



T.C

**BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**BOLU İLİNDE KENE TEMASI OLAN KİŞİLERDE LYME
HASTALIĞININ ARAŞTIRILMASI VE KENELERİN
TİPLENDİRİLMESİ**

Dr. Nebil ARSLAN

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tıpta Uzmanlık Tezi

ŞUBAT 2023

BOLU



T.C

**BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**BOLU İLİNDE KENE TEMASI OLAN KİŞİLERDE LYME
HASTALIĞININ ARAŞTIRILMASI VE KENELERİN
TİPLENDİRİLMESİ**

Dr. Nebil ARSLAN

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tıpta Uzmanlık Tezi

Tez danışmanı

Doç. Dr. Hasan Tahsin GÖZDAŞ

BOLU, ŞUBAT 2023



ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 77 sayısı ile etik izin alınmıştır.

.....
Dr. Nebil ARSLAN

KABUL VE ONAY SAYFASI

Dr. Nebil ARSLAN tarafından hazırlanan “**BOLU İLİNDE KENE TEMASI OLAN KİŞİLERDE LYME HASTALIĞININ ARAŞTIRILMASI VE KENELERİN TİPLENDİRİLMESİ**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji anabilim dalı tıpta uzmanlık tezi olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

.../02/2023

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Doç. Dr. Hasan Tahsin GÖZDAŞ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye

Prof. Dr. Hayrettin AKDENİZ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Müjgan GÜLER
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve asistanlığım boyunca bilgi ve tecrübeleri ile yol gösteren, araştırmamın her aşamasında akademik rehberliği ve önerileriyle beni yönlendiren saygıdeğer danışmanım Doç. Dr. Hasan Tahsin GÖZDAŞ'a,

Eğitimime bulunduğu katkıdan dolayı Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Hayrettin AKDENİZ'e,

Çok değerli bilgi ve deneyimleri ile tıpta uzmanlık eğitimim boyunca bana yol gösteren saygıdeğer hocam emekli Prof. Dr. Fatma SIRMATEL'e,

Biyokimyasal testlerin analiz sürecinde desteğini esirgemeyen Öğr. Gör. Dr. Şeyda KARABÖRK'e,

Kenelerin sınıflandırılmasında bilgi ve desteğini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Kerem YAMAN'a ve tecrübeleri ile yol gösteren emekli Prof. Dr. Zafer KARAER'E,

Beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum mesai arkadaşlarım Dr. Kerem Hasan DİLCAN, Dr. Tuğçe DAMARSOY ve Dr. Aysun MELİKOĞLU'na,

Emeklerinin karşılığını asla ödeyemeyeceğim babam Fevzi ARSLAN, annem Nebile ARSLAN, ablam Özlem ARSLAN ve abim Özgür ARSLAN'a,

Ayrıca her zaman yanımda olan, beni destekleyen sevgili eşim Pelin AKSÜT ARSLAN'a

Yakın arkadaşlarım ve manevi destekçilerim Dr. Utku TURAN, Dr. Emre BOSTANCI'ya

Bilimin ve bilim insanının destekçisi olan Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Destek Birimine sağladıkları maddi destek için sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ETİK KURUL ONAY BELGESİ	iii
ETİK BEYAN	iv
KABUL VE ONAY SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
KISALTMALAR	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. TARİHÇE	3
2.2. KENE TÜRLERİ	3
2.3. ETKEN MİKROORGANİZMA	5
2.4. EPİDEMİYOLOJİ	7
2.5. KLİNİK TABLO	9
2.5.1. Evre 1 (Erken Lokalize Enfeksiyon)	9
2.5.2. Evre 2 (Erken Yaygın Enfeksiyon)	10
2.5.3. Evre 3 (Geç Dönem Enfeksiyon, Kronik Hastalık)	12
2.6. TANI	14
2.6.1. Kültür	14
2.6.2 PCR (Polymerase Chain Reaction-Polimeraz Zincir Reaksiyon)	14
2.6.3. Seroloji	14
2.7. TEDAVİ	16
2.7.1. Erken lokalize enfeksiyon	16
2.7.2. Erken yaygın enfeksiyon	16
2.7.3. Geç enfeksiyon	17
3. MATERYAL VE METOD	19
3.1. ÇALIŞMA GRUPLARININ SEÇİMİ VE ÇALIŞMA TASARIMI	19
3.2. BORRELIA BURGDORFERİ IGM/IGG ELISA KİTİ ÇALIŞMA PRENSİBİ/PROSEDÜRÜ	20

