilerinin karşılaştırılması

	(n) ortalama (sınırlar)		<i>P</i> *
	Ribavirin (n=14)	Kontrol (n=17)	
Kan ürünleri, ünite			
Taze donmuş plazma	(3) 4.67 (2-13)	(4) 3.5 (6-10)	0.476
Platelet süspansiyonu, aferez	(5) 6 (1-11)	(6) 6 (2-9)	1.000
Eritrosit süspansiyonu	(2) 1.1 (3-12)	(1) 0.12 (2)	0.221
Hospitalizasyondan önceki süre Ort.±SE, sınırlar (g)	5.1 ± 0.54 (2-8)	5.3 ± 0.49 (2-8)	0.76
Hospitalizasyon süresi Ort.±SE, sınırlar (g)	6 ± 1.13 (1-9)	6.11 ± 0.66 (1-17)	0.73
Sonuç, n (%)			
Ölen	8 (57.1)	3 (17.6)	0.031
Yaşayan	6 (42.9)	14 (82.4)	

* n, kan ürünü alan hasta sayısı.

** Mann-Whitney U test (Sonuç Fisher Ki-kare test).

Tablo 4.12. Ribavirin alan ve almayan KKKA'lı hastalara ait ardışık sitokin, viral yük ve anti-CCHFV IgG değerlerinin karşılaştırılması.

Laboratuvar testi	G ü n l e r*							P ^a
	0	1	2	3	4	5	6	
IL-6 (pg/ml)								
Ribavirin	202 ± 49 ^b	119 ± 52	215 ± 116	86 ± 36	126 ± 90	139 ± 86	552 ± 276	>0.05
Kontrol	127 ± 50 ^c	37 ± 12	50 ± 15	44 ± 13	104 ± 78	47 ± 15 ^d	50 ± 18 ^d	
IL-10 (pg/ml)								
Ribavirin	34.2 ± 10.2 ^b	34.9 ± 10.4	36.4 ± 9.8	21.3 ± 6.4	23.1 ± 6.6	31.7 ± 10.2	31.4 ± 10.8	>0.05
Kontrol	46.2 ± 11.3 ^b	49.5 ± 11.7	33.4 ± 6.1	20.5 ± 3.9	21.3 ± 2.9	17.3 ± 2.0	17.9 ± 2.9	
TNF-alfa (pg/ml)								
Ribavirin	112.3 ± 19.9 ^b	69.1 ± 10.5	78.4 ± 12.4	71.3 ± 14.1	63.4 ± 11.1	57.8 ± 13.6	90.6 ± 5.0	>0.05
Kontrol	102.8 ± 16.3 ^b	71.5 ± 8.7	72.2 ± 9.5	87.9 ± 7.4	94.5 ± 9.5	87.4 ± 5.8	83.7 ± 3.5	
IF-gamma (pg/ml)								
Ribavirin	12.7 ± 4.3 ^b	7.9 ± 4.3	2.4 ± 1.1	2.1 ± 0.9	1.7 ± 0.2	1.4 ± 0.9	0.4 ± 0.2	>0.05
Kontrol	11.2 ± 2.9 ^c	13.8 ± 4.5	9.8 ± 2.3	4.8 ± 2.1	5.4 ± 1.7	2.4 ± 1.2 ^d	3.3 ± 1.4 ^d	
Viral yükler**								
Ribavirin	3.2E+09 ^b	2.6E+09	3.7E+08	2.5E+09	3.6E+09	1.8E+07	3.1E+02	>0.05
Kontrol	1.7E+09 ^c	4.1E+06	1.8E+06 ^d	5.7E+07	4.7E+04	7.8E+03 ^d	7.7E+03 ^d	
Anti-CCHFV IgG***								
Ribavirin	0.538 ± 0.04 ^b	0.611 ± 0.09	0.849 ± 0.33	1.187 ± 0.35	1.382 ± 0.48	1.458 ± 0.43	1.265 ± 0.57	>0.05
Kontrol	0.997 ± 0.33 ^b	1.177 ± 0.44	1.446 ± 0.48	1.597 ± 0.43	1.501 ± 0.41	1.819 ± 0.26	2.547 ± 0.34	

* Bütün veriler viral yükler hariç Ortalama ± Standart hata olarak gösterilmiştir. Viral yükler sadece Ortalama olarak verilmiştir.

** Değerler copy/ml olarak verilmiştir.

*** Değerler optik dansite olarak verilmiştir.

^a Mann-Whitney U testi.

^b Grup içinde ardışık ölçümler arasında fark yok. (p>0.05). Friedman test.

^c Grup içinde ardışık ölçümler arasında fark var. (p <0.05). Friedman test.

^d Grup içinde bazal değere göre fark var. (p <0.05). Wilcoxon test.

Kısaltmalar: CCHFV, Crimean-Congo haemorrhagic fever virus; IL6, interlökin-6; IL-10, interlökin-10; TNF-alfa, tumor nekrozis factor-alfa; IF-gamma, interferon-gamma.

Tablo 4.13.Ribavirin tedavisi alan ve almayan kontrol KKKK hastalarına ait ardışık rutin laboratuvar verilerinin karşılaştırılması.

Laboratuvar testi	G ü n l e r *							P ^a
	0	1	2	3	4	5	6	
BK (x10⁹/L)								
Ribavirin	5.3 ± 0.9 ^b	4.5 ± 0.7	5.4 ± 1.2	3.4 ± 0.4	3.6 ± 0.5	3.6 ± 0.7	4.0 ± 0.5	<0.05
Kontrol	2.6 ± 0.1 ^b	3.4 ± 0.2	3.8 ± 0.4	4.4 ± 0.5	4.9 ± 0.3	5.4 ± 0.6	4.8 ± 0.4	
Platelet (x10⁹/L)								
Ribavirin	28 ± 0.5 ^c	27 ± 0.4	40 ± 0.9	61 ± 1.4	71 ± 1.7 ^d	99 ± 3.2 ^d	127 ± 3.2 ^d	<0.05
Kontrol	49 ± 1.1 ^b	61 ± 1.0	70 ± 1.0	125 ± 2.5	149 ± 3.7	188 ± 4.9	215 ± 4.2	
AST (U/L)								
Ribavirin	1015 ± 312 ^b	2867 ± 1132	2159 ± 914	1106 ± 467	1146 ± 379	2851 ± 2203	395 ± 217	<0.05
Kontrol	584 ± 249 ^b	617 ± 324	365 ± 178	156 ± 36	93 ± 16 ^d	115 ± 40 ^d	110 ± 46	
ALT (U/L)								
Ribavirin	304 ± 93 ^b	1108 ± 408	414 ± 169	676 ± 95	377 ± 69	643 ± 436	248 ± 65	<0.05
Kontrol	234 ± 87 ^b	266 ± 103	184 ± 49	176 ± 30	86 ± 13	69 ± 17	31 ± 19	
LDH (U/L)								
Ribavirin	2546 ± 592 ^c	4426 ± 1512	3682 ± 1390	2056 ± 769	2174 ± 640	3598 ± 2072	1285 ± 603 ^d	<0.05
Kontrol	864 ± 249 ^c	870 ± 374	722 ± 349	385 ± 49	298 ± 23	354 ± 76 ^d	260 ± 35 ^d	
CPK (U/L)								
Ribavirin	1282 ± 370 ^b	1180 ± 303	2019 ± 1153	2240 ± 1458	2302 ± 1590	2178 ± 1383	390 ± 260	<0.05
Kontrol	925 ± 235 ^b	658 ± 204	262 ± 100	97 ± 21	76 ± 25	126 ± 48	75 ± 16	

* Bütün veriler Ortalama ± Standart hata olarak gösterilmiştir.

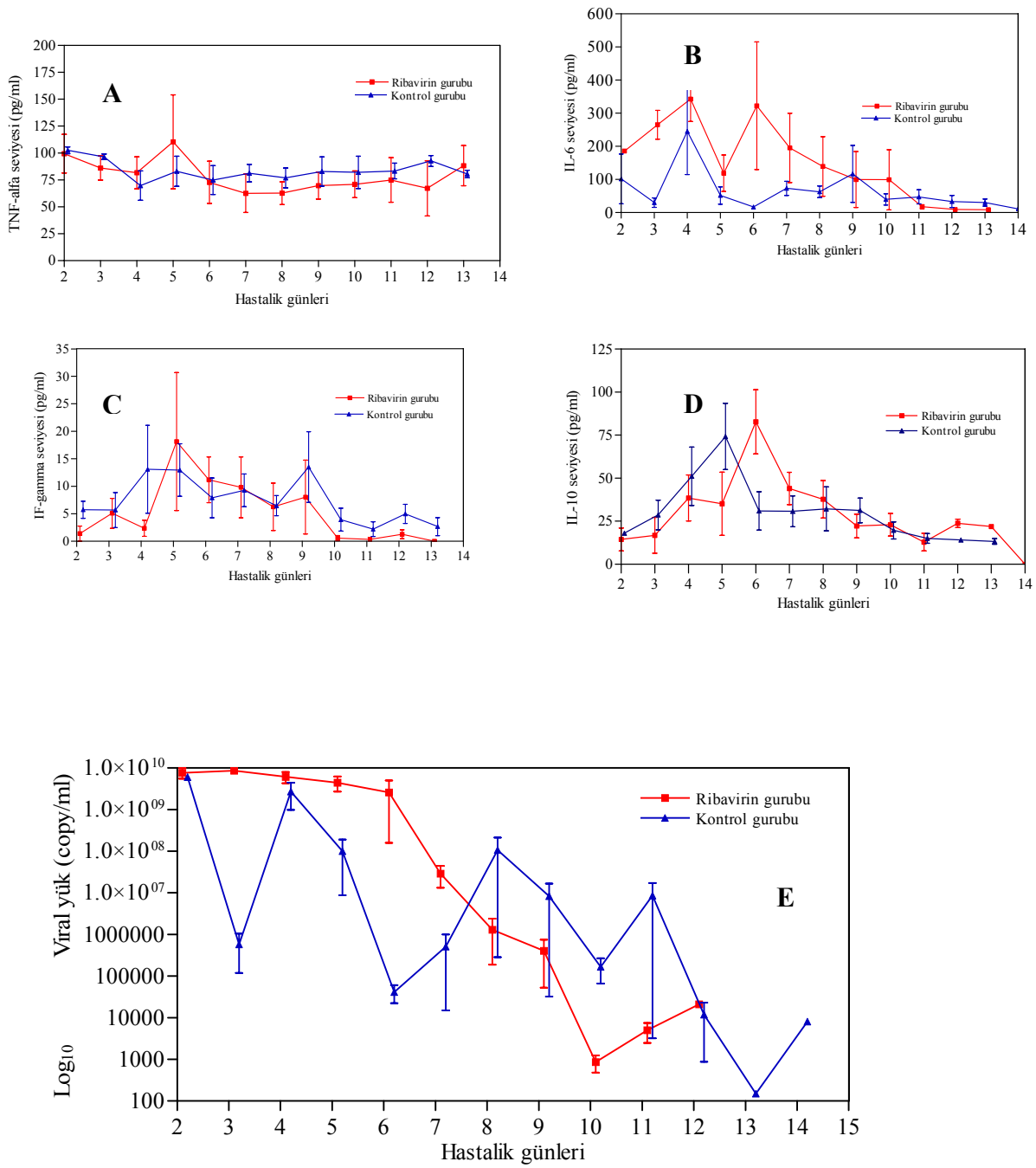
^a Mann-Whitney U test.

^b Grup içinde ardışık ölçümler arasında fark yok (p>0.05). Friedman test.

