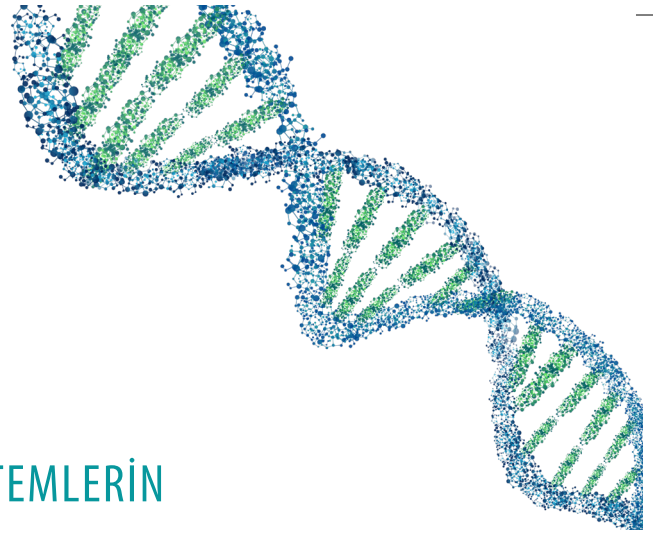


BÖLÜM 38

VEKTÖR KAYNAKLI VİRÜSLERİN TANI VE EPİDEMİYOLOJİSİNDE MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN KULLANIMI



Ömür Mustafa PARKAN¹

Vektör kaynaklı virüsler veya başka bir deyişle artropodlarla bulaşan (arthropod-borne) arbovirüsler, duyarlı omurgalı konaklara kan emen eklem bacaklılar ile bulaşır. Bu virüslerin yayılımında en sık sivrisinekler, keneler ve tatarcıklar rol oynar. Arbovirüsler farklı taksonomik gruplar içerisinde sınıflandırılmaktadır ve birçoğu RNA yapısında genomu sahiptir^{1,2}. Bu bölümde moleküler yöntemlerin, klinik önemi olan vektör kaynaklı virüslerin tanı ve epidemiyolojisindeki yeri özetlenmiştir.

Sivrisinekler ile Bulaşan Virüsler

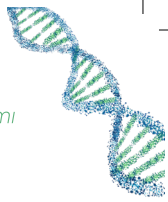
Batı Nil Virüsü

Batı Nil virüsü (West Nile virus), *Flaviviridae* ailesinin *Flavivirus* genusunda yer almaktadır³. Zarflı, pozitif polariteli tek iplikli bir RNA virüsüdür⁴. Batı Nil virüsü esas olarak *Culex* cinsi sivrisinekleri enfekte eder ve bu sivrisinekler aracılığıyla insanlara ve diğer omurgalı canlılara bulaşır^{3,5}. Batı Nil virüsü yüksek genetik çeşitlilik gösterir⁶. Virüsün beş farklı filogenetik soyu tanımlanmıştır⁴. Soy 1 ve 2 esas olarak dolaşımda olan ve insanlarda hasta-

lığa neden olan soylardır⁶. Soy 1 suşları coğrafi olarak geniş bir alana yayılmıştır ve merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonu salgınları ile ilişkilidir^{4,7}. Soy 2, esas olarak Afrika'da bulunmakla birlikte Avrupa'da da ortaya çıkmış ve Batı Nil virüsü salgınlarına yol açmıştır^{4,5}. Diğer Batı Nil virüsü soyları ile ilgili veriler henüz sınırlıdır⁴. Soy 1'e ait diziler, Anadolu'da sivrisineklerde ve insan/hayvan kaynaklı çeşitli klinik örneklerde saptanmaktadır. Viral genomda yer alan E ve NS5 bölgelerine ait dizilerin filogenetik analizine göre mevcut dizilerin neredeyse tamamı 1a kladı içerisinde yer almaktadır¹.

