

TÜRKİYE'DE KENE ISIRIĞI ÖYKÜLÜ OLGULARDA TICK- BORNE ENCEPHALITIS VİRÜSÜNÜN SEROPREVALANSI

Seroprevalence of Tick-Borne Encephalitis Virus (TBEV) Among Cases with Tick Bite History in Turkey

Yavuz UYAR¹, Alper AKÇALI¹, Ahmet ÇARHAN¹, Etem ÖZKAYA¹, Mustafa ERTEK²

¹Refik Saydam Hıfzıssıhha
Merkezi Başkanlığı,
Salgın Hastalıklar Araş. Müd.,
Viroloji Tanı ve Araş. Lab.,
ANKARA

²Refik Saydam Hıfzıssıhha
Merkezi Başkanlığı,
ANKARA

İletişim:

Yavuz UYAR

Refik Saydam Hıfzıssıhha
Merkezi Başkanlığı
Salgın Hastalıklar Araş. Müd.,
Viroloji Referans ve Araş.
Lab., C Blok,
06100 Sıhhiye/ANKARA
Tel: 0312 458 24 52
Faks: 0312 458 23 88
E-posta:
yavuz.uyar@rshh.gov.tr

ÖZET

Amaç: Tick-borne encephalitis (TBE), santral sinir sisteminin bir viral enfeksiyöz hastalığıdır. Flaviviridea ailesinden Tick-borne encephalitis virüsü (TBEV) tarafından oluşturulmaktadır. TBE tablosu, sıklıkla *Ixodes ricinus* türü kenenin ısırmasıyla oluşmaktadır. TBE vakaları genellikle kene aktivitesinin yüksek olduğu dönemlerde oluşmaktadır. Bu seroepidemiolojik çalışma ile ülkemizde TBE görülme sıklığının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya, 2006 yılı içinde kene ısırma öyküsü olan vakaların RSHM Viroloji Laboratuvarı'na gönderilmiş serum örnekleri dahil edilmiştir. Serumlar çalışma gününe kadar -80 °C'de saklanmıştır. 278 kişiye ait serum örneğinde anti-TBEV IgG antikorları ELISA metodu ile araştırılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya alınanların 145 (% 52.2)'i erkek 133 (% 47.8)'ü kadındır. Örneklerin 133 (% 47.8)'ü İç Anadolu; 122 (%43.9)'si Karadeniz; 8 (%2.9)'i Marmara; 6 (%2.2)'si Doğu Anadolu; 6 (%2.2)'si Ege ve 3 (%1.0)'ü Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nden gelmiştir. TBE IgG antikorları 4 (% 1.4) vakada pozitif bulunmuştur. Bu olguların biri hariç hepsi İç Anadolu Bölgesi'ndendir.

Sonuç: Kene popülasyonu bakımından zengin olan ve bu popülasyonda *Ixodes ricinus* türü de bulunan ülkemizde TBE konusunda klinisyenlerimizin dikkatli olması ve bu konuda daha geniş seroepidemiolojik çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Anahtar sözcükler: Tick-borne encephalitis, TBEV, seroprevalans, kene

ABSTRACT

Objective: Tick-borne encephalitis (TBE) is a viral infection of central nervous system. The causative agent is Tick-borne encephalitis virus (TBEV) within Flaviviridea family. The clinical symptoms often start after biting of *Ixodes ricinus* ticks. The TBE cases generally occur when the tick activities increase. This seroepidemiological study aimed to investigate the TBE in Turkey.

Method: The serum samples of tick bite cases sent to Refik Saydam Hygiene Centre, Virology Laboratory in 2006 included in this study. The sera kept at -80 °C till testing. Anti-TBEV IgG and IgM antibodies were investigated using ELISA in two hundred seventy eight (278) serum samples.

Results: Of the tested samples, 52.2 % and 47.8 % were from male and female cases, respectively. The regional distribution of these samples are 133 (47.8%) from Central Anatolia, 122 (43.9 %) from Black Sea, 8 (2.9 %) from Marmara; 6 (2.2 %) from East Anatolia, 6 (2.2 %) from Aegean and 3 (1.0 %) from Southeastern. Anti-TBE IgG was found positive in 4 (1.4%) samples. The positives for anti-TBE IgG, except one, was from Central Anatolia.