3.3. KENELERİN TOPLANMASI VE İDENTİFİKASYONU	24
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ.....	43
7. KAYNAKLAR.....	44



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. Çalışmaya dahil edilen olguların sayısı, yaş ve cinsiyete göre dağılımları.....	20
Tablo 3. 1. Örnekler, kalibratör ve kontrollerin şematize görünümü	21
Tablo 3. 2. Borrelia IgM antikorlarının kalibratör verileri.....	22
Tablo 3. 3. Borrelia IgG antikorlarının kalibratör verileri.....	23
Tablo 4. 1. Çalışmaya katılan kişilere ait demografik veriler ve bazı klinik özellikler.....	26
Tablo 4. 2. Birinci veya üçüncü ay kontrolleri için hastaneye başvuran hastaların ELISA yöntemi ile bakılan serum örneklerinin antikor dağılımı.....	28
Tablo 4. 3. İlk başvuru anında (kene temasından sonra üçüncü gün) 11 hastaya ait serum örneklerinin IFA ve ELISA yöntemi ile bakılan antikorların dağılımı.....	29
Tablo 4. 4. Kene türlerinin cinsiyet ve boyut dağılımları.....	30
Tablo 5. 1. LB tanısı alan hastanın IFA ve ELISA sonuçları.....	38

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3. 1. Borrelia IgM antikorlarının kalibratör verilerine göre oluşturulan eğri	23
Şekil 3. 2. Borrelia IgG antikorlarının kalibratör verilerine göre oluşturulan eğri.....	23
Şekil 4. 1. Kenenin vücutta baş, gövde, üst ekstremitte ve alt ekstremitte tutulumlarına göre dağılımları	27
Şekil 4. 2. Toplanan kene örneklerinin cins ve tür dağılımları.....	30
Şekil 4. 3. H-21 kodlu katılımcıdan izole edilen ixodes ricinus türü dişi cinsiyete sahip erişkin yaşam döngüsündeki kenenin ventral (sol) ve dorsal (sağ) yüzden fotoğranlanmış görseli....	31
Şekil 4. 4. H-24 kodlu katılımcıdan izole edilen ixodes spp. türü nimf yaşam döngüsündeki kenenin ventral (sol) ve dorsal (sağ) yüzden fotoğranlanmış görseli	31
Şekil 4. 5. H-33 kodlu katılımcıdan izole edilen ixodes acuminatus türü dişi cinsiyet erişkin yaşam döngüsündeki kenenin ventral (sol) ve dorsal (sağ) yüzden fotoğranlanmış görseli....	32
Şekil 4. 6. H-130 kodlu katılımcıdan izole edilen ixodes spp. türü nimf yaşam döngüsündeki kenenin ventral (sol) ve dorsal (sağ) yüzden fotoğranlanmış görseli	32

KISALTMALAR

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AKA: Akrodermatitis Kronika Atrofikans

B. afzelii: Borrelia afzelii

B. burgdorferi s.l.: Borrelia burgdorferi sensu lato

B. burgdorferi: Borrelia burgdorferi

B. garini: Borrelia garini

BBK32: Fibronektin Bağlayan Protein

BOS: Beyin Omurilik Sıvısında

BSK: Barbour-Stoenner-Kelly

CDC: Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention)

Dbp: Dekorin Bağlayan Protein

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EKM: Eritema Kronikum Migrans

ELFA: Enzime Bağlı Floresan Testi (Enzyme-Linked Fluorescent Assay)

ELISA: Enzim Bağlı İmmunosorbent Analizi (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)

FDA: Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration)

H.: Hyalomma

I.: Ixodes

IFA: İmmun Floresan Antikor

KKKA: Kırım Kongo Kanamalı Ateşi

LB: Lyme Borelyoz

LH: Lyme Hastalığı

LNB: Lyme nöroborelyoz

MR: Manyetik Rezonans

MSS: Merkezi Sinir Sistemi

NIH: Ulusal Sağlık Enstitüleri (national institutes of health)

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)

POTS: Postural Ortostatik Taşikardi Sendromu

R. Conori: *Rickettsia conorii*

RA: Romatoid Artrit

VlsE: Variable Surface Antigen

WB: Western Blot



ÖZET

Giriş: Lyme hastalığı *Ixodes* cinsi keneler tarafından taşınan *Borrelia burgdorferi sensu lato* kompleksindeki bakterilerin yol açtığı multisistemik bir hastalıktır. Türkiye’de çeşitli bölgelerden Lyme hastalığına yönelik seroprevalans çalışmaları ve vaka bildirimleri olmasına karşın, geniş epidemiyolojik araştırma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı kene teması sonrası takip edilen olgularda Lyme hastalığı insidansını belirlemek ve izole edilen kenelerin incelenmesi sonucu Bolu ilindeki kene popülasyonunu ortaya çıkarmaktır.