Akut Batı Nil virüsü enfeksiyonlarının tanısında semptomatik hastalardan alınan klinik örneklerde viral RNA araştırılabilir. Ancak Batı Nil virüsü enfeksiyonunda düşük seviyeli ve kısa süreli (yaklaşık yedi gün) viremi söz konusudur^{3,7}. Dolayısıyla serum, plazma veya beyin omurilik sıvısı (BOS) gibi örneklerde revers transkripsiyon PCR [Reverse transcription PCR (RT-PCR)] ile viral RNA araştırılmasının rutin tanıdaki yeri sınırlıdır^{3,8}. Batı Nil virüsünün böbreklerde tutulduğu ve bu sebepten

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji AD., omurparkan@hotmail.com



olarak bulunan ve klinik açıdan önemli olan phlebovirüslerin başında Tatarcık Ateşi Sicilya virüsü [Sandfly fever Sicilian virus (SFSV)] ve Tatarcık Ateşi Napoli virüsü [Sandfly fever Naples virus (SFNV)] gelmektedir ². Ülkemizde bu virüslerden SFSV'nin varlığı RT-PCR ile viremik hastalarda gösterilmiştir ⁵⁵. Ayrıca SFSV'nin bir varyantı olan Tatarcık Ateşi Türkiye virüsü [Sandfly fever Turkey virus (SFTV)] yaptığı salgın esnasında elde edilen dizilerin filogenetik analizi sonucunda tanımlanmıştır ⁵⁶. Sahada toplanan tatarcıkların jenerik veya spesifik phlebovirüs nükleik asit testleri ile taranması sonucu SFTV'nin olası vektörü *Phlebotomus major* sensu lato olarak belirlenmiştir ¹.

Sonuç

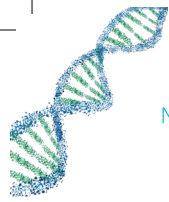
Vektörler ile bulaşan virüslerin laboratuvar tanısında başta PCR olmak üzere moleküler yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak vireminin kısa süreli olması nedeniyle bu testler, rutin tanıda esas olarak hastalığın erken döneminde fayda sağlamaktadır. Hem ticari hem de "in-house" testler tanı laboratuvarları tarafından tercih edilebilmektedir ve laboratuvarlar arası sonuçların karşılaştırılabilir olması için testlerde standardizasyon gereksinimi vardır. Ayrıca kaynakların sınırlı olduğu bölgelerde, özellikle salgınlar esnasında, izotermal amplifikasyon testleri gibi sahada uygulanabilir yöntemlerin yaygınlaşmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Moleküler yöntemler oldukça yüksek duyarlılığa sahip olsa da viral yükün düşük olması, PCR inhibitörlerinin varlığı veya hedef bölgede mutasyon olması gibi durumlarda yalancı negatiflik görülebilir. Şüpheli klinik örneklerin hücre kültürüne inokülasyonu ile virüsün replikasyonu ve yüksek titrelere ulaşması sağlanabilir ve sonrasında PCR ile yüksek duyarlılıkta tanı sağlanabilir ²⁹. Ancak canlı virüs ile yapılacak laboratuvar çalışmalarında uygun biyogüvenlik seviyesi koşulları dikkate alınmalıdır. Çünkü nadir de olsa aerosoller, bütünlüğü bozulmuş deriye direkt veya indirekt yolla temas veya müköz membranlara sıçrama yoluyla laboratuvar ortamında bulaş mümkündür ⁴.

Tanısal testlerde kullanılan primer ve probalar, dizi analizi yöntemleri ile elde edilen veriler ışığında bağlanma bölgelerinde meydana gelebilecek mutasyonlar açısından değerlendirilebilmekte ve bu sayede testlerin performansı izlenebilmektedir. Ayrıca dizi analizi yöntemleri kullanılarak yapılan filogenetik çalışmalar ile bölgesel olarak dolaşımda olan veya yeni ortaya çıkan virüsler tanımlanabilmektedir. YND yöntemleri ile metagenomik yaklaşımlar sayesinde alışılmadık dışında veya beklenmeyen etkenlerin tespiti mümkün olmaktadır. Bunlara ek olarak moleküler yöntemler ile vektörlerde ve hayvan konaklarda virüslerin varlığının araştırılması, arbovirüsler üzerine yapılan epidemiyolojik çalışmaların ayrılmaz bir parçasını oluşturmaktadır.