Conclusion: Turkey is a rich country for different population of ticks including *Ixodes ricinus*. Thus, clinicians should take consideration about TBE and broad seroepidemiological investigations should be carried out.

Key words: Tick-borne encephalitis, TBEV, seroprevalence, tick

GİRİŞ

Tick-borne ensefaliti (TBE), santral sinir sisteminin viral bir enfeksiyonudur. Çoğunlukla kırsal alan veya ormanlık bölgelerde yaşayanlarda, çalışanlarda ve seyahat sonrasında kene ısırmasından kaynaklanır. Virüs antijenik olarak farklı olan yaklaşık yetmiş virüs içeren Flaviviridae ailesi içindedir (1). TBE orta ve doğu Avrupa, Rusya ve uzak Doğuda endemiktir (2).

Moskito kaynaklı Deng humması ve Japon ensefalitine benzer olarak, TBE virüsü (TBEV) her yıl binlerce ağır nörolojik hastalığa yol açan bir patojendir (3). TBE'nin klinik seyri tipik olarak bifaziktir. Sıklıkla 7 ile 14 günlük bir inkübasyon periyodunu takiben, prodromal semptomları (karakteristik olmayan influenza benzeri hastalıkla beraber ateş, baş ağrısı, yorgunluk, myalji) santral sinir sistemi (SSS) tutulumu takip eder. Ateşsiz bir haftalık arayı takiben ikinci safha gelişir (4). İkinci safha kısa bir remisyon ardından oluşur ve ateşin tekrarı ve menenjit belirtileri ile seyredir. En önemli ensefalit belirtileri sıklıkla iyileşmeden sonra aylarca devam eden ekstrapiramidal ve serebellar semptomlardır. İncelenmiş olan bazı salgınlarda mortalite %1-5 arasında değişmektedir (5).

Ixodes ricinus kenelerinin yoğun aktiviteleri özellikle orman ve tarımsal alanlarda kene kaynaklı hastalıkların risklerini arttırmaktadır. Enfeksiyonlar, kene ısırmasına mesleksi olarak sık maruz kalan orman işçileri, çiftçiler, gezginler, mantar ve böğürtlen toplayıcıları gibi kişilerde sık görülmektedir (6,7).

Son yıllarda ülkemizde kene ısırmasına bağlı vakalarda artışa paralel olarak kene kaynaklı enfeksiyonların önemi artmaktadır. Bu çalışma ile, kene ısırma öyküsü olan vakalardan alınan serum örneklerinde anti-TBEV IgG seropozitifliği araştırılarak, TBE'nin Türkiye'de varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Viroloji Laboratuvarına 2006 yılı içinde kene ısırığı öyküsü olan vakalardan

alınarak gönderilmiş serum örnekleri (n:278) dahil edilmiştir. Serumlar test edilinceye kadar -80 °C'de saklanmıştır.

Serum örneklerinde TBEV IgG antikorunu, Anti-TBE Virus IgG (Enzygnost, Dade Behring, Marburg-Almanya) ticari kiti kullanılarak ELISA yöntemi ile araştırılmıştır. Test üreticinin önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Referans N/N standardının optik dansite (O.D.) değerine 0.200 eklenerek cut-off değeri hesaplanmıştır. Bu değer 0.100 üzerinde O.D. değeri okunmuş olan örnekler "pozitif" olarak kabul edilmiştir. Cut-off ile "cutt-off +0.100" arası örnekler "ara değer", cutt-off'dan düşük değerler "negatif" olarak değerlendirilmiştir. Pozitif saptanan IgG antikorlarının titresi üreticinin önerdiği şekilde (alfa) metodu ile hesaplanmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 278 olgunun; 145 (%52,2)'i erkek, 133 (%47,8)'ü kadındı. Örnekler Türkiye'nin 6 bölgesinden toplam 20 ilden gönderilmiş; 133 (%47,8)'ü İç Anadolu; 122 (%43,9)'sı Karadeniz; 8 (%2,9)'i Marmara; 6 (%2,2)'sı Doğu Anadolu; 6 (%2,2)'sı Ege ve 3 (%1,0)'ü Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nden olmak üzere 278 serum örneğinde anti-TBE IgG antikorunu araştırılmıştır (Tablo 1).