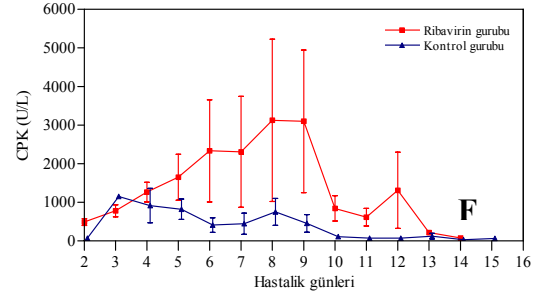
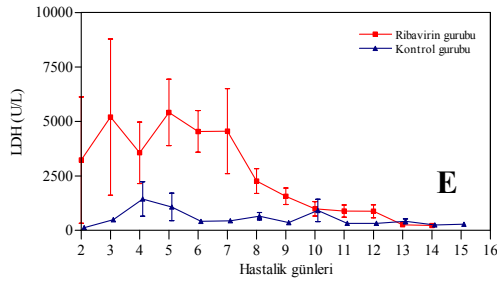
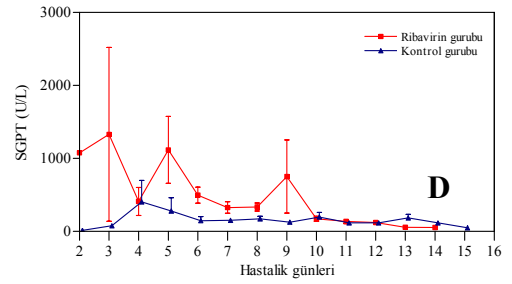
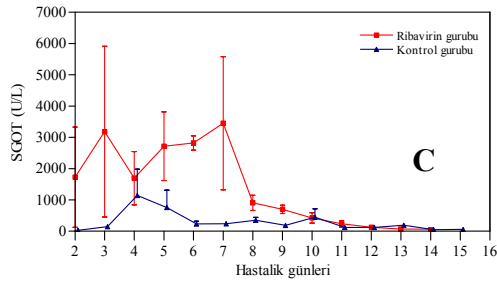
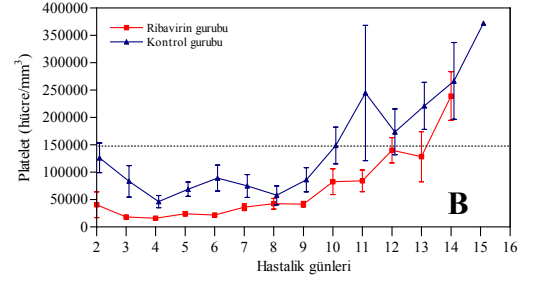
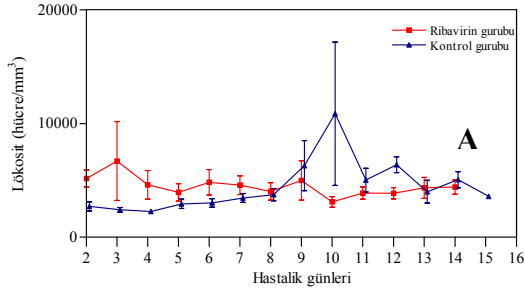
^c Grup içinde ardışık ölçümler arasında fark var (p<0.05). Friedman test.

^d Grup içinde bazal değere göre fark var (p<0.05). Wilcoxon test.

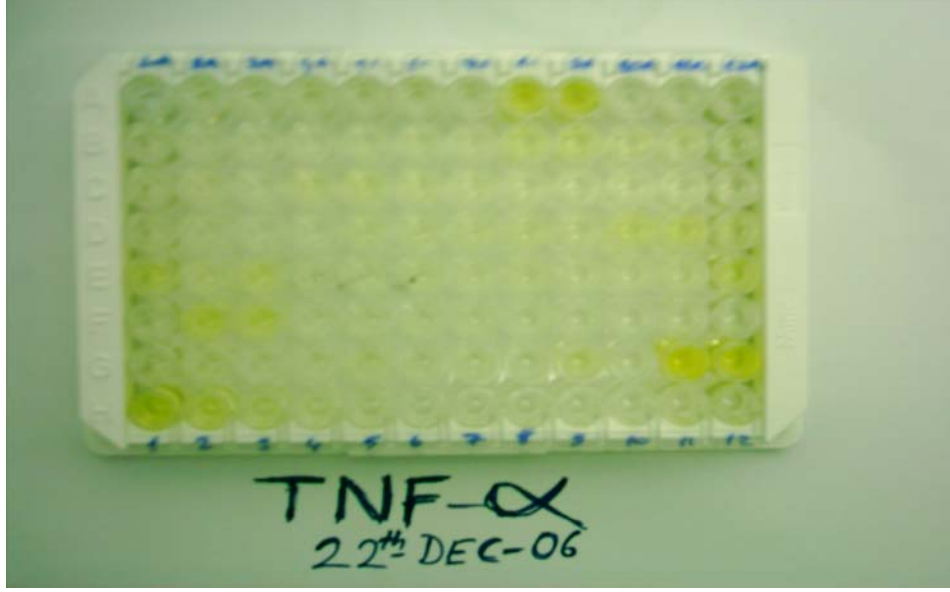
Kısaltmalar: KKKK (Kırım-Kongo kanamalı ateş) BK, kan beyaz küre; Hb, hemoglobin; ESH, eritrosit sedimentasyon hızı; PT, protrombin time; aPTT, aktive parsiyal tromboplastin time; INR, international normalized ratio; CRP, C-reactive protein; AST, aspartat aminotransferaz; ALT, alanin aminotransferaz; LDH, laktat dehidrojenaz; CPK, Kreatinin fosfokinaz.



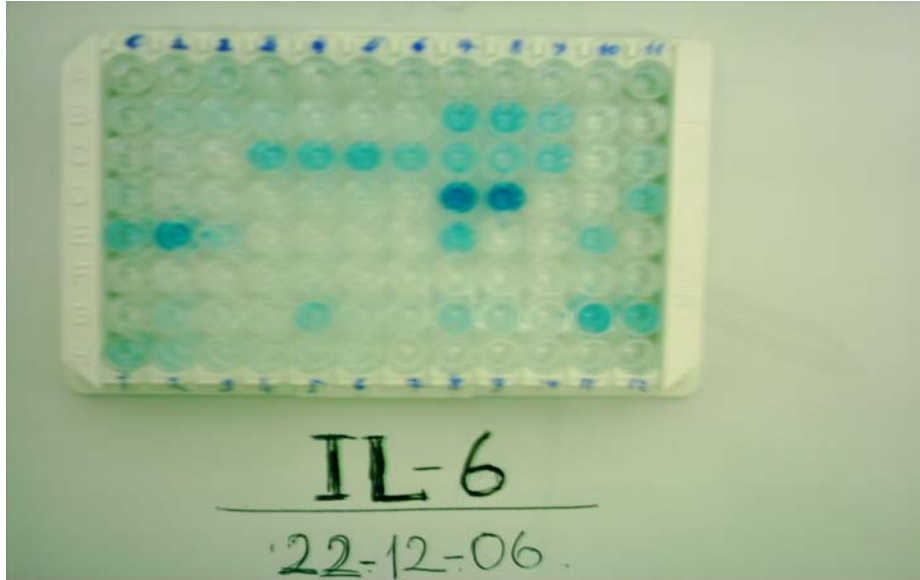
Grafik 3. Kırım-Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen ve ribavirin tedavisi alan ve almayan kontrol grubu hastalara ait ardışık ortalama serum (A) TNF- α , tümör nekroz faktör – alfa; (B) IL-6, interlökin-6; (C) IF- γ , interferon-gamma; (D) IL-10, interlökin-10 ve (E) viral titrelerinin hastalık günlerine göre dağılımı.



Grafik 4. Kırım Kongo kanamalı ateş tanısı ile takip edilen ve ribavirin alan ve almayan kontrol grubuna ardışık ortalama (A) kan lökosit; (B) platelet; (C) CPK, Kreatin fosfokinaz; (D) AST, aspartat aminotransferaz; (E) LDH, laktat dehidrojenaz; (F) ALT, alanin aminotransferaz değerlerinin hastalık günlerine göre dağılımı. Veriler ortalama \pm Standart hata olarak verilmiştir.



Şekil 4.1. Sitokin seviyelerinin ölçümünde TNF- α için pozitiflik veren serum örnekleri.



Şekil 4.2. Sitokin seviyelerinin ölçümünde IL-6 için pozitiflik veren serum örnekleri.

5.TARTIŞMA

VKA'ya sebep olan ajanlar, insanlarda sistemik olarak seyreden ve ölümcül hastalık oluşturma bakımından birbirlerine benzerlik gösteren farklı virüs gruplarına mensup infeksiyon ajanlarıdır. Bugüne kadar bu infeksiyon etkenlerinin oluşturduğu hastalıkların anlaşılması konusundaki en anlamlı ilerleme Ebola virüsü ile oluşturulan VKA'nın sıklıkla incelenmesi sonucu sağlanmıştır. Bu hastalığın incelenmesi ile elde edilen bilgiler Lassa virüs, Marburg virüs, Sarı Humma virüsü, CCHFV ve Rift Vadisi ateşi virüslerinin oluşturduğu hastalıkların anlaşılmasına rehberlik etmiştir. Aslında VKA etkenleri arasındaki ortak patojenik özellik, etken virüslerin konakta antiviral cevabı başlatacak hücrelere saldırması ve bunların fonksiyonlarını bozmak suretiyle konağın bağışık yanıtını etkisiz hale getirmeleridir (17,18). Son yıllarda KKKA'nın patogenezi ile ilgili çalışmaların artmaya başladığı görülmekte ise de bu konudaki veriler yetersizdir (15,16). Bu çalışmada yöremizde artık endemik olarak görüldüğüne inandığımız, bazı hastalarda çok ağır bir infeksiyon kliniği ile seyredip ölümlere sebep olabilen KKKA'nın patogenezi ile ilişkili olduğu düşünülen serum sitokin seviyeleri ve virüs titreleri, virüse özgül antikor titreleri ve rutin kan ve serum testlerinin ardışık ölçümleri ile elde edilen veriler ölen ve yaşayan ve ribavirin tedavisi alan ve almayan kontrol hasta gurupları açısından incelenmiştir.

KKKA hastalığının etkeni olan CCHFV, insanlara başlıca vektör olan *Hyalomma* cinsi keneler ile bulaşıp zoonotik infeksiyon oluşturmaktadır. Virüs genellikle insanlara ya infekte kenelerin ısırması ile, yada viremik hayvanların kesilmesi sırasında hayvana ait kan ve dokulara temas ile bulaşmaktadır. Hastalık için tarım çalışanları ve hayvancılık ile uğraşanlar, veterinerler, hasta hayvan ile teması olanlar, sağlık personeli, askerler, kamp yapanlar ile deri fabrikası işçileri yüksek risk altındadır. (19). Bir araştırmada 123 KKKA olgusunda predispozan faktörler incelenmiş, 54 (%44)'ünde kene ısırığı öyküsü, 45 (%37)'inde hayvan teması ile kene ısırığı ve 7 (%6)'sinde hastanede KKKA hastası ile temas öyküsü bulunduğu bildirilmiştir (56). Bizim çalışmamızda KKKA hasta gurubu risk faktörleri açısından incelendiğinde 31 hastanın 27 (%87.1)'sinde hayvan teması, 20 (%64.5)'sinde kırsal kesimde (KKKA olgularının varlığının belirlendiği bir bölgede) yaşama, 20 (%64.5)'sinde kene teması ve 5 (%16.1)'inde kırsal kesime seyahat öyküsü olduğu belirlenmiştir. Ayrıca meslek gurupları incelendiğinde en sık iki

meslek gurubunun 15 (%48.4) hasta ile ev hanımlığı ve 11 (%35.5) hasta ile çiftçilik olduğu gözlemlendi (Tablo 4.1).

KKKA hastalığında ilk semptom genellikle baş ağrısıdır. Daha sonra üşüme ve titreme ile yükselen ateş, boğaz ağrısı, halsizlik, yorgunluk, yaygın kas ve eklem ağrıları ortaya çıkar. Hastalarda bulantı ve kusma şikayeti ile birlikte karın ağrısı ve sulu ishal bu belirtilere eşlik edebilir. Hastalarda çeşitli derecelerde duygu-durum değişiklikleri olabilir. Şiddetli kliniği olan hastalarda birkaç gün içinde bilinç bulanıklaşır, hastalar konfüze ve ajite hale gelebilir. Hastaların yüzünde ve gövdesinde kızarma, konjunktival hiperemi oluşabilir (1,4,5,32,82). Peteşiler ekimoza ilerleyebilir ve büyük ekimozlar gelişebilir. Hastalarda kanama eğilimi vardır. Hematemez, melena, epistaksis, hematüri, dişeti kanaması, vaginal kanama ve iç organlara kanama gibi diğer hemorajik bulgular ortaya çıkar (5,17,34). Yapılan bir çalışmada 35 KKKA hastasının %80'inde bulantı ve kusma, %74'ünde ateş ve %66'sında baş ağrısı görüldüğü bildirilmiştir. Fizik muayene bulguları arasında ise %51 ile konjunktival hiperemi ve %46 ile ateşin en sık bulgu olduğu bildirilmiştir (3). Bizim çalışmamızda KKKA hastalarının hastaneye başvurduğu sıradaki hastalık semptom ve fizik muayene bulgularına bakıldığında; 31 hastanın tümünde halsizlik, %93.5'ünde kas ağrısı, yorgunluk ve ateş ve %70.9'ünde baş ağrısı en sık semptom, %93.5 oran ile ateş ve %51.6 ile makülo-papüler döküntünün en sık iki bulgu olduğu görüldü (Tablo 4.2). Ölen ve yaşayan hasta gurupları semptom ve fizik muayene bulguları açısından karşılaştırıldığında yaşayan hasta gurubunda üşüme ve titreme daha fazla idi (%95 vs. %36.4).