Kaynaklar

1. Ergünay K, Polat C, Özkul A. Vector-borne viruses in Turkey: A systematic review and bibliography. *Antiviral Res* 2020;183: 104934.
2. Us AD, Ergünay K. Viral zoonozlar, pp: 393-425. In: Us AD, Ergünay K (eds), *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji*. 2012, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara.
3. Lustig Y, Sofer D, Bucris ED, Mendelson E. Surveillance and Diagnosis of West Nile Virus in the Face of Flavivirus Cross-Reactivity. *Front Microbiol* 2018;9: 2421.
4. Starolis MW, Perez O, Powell EA. Clinical features and laboratory diagnosis of emerging arthropod-transmitted viruses: A Report from the Pan American Society for Clinical Virology Clinical Practice Committee. *J Clin Virol* 2020;132: 104651.
5. Barzon L, Pacenti M, Ulbert S, Palù G. Latest developments and challenges in the diagnosis of human West Nile virus infection. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2015;13(3): 327-342.
6. Mori A, Pomari E, Deiana M, Perandin F, Caldrea S, Formenti F, et al. Molecular techniques for the genomic viral RNA detection of West Nile, Dengue, Zika and Chikungunya arboviruses: a narrative review. *Expert Rev Mol Diagn* 2021;21(6): 591-612.
7. David S, Abraham AM. Epidemiological and clinical aspects on West Nile virus, a globally emerging pathogen. *Infect Dis (Lond)* 2016;48(8): 571-586.
8. Piantadosi A, Kanjilal S. Diagnostic Approach for Arboviral Infections in the United States. *J Clin Microbiol* 2020;58(12): e01926-19.
9. Niedrig M, Patel P, El Wahed AA, Schädler R, Yactayo S. Find the right sample: A study on the versatility of saliva and urine samples for the diagnosis of emerging viruses. *BMC Infect Dis* 2018;18(1): 707.
10. Barzon L, Pacenti M, Sinigaglia A, Berto A, Trevisan M, Palù G. West Nile virus infection in children. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2015;13(11): 1373-1386.
11. Lustig Y, Mannasse B, Koren R, Katz-Likovnik S, Hindiyeh M, Mandelboim, et al. Superiority of West Nile Virus RNA Detection in Whole Blood for Diagnosis of Acute Infection. *J Clin Microbiol* 2016;54(9): 2294-2297.
12. Wilder-Smith A, Ooi EE, Horstick O, Wills B. Dengue. *Lancet* 2019;393(10169): 350-363.
13. Muller DA, Depelsenaire AC, Young PR. Clinical and Laboratory Diagnosis of Dengue Virus Infection. *J Infect Dis* 2017;215(suppl_2): S89-S95.