Dört (%1,4) olguda TBEV IgG antikorunu pozitif bulunmuş olup, IgG antikor titreleri 13, 44, 282, 138 U/ml olarak saptanmıştır. Pozitif bulunan olguların üçünün kadın, birinin erkek olduğu belirlenmiştir.

TARTIŞMA

TBE, santral sinir sisteminin viral enfeksiyöz bir hastalığı olup, Flaviviridae ailesinden TBEV tarafından oluşturulmaktadır. Hastalık, sıklıkla menenjit, ensefalit veya meningoensefalit şeklinde görülür. İnsanlarda TBE tablosu, genellikle *Ixodes ricinus* türü enfekte kenelerin ısırmasıyla oluşmaktadır (3,5). Casati ve ark (8) İsviçre'de nested RT-PCR ve sekans yöntemleri kullanılarak *Ixodes ricinus* türü kenelerde TBEV varlığını göstermişlerdir.

Hastalık, Avrupa (Orta, Doğu ve Kuzey) ile Japonya, Çin ve Kore gibi Uzakdoğu ve Asya gibi ılıman iklimli ülkelerde görülmektedir (3, 4, 7, 9-11). Avrupa ve Rusya'da her yıl 10.000-12.000 kişiye TBE tanısı konulmaktadır. Avrupa'da mortalite oranı % 0.5 olup, etkilenen hastaların % 40'ından daha fazlasında post-ensefalitik sendrom gözükmemektedir. Bu hastalarda sıklıkla da hayat kalitesinin bozulduğu gözlemlenmiştir. TBE için spesifik bir tedavi şekli yoktur. Enfeksiyondan korunmak için iki adet aşı bulunmaktadır. Bu aşuların iyi bir koruma ve etkisi bulunmasına rağmen, uzun dönem bağışıklığı ile ilgili fazla bilgi mevcut değildir (12).

TBE tanısı, epidemiyolojik veriler (TBE için riskli bir bölgenin araştırılması), klinik belirti ve bulgular (hastalığın ve nörolojik semptomların bifazik özellik göstermesi) ve TBE-spesifik antikorların gösterilmesi ile konulmaktadır (4).

Schuhmacher ve ark (9) Fransa'nın Lorraine bölgesinde, tümünde kene ısırığı öyküsü olmayan TBE kliniği ve antikor yanıtı ile gelen 1.777 olguda ELISA ile TBEV antikorlarını araştırmışlardır. Yazarlar, 1.777 olgunun yaklaşık yarısının kırsal bölgeden, %91'inin ormanlık alan ile sürekli veya aralıklı olarak temas halinde ve %21'inin kene ısırma öyküsü olduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda 19 (%1.6) olguda TBEV IgG antikorunu pozitif saptamışlar ve bu

olguların sadece dokuzu Western Blot ile konfirme edilmiştir. TBEV IgG pozitif olguların tamamında TBEV IgM antikorunu negatif buldukları çalışmalarının sonucunda pozitif saptadıkları olguların hiçbirisinde akut enfeksiyon ile yakın dönemli maruziyet olmadığını belirtmişlerdir.

Bir başka çalışmada, Korenberg ve ark (10) TBE'nin klinik hastalık hali için yüksek oranda enfeksiyöz keneler (yüksek titreli virüs taşıyan kene) ve kenelerin sıklığının risk oluşturduğunu bulmuşlardır. Schuhmacher ve ark (9) da benzer şekilde kene ısırığı öyküsü olan olgularda seroprevalansın daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Bir başka prevalans çalışmasında düşük prevalans oranı bulunmuştur. Haglund ve ark (11)'nin Stockholm (İsveç)'de TBE aşısı için başvuran yetişkinlere ait rastgele seçilmiş örneklerde yaptıkları çalışmada İsveç'te TBE endemik olmasına rağmen, TBEV IgG oranı %2-4 arasında saptanmıştır.