KKKA hastalarında lökopeni ve trombositopeni sıklıkla görülür (5,37). Çalışmamızdaki tüm KKKA hastalarının hastaneye kabul edildiğinde trombositopenik ve lökopenik olduğu, ama özellikle ağır seyreden vakalarda lökositozun olduğu, daha fazla olarak ölen ve yaşayan hastalara ait rutin laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında genellikle ölen hastaların laboratuvar parametrelerinin yaşayan hastalara göre daha bozuk olduğu gözlemlendi (Tablo 4.3). Özellikle kanda pıhtılaşma fonksiyonları ve fibrinolizi gösteren testler (PT, aPTT, INR) ve YDP skoru ölen hasta gurubunda yaşayanlara göre daha kötü idi. Bunlar arasında bize göre bilinç değişikliği ve splenomegali ile birlikte kötü prognoz göstergelerinden biri olan INR değeri ortalaması yaşayanlarda 0.97 iken, ölen hastalarda 1.90 ve aradaki fark istatistiksel olarak önemli idi ($P < 0.05$). Aynı hasta guruplarında hastaneye başvuru

anındaki kanama bulguları farklı olmamasına rağmen, ilerleyen günlerde ölen hastaların önemli bir kısmında kanama olduğu ve bunların önemli bir kısmının kanama nedeniyle öldüğünü gözlemledik. Ardışık ölçümlerde ölen hastaların ortalama kan platelet sayılarının hastalar ölünceye kadar düşük seyrettiği, yaşayan hastalarda ise günler içinde sürekli olarak arttığı ve yatıştan sonraki üçüncü günde ortalama kan platelet değerinin $100 \times 10^9/L$ değerinin üzerine çıktığı gözlemlendi (Tablo 4.7). Yine ölenler ve yaşayanların kan laboratuvar değerlerinin hastalık günlerine göre incelendiğinde ölen hastalar arasında hastalığın 16. gününde ölen bir hasta da dahil edildiğinde kan platelet değerlerinin ölenlerde hala düşük olduğu, buna karşılık yaşayanlarda hastalığın 9. gününden itibaren artmaya başladığı belirlendi (Tablo 4.7 ve Grafik 2). Genel olarak iki hasta grubu arasında yatıştan itibaren ardışık ortalama rutin test sonuçları arasında fark olması ölen hastalara ait rutin kan ve serum testlerinin hastalık seyrinde ölenlerde daha kötü olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$; Tablo 4.7). Daha önce 15'i fatal 50 KKKA hastası arasında yapılan bir çalışmada da hastalığın seyri sırasına ölenlere ait laboratuvar değerlerinin yaşayanlara göre daha kötü olduğu, yaşayanlarda hastalığın ikinci haftasından itibaren laboratuvar değerlerinin de düzelmeye başladığı rapor edilmiştir (5). Hastalarımızda sıklıkla görülen AST ve CPK artışı ile birlikte görülen yaygın kas ağrıları kas hasarını gösterebilir. Biz ölen 5 hastadan kas biyopsisi yapıp ışık mikroskopunda incelediğimizde kas nekrozuna rastlayamadık (yayınlanmamış veri). Ayrıca bu çalışmada CPK seviyeleri ile sitokinler arasında da bir ilgi gösteremedik. Kas enzimi artışı ya kas dokularının virüs ile tutulmasına, yada daha önce speküle edildiği gibi dolaşım yetmezliğine bağlı olabilir (5).

Trombositopeni ve serum karaciğer enzim seviyelerinde yükselmeler KKKA hastalarında en önemli laboratuvar özelliklerindedir (5,7,37, 41). Başlangıçta KKKA hasta tanı kriterinde olmamasına rağmen yalnızca bir hastanın kan platelet değeri normal değer üst sınırında iken biz bu hastayı da çalışmaya dahil ettik (Tablo 4.4). Daha sonra bu hastanın değerlerinin ardışık günlerde alt seviyelerine indiğini gözledik. Özellikle KKKA için endemik olan yörelerde hastaların hastalığın ilk günlerinde hastanelere başvurabilme ihtimali olduğundan KKKA'ya uyan yakınmalar ile hastanelere başvuran ve laboratuvar test sonuçları uyumsuz hastaların tekrar değerlendirilmeleri gerektiğini düşünüyoruz. ALT gibi karaciğere özgül enzimlerin serum seviyelerindeki artmalar virüsün karaciğerdeki direkt sitopatik

etkisine bağılı olabilir. Virüs hem hayvanlarda, hem de insanlarda karaciğerde ve hepatositler ile Kupffer hücrelerinde gösterilmiştir (11,42). Nitekim CCHFV hayvanlardaki deneysel infeksiyonlarda karaciğerde gösterilerek virüsün hepatotropik özellikte olduğu ve seri pasajlardan sonra bu özelliğini kaybettiği gösterilmiştir (11).

VKA oluşturan virüslerin iki ayrı yol ile hemostatik mekanizmayı değiştirdiğine inanılmaktadır. Birincisi, endotel hücreleri ve platelet gibi hemostazla doğrudan ilişkili olan hücrelere direkt etki, ikinci ise immünolojik ve inflamatuvar yol ile dolaylı olarak endotel üzerine etkidir. Hemostaz, immüncevap ve inflamasyon arasındaki ilişki çok komplekstir. İmmün-histokimyasal ve ultrastrüktürel çalışmalar ile Hantavirüs, Lassavirüs ve KKKK ile infekte hastalarda endotel hücrelerde virüs gösterilmiştir (7,34,38,42). Esasen monositler, makrofajlar, dendritik hücreler, endotel hücreleri, hepatositler ve adrenal kortikal hücreleri genellikle VKA'larda virüslerin replike olduğu yerlerdir. Bu hücreler arasında endotel tutulumu daha geç, ölümden önce ortaya çıkmaktadır (7). KKKK patogeneğinde endotelin viral tutulumu önemlidir. Endotel hasarı, intrensek koagülasyon yolağının aktivasyonu ile sonuçlanır ve platelet agregasyon ve degranülasyonunun da aktive olmasıyla hemostatik dengenin bozulmasına katkıda bulunur (7,38). Fakat Ebola virüs ile infekte maymunlardaki deneysel infeksiyonda endotel hücrelerinin yapısal çatısının bozulmadığı bildirilmiştir (44). Endotel hasarı başka VKA'larda da araştırılmıştır. Örneğin Arjantin kanamalı ateşi nedeniyle ölen 12 hastanın hiç birinde ve Machupo virus ile infekte maymunlarda özgül vasküler lezyon olduğu gösterilememiştir (83,84).

VKA'larda IL-6, interlökin (IL)-8, IL-10, interlökin (IL)-12, interferon inducible protein (IP)-10, monosit kemoatraktan protein (MCP)-1, interferonlar, TNF- α ve nitrik oksit (NO) gibi inflamatuvar mediatörlerin salınmasının indüklendiği bilinmektedir (7). Ebola virüs ile oluşan VKA patogeneğinde TNF- α 'nın rolü, deneysel çalışmalar ile de desteklenmiştir. Endotel hücrelerinin fonksiyon bozukluğu hastalık sırasında oluşan dolaşımdaki medyatörlere de bağılı olabilir. Bu medyatörler endotel hücrelerinin fonksiyonlarını düzenlerler. Filovirüsler ile infekte hücrelerin TNF- α gibi inflamatuvar medyatör salgıladıkları ve bunların da endotel geçirgenliğini ve bütünlüğünü bozabildiği gösterilmiştir (85). Başka bir deneysel araştırmada ise Ebola virüs matriks proteini VP40 ve GP_{1,2} içeren virüs benzeri partiküller ile

yapılan invitro çalışmada endotel hücrelerinin bariyer fonksiyonlarının azaldığı, bu azalmanın TNF- α ile arttırıldığı bildirilmektedir (86). Ebola virüs ile infekte hastalardaki serum sitokin araştırmalarından elde edilen sonuçlar farklılık göstermektedir. Gabon'da Ebola virüs ile infekte hastalar arasında yapılan bir çalışmada bu hastalık nedeniyle ölenlerde (9 hasta) ölümden önceki son günde gözlenen TNF- α seviyelerinin, bu virüs ile infekte ama semptomsuz yaşayan hastalarda (8 hasta) virüse maruziyetden bir hafta sonra bakılan TNF- α seviyelerinden düşük bulunduğu, ayrıca ölenlerde IL-1 β ve TNF- α 'nın biyolojik aktivitelerini inhibe ettiği bilinen IL-1 reseptör antagonist (IL-1RA) ve soluble tümör nekroz faktör-reseptör I (STNF-RI)'in plazma konsantrasyonlarının ölen hastalarda ölümden önceki son günde oldukça yüksek bulunduğu bildirilmiştir (87). Kongo Cumhuriyeti'nde 1995 yılındaki Ebola VKA salgını sırasında 7'si fatal 2'si non-fatal toplam 9 Ebola VKA'lı hasta arasında ardışık serum sitokin seviyeleri çalışılmış ve serum interlökin-2 (IL-2), IL-10, TNF- α ve IF- γ seviyelerinin ölenlerde yaşayan hastalara göre yüksek olduğu gösterilmiştir (88). Bu çalışmada ölenlerde serum IL-6 seviyelerinin sadece yaşayan hastalardan birinde ve ikinci günde yaşayan hastalara göre oldukça yüksek olduğu da belirtilmiştir. Ebola VKA'lı hastalar arasında yapılan bu iki çalışmada VKA sırasında inflamatuvar yanıtın olduğunu göstermektedir. Fakat TNF- α seviyelerinin iki çalışmada da farklı çıkmasının nedenlerinden birisi hasta sayılarının az olmasından kaynaklanabilir. Biz KKKA nedeniyle ölen hastalarda ortalama TNF- α ve IL-6 seviyelerinin başvuru anında yaşayanlara göre oldukça yüksek olduğunu gösterdik. Serum ortalama TNF- α seviyeleri ölenlerde 161.3 pg/ml, yaşayanlarda ise 77.3 pg/ml ve ölenlerdeki bu ortalama seviyenin hem yaşayanlardan ve hem de sağlıklı kontrol ve KKKA dışı kontrol hastalardan istatistiksel olarak daha yüksek olduğunu da gösterdik ($P < 0.05$; Tablo 4.4). Ülkemizde yapılan başka bir araştırmada Ergönül ve ark. (15), 3 fatal 27 non-fatal toplam 30 hastadaki hastalık semptomlarının başlamasından sonraki ilk 7 gün içindeki ortalama TNF- α seviyelerinin ölenlerde 37.9 pg/ml, yaşayanlarda ise 11.9 pg/ml ve ölenlerde anlamlı olarak yüksek olduğunu bildirmiştir. Papa ve ark. (16), serolojik ve virolojik olarak doğrulanmış 25 KKKA hastası arasında ölen bir hastada serum sitokin seviyelerinin yüksek olduğunu, hastalığın 6. günündeki TNF- α seviyesinin 68.5 pg/ml ve aynı hastalık nedeniyle takip edilen ve yaşayan başka bir hastada ise hastalığın 9. günündeki TNF- α seviyesinin 1445 pg/ml olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmalarda

sitokin çalışmasına alınan hasta sayıları gerçekte azdır. Çalışmaya aldığımız hasta sayısının önceki çalışmalardan fazla olması nedeniyle KKKA'daki serum sitokin seviyeleri hakkında daha anlamlı bilgi vermesi beklenebilir. Ayrıca serum sitokin seviyeleri hastalık günlerine göre değişebileceğinden sitokin seviyelerinin günlere göre monitorizasyonu ve diğer parametreler ile ilişkisinin incelenmesi de hastalığın patogenezinin aydınlatılmasına önemlidir.

Bize göre TNF- α 'nın KKKA patogenezinde önemli bir rolü vardır. İlk olarak yüksek TNF- α seviyeleri VKA'ların seyri sırasında oluşan interstisiyel ödem ile bağlantılıdır. TNF- α ile endotel geçirgenliğinin artması interstisiyel ödeme neden olur (85). Şiddetli formdaki Lassa ateşli hastalarda interstisiyel ödem önemli bir özelliktir (89). Ayrıca KKKA nedeniyle ölen hastalarda subendotelyal ödem gösterilmiştir (34). Sitokinlerin bakteriyel infeksiyonlarda endotel ve organ hasarı üzerindeki rolü iyi bilinmektedir. Gram negatif bakteriyel infeksiyonlarda endotoksinler TNF- α , IL-1 ve kompleman aktivasyonu ile endotel hasarı ve bozukluklarına ve böylece uç organ hasarına yol açmaktadır (65,67,68). İkincisi TNF- α infamasyonun temel medyatörlerinden biridir. Fizyolojik antikoagülan yolları ve plazminojen aktivatörlerinin üretimini inhibe ederek ve PAI-I yapımını indükleyerek güçlü bir şekilde anti-fibrinolitik etki yapar ve YDP gelişmesine yardım eder (59,62,70,71). Ardışık TNF- α seviyelerinin ölçülmesiyle elde ettiğimiz sonuçlara bakılırsa her iki hasta gurubu arasında günler içinde fark olduğu ama gurupların kendi içindeki serum sitokin seviyeleri açısından istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi ($P>0.05$; Tablo 4.6). Ölen hasta gurubunda hastaların hastaneye kabulündeki yüksek (161 pg/ml) serum TNF- α değerinin ardından ilerleyen günlerdeki ortalama serum sitokin değerlerinin başlangıca göre düştüğü (26 pg/ml) ama buna rağmen hastaların ölmeye devam ettiği belirlendi. Başlangıçtaki TNF- α seviyelerinin ikinci günde düşmesinin nedeni yattığı günün gecesinde ölen ve ikinci günde serum sitokin değerleri çalışılmayan üç hasta nedeniyledir. Daha sonraki günlerde istatistiksel olarak arada fark olmasa da ölen hastalardaki TNF- α seviyelerinin yaşayanlarda daha fazla olduğu görüldü.