14. Guzman MG, Harris E. Dengue. *Lancet* 2015;385(9966): 453-465.
15. Harapan H, Michie A, Sasmono RT, Imrie A. Dengue: A Minireview. *Viruses* 2020;12(8): 829.
16. Kabir MA, Zilouchian H, Younas MA, Asghar W. Dengue Detection: Advances in Diagnostic Tools from Conventional Technology to Point of Care. *Biosensors (Basel)* 2021;11(7): 206.
17. Raafat N, Blacksell SD, Maude RJ. A review of dengue diagnostics and implications for surveillance and control. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2019;113(11): 653-660.
18. Santiago GA, Vázquez J, Courtney S, Matias KY, Andersen LE, Colón C, et al. Performance of the Triplex real-time RT-PCR assay for detection of Zika, dengue, and chikungunya viruses. *Nat Commun* 2018;9(1): 1391.
19. Morsy S, Hashan MR, Hieu TH, Mohammed AT, Elawady SS, Ghosh P, et al. The association between dengue viremia kinetics and dengue severity: A systemic review and meta-analysis. *Rev Med Virol* 2020;30(6): 1-10.
20. Peters R, Stevenson M. Zika virus diagnosis: challenges and solutions. *Clin Microbiol Infect* 2019;25(2): 142-146.
21. Karkhah A, Nouri HR, Javanian M, Koppolu V, Masrour-Roudsari J, Kazemi S, et al. Zika virus: epidemiology, clinical aspects, diagnosis, and control of infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2018;37(11): 2035-2043.
22. Jorge FA, Thomazella MV, de Castro Moreira D, Lopes LDG, Teixeira JJV, Bertolini DA. Evolutions and upcoming on Zika virus diagnosis through an outbreak: A systematic review. *Rev Med Virol* 2020;30(3): e2105.
23. Arora HS. A to Z of Zika Virus: A Comprehensive Review for Clinicians. *Glob Pediatr Health* 2020;7: 2333794X20919595.
24. Zhang X, Li G, Chen G, Zhu N, Wu D, Wu Y, et al. Recent progresses and remaining challenges for the detection of Zika virus. *Med Res Rev* 2021;41(4): 2039-2108.
25. Theel ES, Hata DJ. Diagnostic Testing for Zika Virus: a Post-outbreak Update. *J Clin Microbiol* 2018;56(4): e01972-17.
26. Sharma V, Sharma M, Dhull D, Sharma Y, Kaushik S, Kaushik S. Zika virus: an emerging challenge to public health worldwide. *Can J Microbiol* 2020;66(2): 87-98.
27. Baud D, Gubler DJ, Schaub B, Lanteri MC, Musso D. An update on Zika virus infection. *Lancet* 2017;390(10107): 2099-2109.
28. Schaub B, Vouga M, Najjioullah F, Gueneret M, Monthieux A, Harte C, et al. Analysis of blood from Zika virus-infected fetuses: a prospective case series. *Lancet Infect Dis* 2017;17(5): 520-527.
29. Natrajan MS, Rojas A, Waggoner JJ. Beyond Fever and Pain: Diagnostic Methods for Chikungunya Virus. *J Clin Microbiol* 2019;57(6): e00350-19.
30. Mascarenhas M, Garasia S, Berthiaume P, Corrin T, Greig J, Ng V, et al. A scoping review of published literature on chikungunya virus. *PLoS One* 2018;13(11): e0207554.
31. Mello CDS, Cabral-Castro MJ, Faria LCS, Peralta JM, Puccioni-Sohler M. Use of Cerebrospinal Fluid for the Diagnosis of Neuroinvasive Dengue, Zika, and Chikungunya: A 19-year systematic review. *Rev Soc Bras Med Trop* 2021;54: e0891-2020.
32. Manzoor KN, Javed F, Ejaz M, Ali M, Mujaddadi N, Khan AA, et al. The global emergence of Chikungunya infection: An integrated view. *Rev Med Virol* 2022;32(3): e2287.
33. Weaver SC, Lecuit M. Chikungunya virus and the global spread of a mosquito-borne disease. *N Engl J Med* 2015;372(13): 1231-1239.
34. Vairo F, Haider N, Kock R, Ntoumi F, Ippolito G, Zumla A. Chikungunya: Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Features, Management, and Prevention. *Infect Dis Clin North Am* 2019;33(4): 1003-1025.
35. Ward CE, Chapman JI. Chikungunya in Children: A Clinical Review. *Pediatr Emerg Care* 2018;34(7): 510-515.