Norveç'te Agder bölgesinde yapılan TBE seroprevalans çalışmalarında TBEV IgG oranı %0.3-0.4 bulunmuştur. TBEV IgG antikor oranı, Tromoy Adası'nda %2.4 bulunurken, diğer sahil bölgelerinde ise %0-11 arasında saptanmıştır (13,14).

Polonya'da yapılan bir çalışmada artan kene

Tablo.1. Bölgelere göre örneklerin dağılımı ve TBEV seroprevalansı.

Bölgeler	Örneklerin Bölgelere Göre Dağılımı n (%)	TBEV Seropozitifliği %*
İç Anadolu Bölgesi	133 (47.8)	1.1
Karadeniz Bölgesi	122 (43.9)	-
Marmara Bölgesi	8 (2.9)	0.3
Doğu Anadolu Bölgesi	6 (2.2)	-
Ege Bölgesi	6 (2.2)	-
Güneydoğu Anadolu Bölgesi	3 (1.0)	-
Toplam	278 (100.0)	1.4

* : Çalışma popülasyonundaki (n: 278) yüzde oranını göstermektedir.

aktivitesinin tarım çalışanlarında pozitif reaksiyonları arttırdığı gözlenirken orman işçilerinde böyle bir ilişki tespit edilmemiştir. Çalışmalarının sonucunda özellikle tarım işçilerinde TBEV enfeksiyon oranının tahmini için kene aktivitesinin bilinmesinin faydalı olabileceğini bildirmişlerdir (7).

Ülkemizde TBEV seroprevalansı ile ilgili ilk çalışma Serter tarafından 1980 yılında yayınlanmıştır. Çalışmada Türkiye'nin batısından toplanan insan serum örneklerinde %1.4 HI testi ile ve %1.2 nötralizasyon ile antikolar tespit edilmiştir. TBEV'nün Ege bölgesinde sporadik olarak bulunduğunu yorumlamışlardır (15). Ergunay ve ark.(16)'nın 2007 yılında yayınladıkları çalışmada ise ELISA ile Güneydoğu Anadolu Bölgesinde'deki sağlık kuruluşlarından toplanan 181 serum örneğinden 19 (%10,5)'unda TBEV IgG antikoları tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise daha çok İç Anadolu Bölgesi ve Karadeniz Bölgesi'nden toplanmış 278 serum örneğinden 4 (%1,4)'ünde ELISA ile IgG antikoları saptanmıştır.

Çalışmamızda örneklerin %1.4'ünde TBE'nin IgG antikoları gösterilmiştir. Flavivirüslerle ELISA testlerinde çapraz reaksiyon gözönünde tutularak pozitif örneklerin nötralizasyonla doğrulanması önerilmektedir (5,17).

Avrupa'da yıllara göre vaka sayısında artış ve coğrafik olarak genişleyen yayılım gösteren (18), artropod kaynaklı TBE enfeksiyonunun ülkemiz açısından değerlendirilmesi gereklidir. *Ixodes ricinus* türü kenelerin ülkemiz ekolojisinde var olduğu göz önünde bulundurulacak olursa kene ısırma öyküsü olan ve santal sinir sistemi enfeksiyonu tablosu olan olgularda, özellikle de etken açıklanamadığı zaman TBEV enfeksiyonu da akılda tutulmalıdır.