Hastalık patogenezinde yüksek serum TNF- α seviyelerinin yanında diğer etkenlerin de rol oynadığı açıktır. Ardışık ölçümlerde yaşayan hastalardaki ortalama serum TNF- α seviyelerinin ölenlere göre istatistiksel olarak önemli olmasa da daha yüksek olması patogeneizde başka faktörlerin de rolü olabileceği sonucunu

göstermektedir. Hastalığın seyri sırasında olduğu bilinen YDP bunlardan birisidir. Aslında YDP, tüm VKA'larda hastalığın patogeneğinde önemli, ama Ebola VKA ve KKKA'da diğerlerine göre daha belirgin, Lassa ateşinde ise ya çok az, yada hiç yoktur. KKKA hastalarında YDP olması kötü prognoz göstergesidir (5,7). Bu çalışmada bulduğumuz TNF- α seviyeleri ile YDP arasındaki pozitif ilişki bu düşüncemizi desteklemektedir. Dengue ateşi, *Flaviviridae* ailesine mensup dengue virüse bağlı ortaya çıkan bir VKA'dır. Dengue Şok Sendromlu hastalarda TNF- α ve IL-6 gibi sitokinler koagülasyon ve fibrinoliz aktivasyonunda aktif rol sahibidir. Böyle hastalarda TNF- α seviyeleriyle bir fibrinoliz belirleyicisi olan D-dimer seviyeleri arasında anlamlı olarak ilişkili, koagülasyon testleri ile ilişkili değildir (90). Dengue VKA'lı hastalardaki bir klinik araştırmada TNF- α ile bu hastalardaki hemorajik manifestasyonlar arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (91). YDP'nin VKA patogeneğinde önemli rolü olduğu ilk kez 1967 yılında McKay ve Margaretten tarafından ortaya konulmuş (92), daha sonra KKKA hastalarında da tanımlanmıştır. Böyle bir çalışmada değerlendirilmeye alınan hastalar arasında ölen denek sayısının az olmasına rağmen KKKA nedeniyle ölen 3 hastanın medyan YDP skorunun 7, yaşayan 27 hastanın ise 5 olduğu gösterilmiştir (15). Bizim çalışmamızda bulduğumuz ölen 11 hasta arasındaki ortalama 6.8 YDP skoru bu çalışmadaki 7 olan YDP skoru ile benzeşmektedir. Biz takip ettiğimiz sırada ölen hastaların önemli bir kısmında değişik vücut bölgelerinden (gastrointestinal, burun, mukoza, kan alınan ven bölgeleri, vajinal, intraserebral) kanama olduğunu ve bazı hastalardaki kanamanın doğrudan ölüm sebebi olduğunu gördük. Bu hastalardaki kanamaların trombositopeniye ilaveten hastalık sırasında gelişen YDP'ye bağlı olduğunu, dolayısıyla YDP'nin hastalık patogeneğinde önemli bir yeri olduğunu düşünüyoruz.

Biz çalışmamızda hastaların hastaneye kabul edildiği günde ölenlerde ortalama serum IL-6 seviyelerini 326 pg/ml ve yaşayanlara göre oldukça yüksek (69 pg/ml) olarak bulduk ($P < 0.05$; Tablo 4.4). Benzer sonuçları Ergönül ve ark. (15), ölen 3 KKKA hastasında da göstermiştir. Bu araştırmada da hastalığın ilk haftası içindeki ortalama serum IL-6 seviyeleri ölenlerde 370 pg/ml, yaşayanlarda ise 58 pg/ml olarak bulunmuştur. Yine Papa ve ark. (16)'nın çalışmasında KKKA'lı olduğu kanıtlanan 25 hastanın 14'ünde IL-6 yüksek değerlerde bulunmuştur. Bu hastalardan biri ölen hastadır. Ölen hastalarda ardışık günlerde çalışılan dönem içinde serum ortalama IL-6 seviyelerini yaşayanlara göre yüksek olarak bulduk (Tablo 4.6).

Ayrıca serum IL-6 seviyeleri ile hastalardaki YDP varlığı, PT ve aPTT süreleri ve INR değerleri arasında pozitif bir ilişkinin de olduğunu gösterdik. IL-6, koagülasyon sisteminin aktivasyonunda asıl mediyatördür (62,70,71). Doku faktörü aracılı trombin oluşumu YDP patogenezinde asıl rolü oynar. IL-6, TF/aktive faktör VII kompleksi ile başlatılır. Doku faktörü/faktör VIIa kompleksi, faktör IX ve X'un dönüşümünü katalize eder. Faktör IXa ve Xa, faktör X ve protrombinin aktivasyonunu arttırarak trombin oluşumuna yol açar. Trombin ise fibrinojeni fibrine dönüştüren güçlü bir trombosit aktivatörüdür (69,73,74). Daha önce yapılan bir çalışmada Dengue Şok Sendromunda serum IL-6 seviyeleri ile hem koagülasyon, hem de fibrinolizin bağlantılı olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada Dengue Şok Sendromu nedeniyle ölen 3 hastadan ikisinde çok yüksek serum IL-6 seviyeleri saptandığı da belirtilmiştir (90). İnfantlardaki dengue ateşinde serum IL-6 seviyeleri PT ile bağlantılı, aPTT ve fibrinojen seviyeleri ile bağlantısız bulunmuştur (93). Ebola virüs ile infekte hastaları kapsayan bir çalışmada ise IL-6 gibi proinflamatuvar sitokin seviyesi yaşayan hastalarda, IL-10, IL-1RA ve neopterin gibi yüksek seviyeleri ise ölenlerde yüksek olarak tespit edilmiştir (87).

IL-10, vasküler hasarın potent inflamatuvar mediatörüdür ve dengue ateşi ve dengue VKA'da trombositopeni ile korele bulunmuştur (94). Green ve ark.(95)'nin yaptığı bir çalışmada dengue ateşinde, dengue kanamalı ateşinden daha yüksek bulunmuştur. IL-10, monosit yüzeyindeki TF ekspresyonunu inhibe ederek koagülasyonu kontrol eder (96). Ayrıca aktive B lenfositlerin Ig sekresyonunun amplifikasyonu ve B hücre farklılaşmasını kapsayan, hümoral immün cevabın etkinliğinde rol oynar (95). Ergönül ve ark.(15)'nin yapmış olduğu çalışmada ölen ve yaşayan KKKA hastalarında IL-10 seviyesinde fark bulunmamıştır. Papa ve ark. (16)'nin çalışmasında ise sadece ölen bir hastada IL-10'un yüksek olduğu ve şiddetli trombositopeninin buna eşlik ettiği tespit edilmiştir. Ebola VKA'da da bizim çalışmamızda olduğu gibi serum IL-10 seviyeleri yaşayan hastalarda ölenlerden daha yüksek olarak ölçülmüştür (88). Biz, çalışmamızda yaşayan hastalarda başlangıçtaki IL-10 değerini ölenlerin değerlerine göre düşük bulduk. Ama aradaki fark önemli değildi ($P<0.05$; Tablo 4.4). Ayrıca IL-10 ile YDP arasında da negatif korelasyonun olduğunu gösterdik ($\chi^2=0.094$, $P<0.05$). Ölen hastalarda başlangıçta düşük olan IL-10 değerinin yatışın 4 ve 5. günlerinde birer hastada yüksek olduğu, yaşayan hastalarda ise günler içinde giderek azaldığı gözlemlendi (Tablo 4.6). Bizim

hastalarımızda yaşayan hastalardaki yüksek IL-10 seviyeleri ile koagülasyon kontrol altına alınmaya çalışılmış, ölen hastalarda ise düşük olması ile kontrol altına alınamamış olabilir.

İnterferonlar hastalıklara karşı immün cevapta önemli rol oynarlar. İnfeksiyonlar sırasında gecikmiş interferon cevabı kontrol edilemeyen viremi ile sonuçlanır. Tip 1 interferonlar olan interferon- α (IF- α) ve interferon- β (IF- β) cevabı VKA patogenezinde önemli gibi görünmektedir (38). İnterferonların VKA etkenleri üzerindeki etkileri daha önce çalışılmıştır. Lassa virüslerin replikasyonu IF- α ve IF- γ ile inhibe olmaktadır (97). Tip-1 interferon olan IF- α 'nın invitro koşullarda insan endotel ve hepatoma hücrelerinde GTP-az dynamin süperailisine mensup insan MxA proteini üzerinden CCHFV replikasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (98,99). Bir tip-2 interferon olan IF- γ , infeksiyonlar sırasında aktive T-hücreleri ve Doğal-öldürücü hücreler (NK)' den salgılanarak makrofaj aktivasyonu ile konakta inflamatuvar yanıt ve viral immüniteden sorumludur (58). Şimdiye kadar literatürde KKKA hastalarındaki IF- γ seviyeleri ile ilgili olarak yayınlanmış bir çalışma henüz yoktur. Fakat bir çalışmada ebola VKA'sında hem IF- α , hem de IF- γ ölen hastalarda hastalığın erken günlerinde yaşayanlara göre yüksek olarak bulunmuştur (90). Bizim yaptığımız çalışmada ortalama serum IF- γ düzeyleri ölenlerde 18.6 pg/ml ve yaşayanlarda 9.9 pg/ml olarak ölçüldü, ölen hasta gurubundaki ortalama seviyeler yaşayanlara göre yüksek olmasına rağmen aradaki fark önemsiz idi ($P>0.05$). Sağlıklı kontrol gurubu ile hasta kontrol grubunda ise hiç yükselme gözlenmedi. ($P>0.05$; Tablo 4.4). Ardışık ölçümlerde serum IF- γ seviyelerinde her iki gurup hastalarda da azalmalar gözlendi ama bu azalmalar iki gurup arasında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($P>0.05$; Tablo 4.6). Fakat yaşayan hastalarda ardışık günlerde görülen azalmalar anlamlı idi ($P<0.05$).

VKA'larda uygunsuz immün yanıt hastalığın geç döneminde yüksek viremi ve artmış proinflamatuvar sitokin seviyelerine yol açmaktadır. Başka bir deyişle fatal VKA infeksiyonu genellikle yüksek viremi ve immünoşüpresyon ile karakterlidir (7). Bu çalışmanın kaleme alındığı Haziran 2007 ayına kadar yalnızca bir çalışma hariç literatürde insanlardaki KKKA infeksiyonu sırasında viral yükün belirlendiği ve ardışık günlerde ortaya koyan bir çalışmayı bulamadık (5). Bu çalışmada yalnızca birkaç hastada yapılmış ve serum örneklerinden ziyade hücre kültürlerindeki virüs titrelerine bakılmış bir çalışmaydı ve en yüksek $3.7\log_{10}$ fluorescent focus-forming

unite (FFU)/ml titrelerinin olduğu bildirilmiştir. Yazarlar ayrıca ölen hastalarda çok yüksek ve uzun süren viremlerin olduğunu da rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada ise Güney Afrika Cumhuriyeti'ndeki bir hastanede oluşan hastane kaynaklı KKKA salgınında 2'si mortal 8 hastada viremi ardışık olarak hasta kanlarının infant fare beynine inokülasyonu ve ardından Vero hücrelerine ekim yöntemiyle bakılmış ve hastalığın 8. gününden itibaren viremi tespit edilemediği bildirilmiştir (34). Biz araştırmamızda yaşayan hastalarda hastalığın 14. gününde bile düşük titrede de olsa viremi olduğunu gösterdik. Aradaki fark çalışılan yöntem farklılığından kaynaklanabilir. Zira real-time RT-PCR yöntemi hastalığın akut döneminde daha duyarlı ve kanda virüs titrelerini de içeren sonuç vermesi nedeniyle önemli bir tanı yöntemidir (100). Çalışmamızda ölen hastalardaki başlangıç ortalama serum viral yük titresi yaşayanlara göre anlamlı olarak yüksekti ($5.5E+09$ copy/ml vs. $5.7E+08$ copy/ml; $P<0.05$; Tablo 4.4). Ayrıca ölen hastalardaki ortalama serum virüs titresi çalışılan dönem içinde hastalar ölene kadar hep yüksek seyrederken yaşayanlarda özellikle yatışın 4, 5, ve 6. günlerinden itibaren anlamlı olarak düştüğü gözlemlendi ($P<0.05$; Tablo 4.6). Her iki grup hastalar göz önüne alındığında viral titreleri başlangıçta $9.9E+09$ copy/ml olan hastaların tümü takip edilen günlerde kaybedildi (veri gösterilmedi). İki grup hasta arasında ardışık ölçümlerde viral yükler açısından istatistiksel fark bulunuyordu ($P<0.05$). Viral yüklerin hastalık günlerine göre değerlendirildiğinde de ölen hastalarda çalışılan günler içinde hep yüksek seyrettiği, bir hastada hastalığın 12. gününde bile $7.4E+07$ copy/ml gibi yüksek virus titresinin olduğu görüldü. Fakat yaşayan hastalar arasında ölçümlerin yapıldığı hastalığın 14. gününde bir hastada 8100 copy/ml gibi düşük bir virüs titresi bulunuyordu (Grafik 1). Ölen hastalardaki ortalama viral yük seviyelerinin ve tabii ki sitokin seviyelerinin de yaşayan hastalara göre yüksek olmasıyla hastalığın neden şiddetli seyrettiğini gösterebilir. Farelerdeki deneysel KKKA infeksiyonunda farelere uygulanan CCHFV dozu ($50-200 LD_{50}$) ile farelerdeki ortalama geometrik ölüm süresi arasında ters bir ilişki vardır. Yani virüs dozu arttıkça ölüm süresi de kısalmaktadır. Farelere $50 LD_{50}$ doz CCHFV verildiğinde ortalama geometrik ölüm süresi 8 gündür (11).