36. Gruber CEM, Bartolini B, Castilletti C, Mirazimi A, Hewson R, Christova I, et al. Geographical Variability Affects CCHFV Detection by RT-PCR: A Tool for In-Silico Evaluation of Molecular Assays. *Viruses* 2019;11(10): 953.
37. Raabe VN. Diagnostic Testing for Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. *J Clin Microbiol* 2020;58(4): e01580-19.
38. Papa A. Diagnostic approaches for Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Expert Rev Mol Diagn* 2019;19(6): 531-536.
39. Carroll SA, Bird BH, Rollin PE, Nichol ST. Ancient common ancestry of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Mol Phylogenet Evol* 2010;55(3): 1103-1110.
40. Bartolini B, Gruber CE, Koopmans M, Avšič T, Bino S, Christova I, et al. Laboratory management of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infections: perspectives from two European networks. *Euro Surveill* 2019;24(5): 1800093.
41. Basu S, Shetty A. Laboratory Diagnosis of Tropical Infections. *Indian J Crit Care Med* 2021;25(Suppl 2): S122-S126.
42. Weidmann M, Avsic-Zupanc T, Bino S, Bouloy M, Burt F, Chinikar S, et al. Biosafety standards for working with Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Gen Virol* 2016;97(11): 2799-2808.
43. Escadafal C, Olschläger S, Avšič-Zupanc T, Papa A, Vanhomwegen J, Wölfel R, et al. First international external quality assessment of molecular detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *PLoS Negl Trop Dis* 2012;6(6): e1706.
44. Bogovic P, Strle F. Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management. *World J Clin Cases* 2015;3(5): 430-441.
45. Bogovič P, Kastrin A, Lotrič-Furlan S, Ogrinc K, Županc TA, Korva M, et al. Clinical and Laboratory Characteristics and Outcome of Illness Caused by Tick-Borne Encephalitis Virus without Central Nervous System Involvement. *Emerg Infect Dis* 2022;28(2): 291-301.
46. Taba P, Schmutzhard E, Forsberg P, Lutsar I, Ljøstad U, Mygland Å, et al. EAN consensus review on prevention, diagnosis and management of tick-borne encephalitis. *Eur J Neurol* 2017;24(10): 1214-e61.
47. Madison-Antenucci S, Kramer LD, Gebhardt LL, Kauffman E. Emerging Tick-Borne Diseases. *Clin Microbiol Rev* 2020;33(2): e00083-18.
48. Ergunay K, Ayhan N, Charrel RN. Novel and emergent sandfly-borne phleboviruses in Asia Minor: a systematic review. *Rev Med Virol* 2017;27(2): 10.1002/rmv.1898.
49. Ayhan N, Charrel RN. An update on Toscana virus distribution, genetics, medical and diagnostic aspects. *Clin Microbiol Infect* 2020;26(8): 1017-1023.
50. Moriconi M, Rugna G, Calzolari M, Bellini R, Albieri A, Angelini P, et al. Phlebotomine sand fly-borne pathogens in the Mediterranean Basin: Human leishmaniasis and phlebovirus infections. *PLoS Negl Trop Dis* 2017;11(8): e0005660.
51. Cusi MG, Savellini GG. Diagnostic tools for Toscana virus infection. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2011;9(7): 799-805.
52. Depaquit J, Grandadam M, Fouque F, Andry PE, Peyrefitte C. Arthropod-borne viruses transmitted by Phlebotomine sandflies in Europe: a review. *Euro Surveill* 2010;15(10): 19507.
53. Kadanalı A. Toskana Virus Enfeksiyonlarına Genel Bakış. *Mikrobiyol Bul* 2012;46(1): 144-152.
54. Sánchez-Seco MP, Echevarría JM, Hernández L, Estévez D, Navarro-Marí JM, Tenorio A. Detection and identification of Toscana and other phleboviruses by RT-nested-PCR assays with degenerated primers. *J Med Virol* 2003;71(1): 140-149.
55. Guler S, Guler E, Caglayik DY, Kokoglu OF, Ucmak H, Bayraktar F, et al. A sandfly fever virus outbreak in the East Mediterranean region of Turkey. *Int J Infect Dis* 2012;16(4): e244-e246.
56. Carhan A, Uyar Y, Ozkaya E, Ertek M, Dobler G, Dilcher M, et al. Characterization of a sandfly fever Sicilian virus isolated during a sandfly fever epidemic in Turkey. *J Clin Virol* 2010;48(4): 264-269.