Sonuç olarak, kene popülasyonunda *Ixodes ricinus* türü de bulunan ülkemizde TBE konusunda klinisyenlerimizin dikkatli olması ve bu konuda daha geniş seroepidemiolojik çalışmalar yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR:

- 1.Porterfield JS. Antigenic characteristic and classification of Togaviridae. In: RW Schelesinger (ed.), The togaviruses: biology, structure, replication. Academic Press, Inc., New York, N.Y., 1980; pp. 13-46.
- 2.Dumpis U, Crook D, Oksi J. Tick-borne encephalitis. Clin Infect Dis 1999; 28: 882-890.
- 3.Takashima I, Morita K, Chiba M, Hayasaka D, Sato T, Takezawa C, Igarashi A, Kariwa H, Yoshimatsu K, Arikawa J, Hashimoto N. A case of tick-borne encephalitis in Japan and isolation of the virus. *J Clin Microbiol* 1997; 35(8): 1943-1947.
- 4.Kaiser R. The clinical and epidemiological profile of tick-borne encephalitis in Southern Germany 1994-1998 - A prospective study of 656 patients. *Brain* 1999; 122: 2067-2078.
- 5.Schoub BD, Blackburn NK. Flavivirus. (In: Principles and Practice of Clinical Virology, Eds. Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR, Griffiths PD, Schoub BD). John Wiley and Sons, Ltd., West Sussex, England, Fifth Edition, 2004;pp.531-555.
- 6.Prokopowicz D, Bobrowska E, Bobrowski M, Grzeszczuk D: Prevalence of antibodies against tick-borne encephalitis among residents of north-eastern Poland. *Scand J Infect Dis* 1995; 27: 15-16.
- 7.Ewa Cisak, Jolanta Chmielewska- et al.. Preliminary studies on the relationship between *ixodes ricinus* activity and tick-borne infection among occupationally-exposed inhabitants of Eastern Poland. *Ann Agric Environ Med* 2001; 8: 293-295.
8. Casati S, Gern L, Piffaretti J-C. Diversity of the population of Tick-borne encephalitis virus infecting *Ixodes ricinus* ticks in an endemic area of central Switzerland (Canton Bern). *J General Virology* 2006; 87: 223-224.
- 9.Schuhmacher H, Hoen B, Baty V, Henny J, Le Faou A, Canton P. Seroprevalence of Central European tick-borne encephalitis in the Lorraine region. *Presse Medicals* 1999; 28(5): 221-224.
- 10.Korenberg EI, Gorban LY, Kovalevskii YV, Frizen VI, Karavanov AS. Risk for human tick-borne encephalitis, borreliosis, and double infection in the Pre-Ural region of Russia. *Emerging Infectious Diseases* 2001; 7(3): 459-462.
- 11.Haglund, M. TBE in Sweden- a review. International Scientific Working Group on TBE (2000 report).
- 12.Günther G, Haglund M, Lindquist L, et al. Intrathecal IgM, IgA and IgG antibody response in tickborne encephalitis. Long-term follow-up related to clinical course and outcome. *Clin Diagn Virol* 1997; 8:17-29.
- 13.Skarpaas T, Sundoy A, Vene S, Pedersen J, Eng PG, Csángó

- PA. Tick-borne encephalitis in Norway. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2002; 122:30-2.
14. Skarpaas T, Csángó PA, Pedersen J. Tick-borne encephalitis in coastal areas of the Agder Counties. MSIS report. Oslo: The National Institute of Public Health; 2001.
15. Sertter D. Present status of arbovirus sero-epidemiology in the Aegean region of Turkey. In: Vesenjak-Hirjan, J, Calisher, C eds. *Arboviruses in the Mediterranean Countries*, Suppl. 9. Stuttgart Gustav Fischer Verlag; 1980: 155-161.
16. Ergunay K, Ozer N, Us D, Ozkul A, Simsek F, Kaynas S, Ustacelebi S. Seroprevalence of West Nile virus and tick-borne encephalitis virus in southeastern Turkey: first evidence for tick-borne encephalitis virus infections. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2007; 7(2):157-61.
17. Gunther G, Haglund M. Tick-Borne Encephalopathies: Epidemiology, Diagnosis, Treatment and Prevention. *CNS Drugs* 2005; 19(12):1009-1032.
18. Granstrom, M. Human "tick-borne diseases" in Europe. *The Infectious Disease Review-microbes, animals and the environment* 2000; 2(2): 88-90.