VKA'larda hastalıktan iyileşmede virüse özgül antikorların da önemli olduğu bir gerçektir. Biz hastaların hastaneye kabul gününde ölen hastalarda anti-CCHFV IgG pozitifliği saptayamadık. Aynı şekilde yaşayan hastaların hepsinde anti-CCHFV IgM pozitifliği varken, ölen 11 hastadan sadece 4 (%36)'ünde pozitif idi (Tablo 4.4).

Hastalık günlerine göre değerlendirildiğinde tüm hastalarda hastalığın 8. gününe kadar anlamlı anti-CCHFV IgG seviyeleri tespit edilemedi (Grafik 1). Bu serolojik testler aynı zamanda KKKA tanısında da kullanılan testlerdir (1,41). Daha önce yaşayan 35 KKKA hastasında ardışık olarak serum anti-CCHFV IgM ve IgG seviyelerinin hastalığın 7 ile 9. günlerinde indirekt immünofluoresan assay (IFA) ile maksimum seviyelere ulaştığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada ölen 15 hastanın ise sadece ikisinde özgül antikorlar gösterilmiş, IgM sınıfı antikorlar ise yaşayan hastaların hepsinde pozitif bulunmuştur (41). Başka çalışmalarda da KKKA nedeniyle ölen hastalarda özgül antikor yanıtının yetersiz olduğu gösterilmiştir (3,5,34,42,43,101). Bu hastalardaki yetersiz özgül bağışık yanıt, hastalarda tanı güçlüklerine neden olmaktadır. Bizim çalışmamızda yaşayanlarda takipleri esnasında IgG titreleri 8. günde çalışılan test kitinin gösterdiği anlamlı seviyelere gelirken, ölenlerde çalışılan dönem içinde anlamlı artış gözlenmedi. Hastalığının 16. gününde ölen bir hastanın serum örnekleri anti-CCHF IgG seviyelerini değerlendirmek için yetersiz idi. Virüs titrelerinin yaşayan hastalarda özgül IgG antikorlarının yükselmesi ile düşmeye başladığı gözlemlendi (Grafik 1). Bu sonuca göre hastalıktan kurtulmada özgül IgG sınıfı antikorların önemli olduğu sonucu çıkarılabilir. Başka bir anlatımla ölen hastalarda özgül antikor yanıtının olmadığı görülmektedir. Ölen hastalardan sadece ikisinde IgM sınıfı antikorların pozitif olması hastalıktan kurtulmada IgM sınıfı antikordardan ziyade IgG sınıfı antikorların önemli olduğunu düşündürmektedir. İyileşen hastaların ancak özgül IgG sınıfı antikor geliştirerek viremiyi kontrol ettiğini düşünüyoruz. Ölen hastalarda nötralizan antikor geliştirmede genetik defekt olabilir. Buna karar vermek için de ileri araştırmaların gerektiğini düşünmekteyiz. Burada hastalara önceden hastalığı geçirmiş ve iyileşmiş hastalardan elde edilecek immün serumların verilmesi (immünoterapi) gündeme gelmektedir. Daha önce KKKA hastalarına konvelesan faz serum tedavileri uygulanmış ama sonuçlar tartışmalı bulunmuştur (34,41,101-103). Çünkü bu araştırmalar kontrolsüz ve az sayıda olgu ile yapılmıştır. Konvelesan faz serum veya immüno globülin tedavisi verilirken nötralizan antikor titrelerine mutlaka bakılması gerekir. Çünkü konvelesan serumlardaki nötralizan antikor titreleri yetersiz olabilir. Verilecek olan hastalarının da mutlaka tanılarının doğrulukla konulması gerekmektedir.

VKA hastalarının tedavisinde destek tedavisi ve eksik olanı yerine koyma (replasman) tedavisi esastır. Bu hastalara gerektiğinde tam kan ve kan ürünleri (trombosit süspansiyonu, eritrosit süspansiyonu, taze donmuş plazma) uygulanmalı, hastalar sıvı-elektrolit imbalansı, kan basıncı ve idrar çıkışı açısından takip edilmelidir (1,5,35,53,104). Bu hastalara uygulanan kan ve kan ürünleri ve sonuç verileri Tablo 4.7’de gösterilmiştir. İstatistiksel olarak arada fark olmamasına rağmen, ölen hastaların yaşayan hastalara göre daha az kan ürünleri aldığını gözledik. Ölen hastalarda YDP skoru, kan sitokin ve viral yük seviyeleri daha yüksek ve hastalık bu hastalarda daha şiddetli iken daha az kan ürünü gereksinimi bu hastaların hastanede daha az süre yatmaları ile açıklanabilir. Nitekim ölen hastalardaki ortalama hospitalizasyon süresi 3.8 gün, yaşayanlarda ise 7.3 gün ve aradaki fark istatistiksel olarak önemli idi ($P<0.05$).

KKKA, Dünyada %10-50 gibi yüksek bir vaka-ölüm oranına sahip olmasına rağmen bizim ülkemizde vaka-ölüm oranı çok düşüktür (1,3,4,82,104). Türkiye’de, Sağlık Bakanlığı tarafından 2002-2006 yılları arasında KKKA tanısı ile takip edilen 1103 hastada vaka-ölüm oranı %5.3 olarak rapor edilmiştir (105). Günümüzde KKKA hastalığına özgül etkili ve FDA tarafından onay almış bir antiviral ajan yoktur (7,53). Daha önce oral ribavirinin KKKA hastalarında etkin olduğunu bildiren olgu sunumları ve historikal kontrol kullanılarak yapılan çalışmalar bulunmaktadır (3,13,14). Ülkemizde olguların 2003 yılında tanımlanması üzerine 2004 yılında farklı şehirlerdeki 4 merkezde KKKA nedeniyle yatarak tedavi gören 126 hastaya oral ribavirin tedavisi uygulanmış ve 2003 yılında aynı merkezlerde yatarak tedavi gören 92 ribavirin tedavisi almamış KKKA hastası kontrol olarak kullanılmış ve oral ribavirin tedavisinin etkinliği araştırılmıştır (82). Çalışma sonunda ribavirin verilen guruptaki vaka-ölüm oranı ile kontrol gurubundaki vaka-ölüm oranının birbirinden farklı olmadığı (%7.1 vs. %11.9) ve oral ribavirin tedavisinin KKKA hastalarında mortaliteyi azaltmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada ayrıca hastalardaki bilinç değişikliği ve/veya yüksek INR (<1.4) değerinin mortaliteyi %73 duyarlılık ve %83 özgüllük ile tahmin edebildiği de gösterilmiştir. Bu sonuçtan yola çıkarak da 2005 yılında hastanemize yatarak tedavi gören şiddetli hastalık kriterlerine sahip KKKA hastalarına oral ribavirin tedavisi uygulayarak hastaları oral ribavirin tedavisi alanlar (ribavirin gurubu) ve almayanlar (kontrol gurubu) olmak üzere iki guruba ayırdık.

Ribavirin gurubu ve kontrol gurubu hastaları karşılaştırdığımızda yaş ve cins açısından benzer olduğu gözlemlendi. Aynı şekilde ribavirin gurubundaki 14 hastanın başlangıç semptom ve fizik muayene bulguları ile kontrol gurubundaki 17 hastanın başlangıç semptom ve fizik muayene bulgularının üşüme-titreme şikayeti hariç benzer olduğu gözlemlendi (Tablo 4.8). Ribavirin gurubu ile kontrol gurubu hastaları başlangıç rutin laboratuvar testleri açısından karşılaştırdığımızda ribavirin gurubundaki hastaların özellikle kan koagülasyon testleri (PT, aPTT), INR ve YDP açısından istatistiksel olarak daha kötü olduğunu, kan beyaz küre ve serum LDH seviyeleri hariç çalışılan diğer laboratuvar testlerinin iki grupta aynı olduğunu gözlemledik. Örneğin ribavirin gurubu, kontrol gurubuna göre daha fazla trombositopenik ($28 \times 10^9/L$ vs. $58 \times 10^9/L$) olmasına rağmen aradaki fark önemsizdi ($P > 0.05$; Tablo 4.9). Ribavirin gurubu ile kontrol gurubu serum sitokin ve CCHFV viral yükleri açısından karşılaştırıldığında tedavi öncesinde her iki gurubun da benzer olduğu gözlemlendi. Genel olarak çalışılan serum sitokin seviyeleri ve serum viral yükleri ribavirin gurubunda daha yüksek olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak önemli değildi ($P > 0.05$; Tablo 4.10). Böylece şiddetli kabul ettiğimiz KKKKA gurubuna ribavirin uygulamadan önce (ribavirin gurubundaki koagülasyon ve fibrinolizi gösteren testler hariç tutulduğunda) iki gurubun da benzeşik olduğunu gösterdik.

Biz bu çalışmada, ribavirin tedavisi alan ve almayan iki grupta serum ortalama viral yük seviyeleri, ardışık serum sitokin seviyeleri, IgG titreleri ve rutin laboratuvar değerlerini ardışık günlerde ölçerek karşılaştırdık. Amacımız oral ribavirin tedavisinin özellikle serum CCHFV virüs titresine üzerine bir etkinliği olup olmadığını, bu arada serum sitokin değerleri ile rutin laboratuvar testlerinin ribavirin tedavisinden etkilenip etkilenmediğini araştırmak idi. Ribavirin invitro olarak aralarında *Bunyaviridae* ailesine mensup virüslerin de olduğu bazı VKA etkenlerinin ve diğer RNA ve DNA virüslerinin replikasyonunu inhibe ettiği gösterilmiş nükleozid analogu olan bir antiviral ilaçtır (53,54). Ribavirinin invitro olarak farklı CCHFV suşları üzerine etkisi daha önce yapılan iki ayrı çalışmada değerlendirilmiştir. Bunlardan birinde Watts ve ark. (10), Avrupa, Asya ve Afrika'dan izole edilen 7 farklı CCHFV suşunun ribavirine duyarlılığını Vero hücre kültürlerinde ölçmüş ve Avrupa'dan izole edilen CCHFV suşunun 48 ve 72. saatteki %50 efektif inhibitör dozunun 3 mikrogram/ml olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada diğer suşların ilk 48

saatteki efektif inhibitör dozu ise 4-16 mikrogram/ml olarak değişmekteydi. Diğer çalışmada ise farklı coğrafyalardan izole edilen CCHFV suşlarının hücre kültürlerinde ribavirin ile replikasyonunun etkili bir şekilde durdurulduğu ve suşlar arasında ribavirine duyarlılık açısından önemli bir fark gözlenmediği bildirilmiştir (106). Avrupa'dan izole edilen CCHFV suşu ile Kosova'dan izole edilen CCHFV suşunun ülkemizde sirküle eden CCHFV suşu ile CCHFV virüsünün S genomuna göre filogenetik açıdan çok benzemesi (%1 farklı) ile ribavirinin bizdeki CCHFV suşu üzerine de etkili olacağı beklenebilir (2,107). Nitekim CCHFV'lerin genetik olarak farklı olması virüslerin ilaçlara duyarlılığını etkilememektedir (106). Bununla birlikte invitro hücre kültürlerindeki virüs duyarlılık testlerinden elde edilen sonuçlarla ilacın invivo etkin olabileceğini söylemek hastalığa özgül patogeneze etki eden birçok değişken olabileceği gerekçesiyle oldukça güçtür (7,42,54). Ayrıca VKA'larda viral yükün %50 inhibisyonu ile bile enfeksiyon kontrol altına alınmayabilir (7).

Ribavirinin antiviral etkinliği tam olarak anlaşılamamış olsa da değişik etki mekanizmaları öne sürülmüştür. İlaç memeli hücresi içinde mono- di- ve trifosfat formlarına dönüşür. Ribavirin monofosfat, hücre içindeki purin metabolizmasında görevli olan inozin monofosfat (IMP) dehidrojenaz enziminin potent inhibitörüdür. Ribavirin trifosfat ise viral mRNA'nın guanozin trifosfat (GTP) bağımlı kappingini engelleyerek, ayrıca direkt olarak viral RNA-polimeraz enzimini de inhibe ederek etki eder (54, 108). Ribavirin tedavisi sırasında RNA virüslerinin viral genomunda mutasyon oluşmaktadır. Bu mutasyonun defektif RNA genomunun üretimindeki artıştan kaynaklandığı düşünülmektedir (108). Ribavirin varlığında hücre içinde virüslerde öldürücü sayıda mutasyon birikmesi artmakta ve buna "error catastrophe" denmektedir (109). Ribavirin, hepatit C virüs enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Kronik hepatit C enfeksiyonlarının tedavisi sırasında virüsün NS5B bölgesinde tedavinin ilk 4 haftası içinde erken ve geçici genetik mutasyon oluşturmaktadır (110). Hantavirüs CCHFV ile birlikte *Bunyaviridae* ailesine mensup bir virüsdür. Ribavirin etkisi ile hantavirüs genomunda mutasyon sıklığının artmış olması ilacın bu virüslerde IMP dehidrojenaz enzim inhibisyonundan ziyade viral RNA polimeraz enzimi inhibisyonu ile etki ettiğini göstermektedir (111). Nitekim Vero E6 hücre kültürlerinde ribavirinin hantavirüslere olan etkinliği ribavirinin trifosfat formu ile viral RNA-bağımlı RNA polimeraz enzimi üzerinden olmaktadır

(112). CCHFV'nin de *Bunyaviridae* ailesinden olması ilaca ait aynı etki mekanizmasının bu virüse olan etkinliği için de bir fikir verebilir. Ribavirinin antiviral etkinliğinin farklı mekanizmalar üzerinden olmasıyla ilaca karşı direnç gelişmesinin oldukça zor olduğu bildirilse de (54) ülkemizde dolaşan CCHFV virüsünün invitro ribavirine duyarlılık testinin yapılması gerektiğini düşünüyoruz. Ribavirinin farklı bir etkisi ise infekte konaktaki T-helper-1 (Th1) hücre yanıtını düzenleyerek immünomodülatör etkide bulunmasıdır (113).

Ribavirin hem hayvanlardaki deneysel VKA'larda, hem de insanlardaki VKA'larda etkinliği araştırılmıştır. Hem oral hem de intravenöz form ribavirinin Lassa ateşli hastalarda tedavide etkin olduğu bildirilmektedir (96). İntavenöz ribavirin ile hastaneye geliş AST değeri >150 U/L olan hastalardaki mortaliteyi ateşin ortaya çıktığı ilk 6 günü içinde uygulandığında %55'ten %5'e kadar düşürdüğü, ayrıca yüksek viremili hastalarda da yine ilk 6 gün içinde uygulandığında %76'dan %92'ye kadar düşürdüğü bu çalışmada gösterilmiştir (96). Hantavirüs ile oluşturulan Hemorajik Ateş Renal Sendrom (HFRS)'lu hastalarda intravenöz form ribavirin ile mortalitede önemli derecede azalma gözlenmiş, hastalarda ayrıca oligürik faza girişte azaltma kaydedilmiştir (114). Farelerdeki deneysel KKKA modelinde infeksiyonun erken döneminde (virüs verildikten 45 dk sonra) 50 mg/Kg'lık tek doz intraperitoneal ribavirin uygulaması bile hayvanlardaki geometrik ölüm süresini kontrollere göre anlamlı oranda uzatmaktadır (8 gün vs. 15 gün). Eğer ardışık olarak aynı doz 5 gün verilirse tek doz ribavirin uygulanan farelere göre geometrik ölüm zamanı daha da uzamaktadır (15 gün vs. 20 gün). Bu çalışmada eğer virüs hayvanlara uygulandıktan 45 dk sonra ribavirin tek doz intraperitoneal verilirse karaciğerdeki virüs titresini ve viremiyi önemli oranda azaltmaktadır. Fakat tek doz ribavirin verilen hayvanlarda 5. günde hala viremi olmaktadır. Bu durumu yazarlar ribavirinin etkisinin zamana bağlı azalmasıyla açıklamaktadırlar. Daha yüksek ribavirin dozuyla 5. ve 9. günlerde ek doz ribavirin uygulandıktan sonra bile hayvanlarda 12. günde hala viremi bulunmuştur. Hastalığın 13 ve 14. gününde virüsün karaciğerde olduğu, ama kanda, dalakta ve beyin dokusunda olmadığı gösterilmiştir. Ribavirin tedavisine virüs uygulandıktan sonraki 5. günde başladığında ise hayvanlarda geometrik ölüm süresi ve mortalite üzerine etkisi bulunmamaktadır (11).

Ribavirin ile farelerdeki deneysel VKA modellerinden elde edilen sonuçlar, farelerdeki ilaç metabolizması ile primatlardaki ilaç metabolizmasının farklı olmasından dolayı primatlara uygulanamayabilir (115). Çalışılan 7 gün boyunca ribavirin gurubu hastalardaki ortalama serum viral yükü başlangıçtaki $3.2E+09$ copy/ml'den 3.100 copy/ml'ye kadar düşerken bu düşmenin istatistiksel olarak önemli olmadığı görüldü ($P>0.05$). Fakat kontrol gurubundaki başlangıçtaki $1.7E+09$ copy/ml'den 7.800 copy/ml'ye kadar düşme istatistiksel olarak anlamlı idi ($P<0.05$). Ribavirin bizim hastalarımızdaki viral yükü anlamlı olarak azaltmadı. Tedavinin 5. gününde hastalardaki viral yükte 2 logaritmik bir düşüş gözlenmesine rağmen, aynı günde kontrol hastalarında 6 logaritmik bir düşme gözlemlendi. Bu bizi ribavirinin viral yükü azaltmadığı sonucuna götürebilir. Ayrıca kontrol hastalarındaki anlamlı viral yük düşüşü ribavirinden ziyade özgül anti-CCHFV IgG sınıfı antikorlara bağlı gibi gözükmektedir. Çünkü biz ribavirin gurubu ile kontrol gurubu arasında ardışık günlerde ortalama serum anti-CCHFV IgG titreleri açısından fark gözlemesek de ribavirin gurubundaki ortalama serum IgG seviyelerinin yatışın 3. gününde üretici firmanın belirttiği 0.90 optik dansite seviyelerine ulaştığını gözlerken, kontrol gurubu hastalarda daha başlangıçta bu değer üzerinde idi. Bulgularımız daha önce deney hayvanlarında ribavirinin viral yükü azalttığı şeklindeki çalışmaya uymamaktadır (11). Aynı şekilde daha önce beklemesek de bizim şiddetli kategorideki hastalarımız arasındaki mortaliteyi de azaltmadı. Bizim amacımız bu çalışmada oral ribavirin tedavisi alanlar ile almayanları vaka-ölüm oranı açısından karşılaştırmak değildi. Çünkü ribavirin gurubu bazı klinik ve laboratuvar bulguları açısından benzeşik olsa da bu guruptaki vaka-ölüm oranının daha önceden zaten yüksek olması bekleniyordu (82). Nitekim ribavirin gurubundaki 14 hastadan 8 (%57.1)'i, kontrol gurubundaki hastaların ise 3 (%17.6)'ü takip sırasında öldü.

Ribavirinin hastalardaki viral titreleri azaltamamasının nedenlerinden biri kullandığımız ilacın oral formda olması olabilir. Deneysel KKKA enfeksiyonu modelinde ribavirin parenteral kullanılmıştır (11). Çalışmamızda oral ribavirin uyguladığımız hastalarda PT ve aPTT gibi koagülasyon testleri ile INR ve YDP skorları ribavirin tedavisi uygulanmayanlara göre daha bozuk idi. Bu hastalara uygulanan oral ribavirin, hastalardaki gastrointestinal sistemde oluşacak ödem veya kanama nedeniyle yeterince absorbe edilmemiş veya bu hastalardaki doku ödemi veya dolaşım bozukluğu nedeniyle dokulara yeterince dağılmamış olabilir. Bu

durumun açıklanması için bu hastalardaki oral ribavirinin biyofarmakolojisi araştırılabilir. Ayrıca ribavirin metabolizmasında oluşacak türe ve cinse göre farklılıkların da etkisi olabilir (115). İleride intravenöz form ribavirinin bu hastalardaki etkinliği araştırılabilir. Bir başka etkisizlik nedeni de ribavirinin uygulama zamanı olabilir. Deneysel KKKA modelinde ilacın 5. gününden sonra uygulanmasının tedavide bir yarar sağlamadığı bildirilmektedir (11). Biz ribavirin gurubunda semptomlar başladıktan ortalama 5.1 gün sonra ribavirin tedavisine başladık (Tablo 4.11). Deneysel VKA modellerinde hayvanlarda ribavirin tedavisi sırasında deprese viremi devam edebilir (11,96,116). Bu durumda virüs kaynağının karaciğer olduğu ve yüksek doz ribavirin (100 mg/Kg) ile vireminin ve karaciğerdeki virüs titrelerinin azaltılabileceği ileri sürülmektedir (11).

Bizim çalışmamızda ribavirin alan hastalarla kontrol grubundaki hastalar arasında ardışık günlerde bakılan ortalama serum IL-6, IL-10, TNF- α ve IF- γ seviyeleri açısından bir fark gözlemedik (Tablo 4.12). Ardışık günlerde ribavirin alan hastaların serum sitokin seviyelerindeki değişimler istatistiksel olarak önemli değil iken kontrol grubunda ortalama serum IL-6 ve IF- γ seviyelerindeki azalmalar istatistiksel olarak önemli idi ($P < 0.05$). Ardışık günlerde ölçülen ortalama rutin kan ve serum biyokimyasal test sonuçları arasında iki grup arasında çalışılan günlerde istatistiksel olarak fark gözlemedi ($P < 0.05$; Tablo 4.13). Ribavirin gurubunda ortalama platelet sayılarının tedavinin 4. gününden itibaren bazal değere göre anlamlı artış kaydedilmesine rağmen tüm günlerde kontrol grubuna göre trombosit sayıları düşük seyretti. Ribavirin grubu ile kontrol grubu arasında hastalara uygulanan kan ve kan ürünleri ve hospitalizasyon süreleri açısından da istatistiksel bir fark gözlenmedi ($P > 0.05$; Tablo 4.11). Sonuçlar toparlanırsa KKKA hastalarında serum sitokin seviyeleri, rutin testler ve uygulanan kan ürünlerinin ribavirin tedavisinden etkilenmediği sonucu çıkarılabilir.

Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre serum virüs titreleri ile proinflatuar sitokinler (TNF- α ve IF- γ) ve anti-inflatuar sitokinler (IL-6 ve IL-10)' in aşırı yapımı ve sitokin fırtınasının KKKA hastalarının patogeneğinde önemli bir rolü olduğunu düşünüyoruz. Özellikle yüksek virüs titreleri ve hastalarda gelişen YDP'nin de hem hastalık patogeneğinde hem de hastalığın ölümle sonuçlanması ile bağlantılı gibi gözükmektedir. Yüksek viremi olan hastalarda vireminin kontrol edilemediğini, virüsü nötralize edecek özgül anti-CCHFV IgG antikörlerinin

yapımının ölen hastalarda eksik olduğunu, yaşayan hastalarda ise bu antikor seviyelerinin artması ile vireminin kontrol edildiğini düşünüyoruz. Daha önce hastalarda mortaliteyi azalttığı bildirilen oral form ribavirin şiddetli kategorideki hastalardaki ne serum virüs titresini ne de mortaliteyi azaltamadı. Ayrıca bu hastalarda serum sitokin seviyeleri ile hasta takibinde sıklıkla kullanılan laboratuvar testleri ribavirin tedavisinden etkilenmedi. Hastaların tedavisinde ilacın intravenöz formu denenebilir. Hastaların tedavilerinde destek ve replasman tedavisinin halen önemli olduğunu, gelecekte iyi planlanmış ve kontrollü çalışmalardan alınacak sonuçlara göre immün serum tedavisinin bu hastalarda denenebileceğini düşünüyoruz.

6.SONUÇLAR

1. Çalışmaya real time RT-PCR ile KKKA tanısı almış ve serum virüs titreleri belirlenmiş 31 hasta, 15 sağlıklı kontrol ve 5 KKKA dışı kontrol hasta alındı.
2. KKKA'lı 31 olgunun yaş ortalaması 48.7 ± 16.02 (yıl), sağlıklı kontrol gurubundaki 15 olgunun yaş ortalaması 41.2 ± 15.79 (yıl), hasta kontrol gurubundaki 5 olgunun yaş ortalaması ise 43.8 ± 21.84 (yıl) idi.
3. KKKA'lı hasta gurubunda 16 (%51.6) erkek, 15 (%48.4) kadın, sağlıklı kontrol grubunda 9 (%60) erkek, 6 (%40) kadın, hasta kontrol grubunda 3 (%60) erkek, 2 (%40) kadın mevcuttu.
4. Tüm hastalarda halsizlik, kas ağrısı, ateş ve yorgunluk en sık görülen semptomlardı. Ölenlerde ve yaşayanlarda görülen semptomların sıklığı benzerdi.
5. Hastaların tümü trombositopenik ve yüksek serum ALT, AST ve CPK değerlerine sahipti. Takip sırasında KKKA nedeniyle ölenlerde AST, LDH, CPK ve INR değerleri önemli derecede artmış, PT ve aPTT değerleri önemli oranda uzamıştı.
6. KKKA'lı olup ölenlerin hepsinde YDP skoru 5 ve üzerinde idi. Ölenlerde serum TNF- α , IL-6 ve virüs titreleri anlamlı derecede yüksekken, IL-10 düzeyi düşüktü.
7. Tüm hastalar göz önüne alındığında YDP skoru ile serum TNF- α seviyeleri arasında pozitif ilişki mevcuttu ($P < 0.05$).
8. YDP skoru ile serum IL-6 seviyeleri arasında da pozitif ilişki mevcuttu ($P = 0.000$). Serum IL-6 seviyeleri ile PT, aPTT, INR ve CRP arasında pozitif ilişki vardı ($P < 0.05$).
9. Serum IL-10 seviyeleri ile YDP skoru arasında negatif ilişki var ama önemli değildi ($P > 0.05$).
10. Ölenlerde serum virüs titreleri öldükleri güne kadar yüksek kalırken, yaşayan hastalarda serum anti-CCHFV IgG seviyelerinin artması ile serum virüs titrelerinin düşmeye başladığı gözlemlendi.
11. Ölen ve yaşayanlarda hospitalizasyon süresi ve hastaneye geliş ile semptomların başlangıcı arasındaki süre arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıydı ($p < 0.05$).
12. Oral ribavirin tedavisi ile hastalardaki virüs titreleri ve mortalite anlamlı oranda düşürülemedi ($P > 0.05$). Serum sitokin seviyeleri ve rutin laboratuvar testleri ribavirin tedavisinden etkilenmedi ($P > 0.05$).
13. Oral ribavirin tedavisi alan ve almayanlar arasındaki hastanede kalış süreleri benzer idi ($P > 0.05$).

KAYNAKLAR

1. Whitehouse CA. Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Antiviral Res* 2004; (64):145-160.
2. Karti SS, Odabasi Z, Korten V, Yılmaz M, Sonmez M, Caylan R, Akdogan E, Eren N, Koksali I, Ovalı E, Erickson BR, Vincent MJ, Nichol ST, Comer JA, Rollin PE, Ksiazek TG. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey. *Emerg Infect Dis* 2004; 10 (8): 1379-84.
3. Ergonul O, Celikbas A, Dokuzoğuz B, Eren S, Baykam N, and Esener H. Characteristics of Patients with Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in a Recent Outbreak in Turkey and Impact of Oral Ribavirin Therapy. *Clin Infect Dis* 2004;39:284-7.
4. Bakır M, Ugurlu M, Dokuzoguz B, Bodur H, Tasyaran M.T, Vahaboglu H. And the Turkish CCHF Study Group. Crimean-Congo hemorrhagic fever outbreak in middle anatolia: a multicentre study of clinical features and outcome measures. *J Med Microbiol* 2005; 54: 1-5.
5. Swanepoel R, Gill DE, Shepherd AJ, Leman PA, Mynhardt JH, Harvey S. The clinical pathology of Crimean-Congo Hemorrhagic fever. *Rev Infect Dis* 1989; 11(Suppl 4): 794-800
6. Geisbert TW, Jahrling PB. Exotic emerging viral diseases: progress and challenges. *Nat Med.* 2004;10(12 Suppl):S110-21.
7. Mammen EF. Disseminated intravascular coagulation. *Clin Lab. Sci.* 2000;13:239-245.
8. Levi M. Current understanding of disseminated intravascular coagulation. *Br. J. Haematol.*2004;124(5):567-76.
9. Us D. Arboviruslar. In: Ustaçelebi Ş, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 957-65.
10. Watts DM, Ussery MA, Nash D, Peters CJ. Inhibition of Crimean-Congo hemorrhagic fever viral infectivity yields in vitro by ribavirin. *Am J Trop Med Hyg* 1989; 41(5): 581-5.
11. Tignor GH, Hanham CA. Ribavirin efficacy in an in vivo model of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHF) infection. *Antiviral Res* 1993; 22 (4): 309-25.

12. Fisher-Hoch SP, Khan JA, Rehman S, Mirza S, Khurshid M, McCormick JB. Crimean Congo-haemorrhagic fever treated with oral ribavirin. *Lancet* 1995; 346(8973): 472-5.
13. Mardani M, Jahromi MK, Naieni KH, Zeinali M. The efficacy of oral ribavirin in the treatment of Crimean-Congo haemorrhagic fever in Iran. *Clin Infect Dis* 2003;36:1613-8.
14. Alavi-Naini R, Moghtaderi A, Koochpayeh H-R, Sharifi-Mood B, Naderi M, Metanat M, Izadi M. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Southeast of Iran. *J Infect* 2006; 52 (5): 378-82.
15. Ergonul O, Tuncbilek S, Baykam N, Celikbas A, Dokuzoguz B. Evaluation of serum levels of interleukin (IL)-6, IL-10, and tumor necrosis factor-alpha in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 2006; 193: 941-4.
16. Papa A, Bino S, Velo E, Harxhi A, Kota M, Antoniadis A. Cytokine levels in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Clin Virol* 2006; 36 (4): 272-6.
17. Centers for Disease Control and Prevention. Management of patients with suspected viral hemorrhagic fever. *Morb Mortal Wkly Rep* 1988; 37(Suppl 3): 1-16.
18. Emond RT. Viral haemorrhagic fevers. *J Infect* 1986;13: 103-106.
19. Elaldı N. Kırım-Kongo Hemorajik Ateşi Epidemiyolojisi. *Klimik Dergisi* 2004;17 (3):151-155.
20. Rizvi M. Pakistan: Congo fever outbreak shows fear, shows lack of capacity http://gateway.proquest.com/openurl?ctx_ver=39.882003&res_id=xri:pqd:did=00000027027899&svc_da.
21. Bodur H. Kırım-Kongo kanamalı ateşi ve DAS yönetimi. 5.Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi-2007; 509-20.
22. Simpson DIH. Viral haemorrhagic fevers of man. *Bull Wld Hlth Org* 1978; 56: 819-32.
23. LeDuc JW. Epidemiology of hemorrhagic fever viruses. *Rev Infect Dis* 1989; 11 (Suppl 4): 730-5.
24. Goldfarb LG, Chumakov MP, Myskin AA, Kondratenko VF, Reznikova OY. An epidemiological model of Crimean hemorrhagic fever. *Am J Trob Med Hyg* 1980; 29(2): 260-4.
25. Andersson I, Simon M, Lundkvist A, Nilsson M, Holmström A, Elgh F, Mirazimi A. Role of actin filaments in targeting of Crimean Congo hemorrhagic

- fever virus nucleocapsid protein to perinuclear regions of mammalian cells. *J Med Virol* 2004; 72:83-93.
26. Khan AS, Maupin GO, Rollin PE, Noor AM, Shurie HH, Shalabi AG, Wasef S, Haddad YM, Sadek R, Ijaz K, Peters CJ, Ksiazek TG. An outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever in the United Arab Emirates, 1994-1995. *Am J Trop Med Hyg* 1997;57(5):519-25.
 27. Capua I. Crimean-Congo haemorrhagic fever in ostriches: A public health risk for countries of the European Union? *Avian Pathology* 1998; 27 (2)2.117-20.
 28. Suleiman MN, Muscat-Baron JM, Harries JR, Satti AG, Platt GS, Bowen ET, Simpson DI. Congo/Crimean haemorrhagic fever in Dubai. An outbreak at the Rashid hospital. *Lancet* 1980; 2: 939-41.
 29. Oldfield EC, Wallace MR, Hyams KC, Yousif AA, Lewis DE, Bourgeois AL. Endemic infectious diseases of the Middle East. *Rev Infect Dis* 1991; 13 (Suppl 3): 199-217.
 30. Simpson IH, Knight EM, Courtois G, Williams MC, Weinbren MP, Kibukamusoke J. Congo Virus: a hitherto undescribed virus occurring in Africa. Part I. Human isolations-clinical notes. *East Afr Med J* 1967; 44: 86-92.
 31. Gear JH. Clinical aspects of African viral hemorrhagic fevers. *Rev Infect Dis* 1989; 11 (Suppl 4): 777-82.
 32. World Health Organization. Crimean-Congo hemorrhagic fever. Fact Sheet No. 208 www.who.int/inf-fs/fact208.html.
 33. Leshchinskaya EV. Clinical Picture of Crimean hemorrhagic fever (in Russian). *Trudy insete Polio Virus Entsef Akad Med Nauk SSSR* 1965; 7: 226-36 (In English: NAMRU 3-1856)
 34. Papa A, Bino S, Llagami A, Brahimaj B, Papadimitriou E, Pavlidou V, Velo E, Cahani G, Hajdini M, Pilaca A, Harxhi A, Antoniadis A. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Albania, 2001. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21 (8): 603-6
 35. CDC. Viral hemorrhagic fever: initial management of suspected an confirmed cases. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1983; 32 (Suppl 2): 27S-38S.
 36. Joubert JR, King JB, Rossouw DJ, Cooper R. A nosocomial outbreak of Crimean- Congo haemorrhagic fever at Tygerberg Hospital. Part III. Clinical pathology and pathogenesis. *S Afr Med J* 1985; 68 (10): 722-8

37. Van Eeden PJ, Van Eeden SF, Joubert JR, King JB, Van de Wal BW, Michell WL. A nosocomial outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever at Tygerberg Hospital. Part II. Management of patients. *S Afr Med J* 1985; 68 (10): 718-21.
38. Goad JA, Nuyen J. Haemorrhagic fever viruses. *Trop Emerg Med* 2003; 25(1): 66-72.
39. Van Eeden PJ, Joubert JR, Van de Wal BW, King JB, de Kock A, Groenewald JH. A nosocomial outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever at Tygerberg Hospital. Part I. Clinical features. *S Afr Med J* 1985; 68 (10): 711-7.
40. Chen JP, Cosgriff TM. Hemorrhagic fever virus-induced changes in hemostasis and vascular biology. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 2000; 11: 461-483.
41. Ksiazek TG, Rollin PE, Williams AJ, Bressler DS, Martin ML, Swanepoel R, Burt FJ, Leman PA, Khan AS, Rowe AK, Mukunu R, Sanchez A, Peters CJ. Clinical virology of Ebola hemorrhagic fever (EHF): virus, virus antigen, and IgM and IgG antibody findings among EHF patients in Kikwit, Democratic Republic of the Congo. *J Infect Dis* 1999; 179 (Suppl 1): S177-S187.
42. Sanchez A, Lukwiya M, Bausch D, Mahanty S, Sanchez AJ, Wagoner KD, Rollin PE. Analysis of human peripheral blood samples from fatal and nonfatal cases of Ebola (Sudan) hemorrhagic fever: cellular responses, viral load, and nitric oxide levels. *J Virol* 2004; 78: 10370-7.
43. Shepherd AJ, Swanepoel R, Leman PA. Antibody response in Crimean-Congo hemorrhagic Fever. *Rev Infect Dis* 1989; (Suppl 4): 801-6.
44. Burt FJ, Swanepoel R, Shieh WJ, Smith JF, Leman PA, Greer PW, Coffield LM, Rollin PE, Ksiazek TG, Peters CJ, Zaki SR. Immunohistochemical and in situ localization of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) virus in human tissues and implications for CCHF pathogenesis. *Arch Pathol Lab Med* 1997; 121(8): 839-46.
45. Ardalan MR, Tubbs RS, Chinikar S, Shoja MM. Crimean-Congo hemorrhagic fever presenting as thrombotic microangiopathy and acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 2304-7.
46. Geisbert TW, Hensley LE, Larsen T, Young HA, Reed DS, Geisbert JB, Scott DP, Kagan E, Jahrling PB, Davis KJ. Pathogenesis of Ebola Hemorrhagic fever in cynomolgus macaques: evidence that dendritic cells are early and sustained targets of infection. *Am J Pathol* 2003; 163: 2347-70.

47. Schnittler HJ, Feldmann H. Viral Hemorrhagic fever-a vascular disease? *Thromb Haemost* 2003; 89(6): 967-72.
48. Ergonul O, Celikbas A, Baykam N, Eren S, Dokuzoguz B. Analysis of risk-factors among patients with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection: severity criteria revisited. *Clin Microbiol Infect* 2006;12(6):551-4.
49. Edward C, Oldfield III, Mark R. Endemic infectious diseases of the Middle East. *Reviews of Infectious disease*. 1991;(Suppl 3):S199-S217.
50. TC. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü (yayını) Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi. Ankara-2004: 1-23.
51. Duh D, Saksida A, Petrovec M, Dedushaj I, Avsic-Zupanc T. Novel one-step real-time RT-PCR assay for rapid and specific diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever encountered in the Balkans. *J Virol Methods* 2006;133(2):175-9.
52. Peters CJ. Bunyaviridae. California encephalitis, Hantavirus pulmonary syndrome, and Bunyavirid haemorrhagic fevers. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practise of Infectious Diseases. Mandell GL, Bennett JE (eds). 6th edition. Churchill Livingstone, Philadelphia 2005; 2086-9
53. Borio L, Ingleshy T, Peters CJ, Schmaljohn AL, Hughes JM, Jahrling PB, Ksiazek T, Johnson KM, Meyerhoff A, O'Toole T, Ascher MS, Bartlett J, Breman JG, Eitzen EM, Hamburg M, Hauer J, Henderson DA, Johnson RT, Kwik G, Layton M, Lillibridge S, Nabel GJ, Osterholm MT, Perl TM, Russell P, Tonat K; Working Group on Civilian Biodefense. Hemorrhagic fever viruses as biological weapons: medical and public health management. *JAMA* 2002; 287 (18): 2391- 405.
54. John W.Huggins. Prospects for treatment of Viral haemorrhagic fevers with Ribavirin, a broad spectrum antiviral drug. *Reviews of Infectious diseases*. Vol.II. suppl. 4. 1989;750-61.
55. Metanat M, Sharifi-Mood B, Salehi M. A comparative study of the efficacy of oral ribavirin for Crimean-Congo haemorrhagic fever in patients treated during the initial 5 days vs after 5 days of disease, Southeast Iran. *Int J Antimicrob Agents*. 2005; S85.
56. Anonymous. South Africa 1981 (Avaliable at; May 2007). <http://www.angelfire.com/punk/lymedisease/cchf81.html>.

57. Tramont EC. General or nonspecific host defense mechanisms. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practise of Infectious Diseases. Mandell GL, Bennett JE (eds). 6th edition. Churchill Livingstone, Philadelphia 2005; 34-42.
58. Kelso A. Cytokines: Principles and prospects. *Immunol Cell Biol* 1998;76:300-317.
59. Kılıçturgay K. Sitokinler. In: *İmmünoloji*. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2000;175-215.
60. Fresno M, Kopf M, Rivas L. Cytokines and infectious diseases. *Immunol Today* 1997; 18: 56-8.
61. Luger TA, Bohm M. Cytokines with immunosuppressive capacities. In: Burg G, Dummer RG, (eds). *Strategies for Immunointerventions in Dermatology*. Springer Verlag, Berlin1997:101-17.
62. Andrew M, Montgomery RR. Acquired disorders of hemostasis. Nathan DG, Orkin Sh (eds). *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood* (5th edition). WB Saunders, Philadelphia 1998;1677-706.
63. Prieto M. Disseminated intravascular coagulation. *International Congress Series* 2002 ;1237: 163-8.
64. Fernandez-Bustamante A, Jimeno A. Disseminated intravascular coagulopathy in aortic aneurysms. *Eur J of Intern Med* 2005; 16:551-60.
65. Kramer J, Otten HM, Levi M, Cate H. The association of disseminated intravascular coagulation with specific diseases. *Réanimation* 2002; 11:565-83.
66. Ho LWW, Kam PCA, Thong CL. Disseminated intravascular coagulation. *Current Anaesthesia Critical Care* 2005; 16:151-61.
67. Faust SN, Heyderman RS, Levin M. Disseminated intravascular coagulation and purpura fulminans secondary to infection. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 2000; 13:179-97.
68. Levi M, Cate HT. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med* 1999; 341:586-92.
69. Trotter L. Disseminated intravascular coagulation in the neonatal period. *Newborn and Infant Nursing Reviews*, 2004: 176-80.
70. Levi M. Pathogenesis and treatment of disseminated intravascular coagulation in the septic patient. *J Crit Care* 2001;16: 167-77.

71. Levi M, de Jonge E, van der Poll T. Sepsis and disseminated intravascular coagulation. *J Thromb and Thrombolysis* 2003; 16: 43-7.
72. Bakashi S. Diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation. *Indian Pediatrics* 2003; 40:721-30.
73. Levi M, de Jonge E, Meijers J. The diagnosis of disseminated intravascular coagulation. *Blood Rev* 2002; 16:217-23.
74. Levi M, de Jonge E, van der Poll T. Plasma and plasma components in the management of disseminated intravascular coagulation. *Best Pract Res Clin Haematol* 2006; 19:127-42.
75. Moskowitz NP, Karpatkin M. Coagulation problems in the newborn. *Current Pediatrics* 2005; 15:50-6.
76. Mesters RM, Mannucci PM, Coppola R, Keller T, Ostermann H, Kienast J. Factor VIIa and antithrombin III activity during severe sepsis and septic shock in neutropenic patients. *Blood* 1996; 88:881-6.
77. Laszik ZG, Zhou XJ, Ferrell GL, Silva FG, Esmon CT. Down-regulation of endothelial expression of endothelial cell protein C receptor and thrombomodulin in coronary atherosclerosis. *Am J Pathol* 2001; 159:797-802.
78. Collins PW, Noble KE, Reittie JR, Hoffbrand AV, Pasi KJ, Yong KL. Induction of tissue factor expression in human monocyte/endothelium cocultures. *Br J Haematol* 1995; 91:963-70
79. Levi M, van der Poll T, Büller HR. Bidirectional relation between inflammation and coagulation. *Circulation* 2004; 109:2698-704.
80. Hambleton J, Leung LL, Levi M. Coagulation: consultative hemostasis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2002; 335-52.
81. Wada H. Disseminated intravascular coagulation. *Clinica Chemica Acta* 2004; 344:13-21.
82. Elaldi N, Bodur H, Celikbas A, Ozkurt Z, Leblebicioglu H, Bakir M, Aydin K, Yilmaz N, Dokmetas I, Cevik MA, Dokuzoguz B, Tasyaran MA, Ozturk R, Vahaboglu H, Engin A. Comparison of oral ribavirin treatment in Crimean-Congo hemorrhagic fever: a historical cohort study in Turkey. 17th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) and 25th International Congress of Chemotherapy (ICC) Munich, Germany, 31 March-3 April 2007. Congress Book: 58, Oral presentation no: O247, (2007).

83. Elsner B, Schwarz E, Mando OG, Maiztegui J, Vilches A. Pathology of 12 fatal cases of Argentine hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1973;22: 229–36.
84. Terrell TG, Stookey JL, Eddy GA, Castello MD. Pathology of Bolivian hemorrhagic fever in the rhesus monkey. *Am J Pathol* 1973; 73: 477–94.
85. Feldmann H, Bugany H, Mahner F, Klenk HD, Drenckhahn D, Schnittler HJ. Filovirus-induced endothelial leakage triggered by infected monocytes/macrophages. *J Virol* 1996; 70: 2208–14.
86. Wahl-Jensen VM, Afanasieva TA, Seebach J, Ströher U, Feldmann H, Schnittler HJ. Effects of Ebola virus glycoproteins on endothelial cell activation and barrier function. *J Virol* 2005; 79 (16): 10442-50.
87. Baize S, Leroy EM, Georges AJ, Georges-Courbot MC, Capron M, Bedjabaga I, Lansoud-Soukate J, Mavoungou. Inflammatory responses in Ebola virus-infected patients. *Clin Exp Immunol* 2002;128:163-8.
88. Villinger F, Rollin PE, Brar SS, Chikkala NF, Winter J, Sundstrom JB, Zaki SR, Swanepoel R, Ansari AA, and Peters CJ. Markedly elevated levels of IF- γ , IF- α , IL-2, IL-10 and TNF- α associated with fatal Ebola virus infection. *J Infect Dis.*1999;179 (Suppl 1):S188-S191.
89. Frame JD. Clinical features of Lassa fever in Liberia. *Rev Infect Dis* 1989; (Suppl 4):S783–S789.
90. Shuarti C, Van Gorp EC, Setiati TE, Dolmans WMV, Djokomoeljanto RJ, Hack CE, Cate H, Meer JWM. The role of cytokines in activation of coagulation and fibrinolysis in Dengue Shock Syndrome. *Thromb Haemost* 2002;87:42-6.
91. Azeredo EL, Zagne SM, Santiago MA, Gouvea AS, Santana AA, Neves-Souza PC, Nogueira RM, Miagostovich MP, Kubelka CF. Characterisation of lymphocyte response and cytokine patterns in patients with dengue fever. *Immunobiology* 2001;204 (4): 494-507.
92. McKay DG, Margaretten W. Disseminated intravascular coagulation in virus diseases. *Arch Intern Med* 1967;120(2):129-52.
93. Nguyen TH, Lei HY, Nguyen TL, Lin YS, Huang KJ, Le BL, Lin CF, Yeh TM, Do QH, Vu TQ, Chen LC, Huang JH, Lam TM, Liu CC, Halstead SB. Dengue hemorrhagic fever in infants: a study of clinical and cytokine profiles. *J Infect Dis* 2004; 189 (2): 221-2.

94. Libraty DH, Young PR, Pickering D, Endy TP, Kalayanarooj S, Green S, Vaughn DW, Nisalak A, Ennis FA, Rothman AL. High circulating levels of the dengue virus nonstructural protein NS1 early in dengue illness correlate with the development of dengue hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 2002;186(8):1165-8.
95. Green S, Vaughn DW, Kalayanarooj S, Nimmannitya S, Suntayakorn S, Nisalak A, Rothman AL, Ennis FA. Elevated plasma IL-10 levels in Acute Dengue correlate with disease severity. *J Med Virol* 1999; 59:329-34.
96. McCormick JB, King IJ, Webb PA, Scribner CL, Craven RB, Johnson KM, Elliot LH, Belmont-Williams R. Lassa fever effective therapy with ribavirin. *N Engl J Med* 1986;314:20-6.
97. Asper M, Sternsdorf T, Hass M, Drosten C, Rhode A, Schmitz H, Günther S. Inhibition of different Lassa virus strains by alpha and gamma interferons and comparison with a less pathogenic arenavirus. *J Virol* 2004;78: 3162-9.
98. Andersson I, Lundkvist A, Haller O, Mirazimi A. Type I interferon inhibits Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in human target cells. *J Med Virol* 2006;78 (2): 216-22.
99. Andersson I, Bladh L, Mousavi-Jazi M, Magnusson KE, Lundkvist A, Haller O, Mirazimi A. Human MxA protein inhibits the replication of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Virol* 2004;78 (8): 4323-9.
100. Yapar M, Aydoğan H, Pahsa A, Besirbellioğlu AP, Bodur H, Basustaoğlu AC, Guney C, Avcı IY, Sener K, Abu Setteh MH, Kubar A. Rapid and quantitative detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by one step Real-Time Reverse Transcriptase-PCR. *Jpn J Infect Dis* 2005;58: 358-62.
101. Burt FJ, Leman PA, Abbott JC, Swanepoel R. Serodiagnosis of Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Epidemiol Infect* 1994;113:551-62.
102. Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *J Med Entomol* 1979;15(4): 307-417.
103. Vassilenko SM, Vassilev TL, Bozadjiev LG, Bineva IL, Kazarov GZ. Specific intravenous immunoglobulin for Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Lancet* 1990;335(8692): 791-2.
104. Ergonul O. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 203-14.

105. Ministry of Health, Turkey. Reports of the Communicable Diseases Department, Ankara, 2006 (in Turkish). Available at (July 2007) <http://www.kirim-kongo.saglik.gov.tr/G3.doc>.
106. Paragas J, Whitehouse CA, Endy TP, Bray M. A simple assay for determining antiviral activity against Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Antiviral Res* 62 (2004) 21–5.
107. Tonbak S, Aktas M, Altay K, Azkur AK, Kalkan A, Bolat Y, Dumanlı N, Ozdarendeli A. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus: Genetic analysis and tick survey in Turkey. *J. Clin. Microbiol.* Nov.2006,p.4120-4.
108. Parker WB. Metabolism and antiviral activity of ribavirin. *Virus Res* 2005;107(2):165-71.
109. Neyts C. Selective inhibitors of hepatitis C virus replication. *Antiviral Res* 2006; 71: 363-71.
110. Lutchman G, Danehower S, Song BC, Liang TJ, Hoofnagle JH, Thomson M, Ghany MG. Mutation rate of the hepatitis C virus NS5B in patients undergoing treatment with ribavirin monotherapy. *Gastroenterology* 2007;132(5):1756-66.
111. Severson WE, Schmaljohn CS, Javadian A, Jonsson CB. Ribavirin causes error catastrophe during Hantaan virus replication. *J Virol* 2003;77(1):481-8.
112. Sun Y, Chung DH, Chu YK, Jonsson CB, Parker WB. Activity of ribavirin against Hantaan virus correlates with production of ribavirin-5'-triphosphate, not with inhibition of IMP dehydrogenase. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(1):84-8.
113. Graci JD, Cameron CE. Mechanisms of action of ribavirin against distinct viruses. *Rev Med Virol* 2006; 16: 37–48.
114. Huggins JW, Hsiang CM, Cosgriff TM, Guang MY, Smith JI, Ou Wu Z, LeDuc JW, Zheng ZM, Meegan JM, Wang QN, Oland DD, Gui XE, Gibbs PH, Yuan GH, and Zhang TM. Prospective, double-blind, concurrent, placebo-controlled clinical trial of intravenous ribavirin therapy of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome. *J Infect Dis* 1991;164:1119-27.
115. Ferrara EA, Oishi JS, Wannemacher RW, Stephen EL. Plasma disappearance, urine excretion, and tissue distribution of ribavirin in rats and rhesus monkeys. *Antimicrob Agents Chemother* 1981;19(6):1042-9.

116. Jahrling PB, Hesse RA, Eddy GA, Johnson KM, Callis RT, Stephen EL. Lassa virus infection of rhesus monkeys: pathogenesis and treatment with ribavirin. *J Infect Dis* 1980 ;141(5):580-9.