Gereç ve yöntem: Çalışmada kene teması ile Nisan ve Eylül 2020 tarihleri arasında acil servise başvuran olgular, kene temasından sonraki üçüncü günde enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji polikliniğimizde değerlendirilmiştir. Çalışmaya alınan olguların 1. ay, 3. ay ve 10. ayda tekrardan polikliniğimize başvurmaları istenmiştir. Poliklinik takiplerinde olguların anamnezleri alınmış, klinik muayenesi yapılmış, rutin kan tetkikleri istenmiş, Lyme hastalığına yönelik immun floresan antikor (IFA) yöntemi ile antikorlarına bakılmış ve daha sonra enzim bağlı immunosorbent analizi (ELISA) yöntemi ile çalışılmak üzere fazladan bir serum örneği alınarak -20°C derecede çalışma gününe kadar saklanmıştır.

Bulgular: Çalışmaya 123 olgu dahil edilmesine rağmen, 72 olgu 10 aylık takiplerine devam etmiştir. Bu 72 olgunun bir tanesi (% 1,4) hem klinik hem de laboratuvar olarak Lyme Boreliyoza tanısı almıştır. Olguların hiçbirinde eritema kronikum migrans gelişmemiştir. Çalışmamızdaki olguların serum örnekleri IFA ile değerlendirildiğinde hiçbirinde asemptomatik enfeksiyon saptanmamıştır. ELISA yöntemi ile değerlendirildiğinde ise 22 olguda (%30,5) oranında asemptomatik enfeksiyon saptanmıştır. Çalışmamızdaki olgulardan izole edilen 47 kene incelendiğinde 42 (%89,3) tanesi *Ixodes* spp., iki (%4,3) tanesi *Hyalomma* spp. olmak üzere toplamda iki cins belirlenmiştir.

Sonuç: Bolu ilinde ilk kez gerçekleştirilen bu çalışmada kene teması anamnezi ile başvuran olguların en sık *Ixodes* spp., cinsi kenelere maruz kaldığı ve 10 aylık takip sürecinde Lyme Boreliyoza gelişme olasılığının düşük olduğu (% 1,4) sonucuna varılmıştır. Olgu sayısının daha fazla ve takip sürecinin daha uzun olduğu ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: *Borrelia burgdorferi*, kene teması, lyme hastalığı, IFA, ELISA.

ABSTRACT

Introduction: Lyme disease is a multisystemic disease caused by the bacteria in *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex, which is transmitted by ticks of the *Ixodes* genus. Although there are seroprevalence studies and case reports of lyme disease from various regions in Turkey, there is not a widespread epidemiological research. The aim of this study was to determine the incidence of lyme disease in the cases followed-up after tick contact and afterwards to examine the isolated ticks in order to reveal tick population in Bolu province.

Material and method: In the study, cases who applied to the emergency department due to tick contact between April and September 2020 were evaluated in our infectious diseases and clinical microbiology outpatient clinic on the third day after tick contact. Patients included in the study were asked to reapply to our outpatient clinic at the 1st, 3rd, and 10th months. In the outpatient clinic follow-ups, the anamnesis of the cases was taken, clinical examination was made, routine blood tests were requested, antibodies were examined with the immunofluorescent antibody (IFA) method for lyme disease, and then an extra serum sample was taken to be studied with the enzyme-linked immunosorbent analysis (ELISA) method which was stored at -20°C until the study day.

Results: Out of 123 patients included in this study, 72 patients could be followed-up for 10 months. One of these 72 patients (1.4%) was diagnosed with Lyme Borreliosis according to clinical and laboratory features. Erythema chronicum migrans did not occur in any of the cases. The serum samples of the cases were evaluated by IFA, asymptomatic infection was not detected in any of them. Afterwards the serum samples were evaluated by ELISA method. Asymptomatic infection was detected in 22 cases (30.5%). In addition, 47 ticks isolated from the cases in our study were examined and two genus were identified. 42 of them (89.3%) were *Ixodes spp.*, and two of them (4.3%) were *Hyalomma spp.*

Conclusion: In this study, which was carried out for the first time in the province of Bolu, it was concluded that the cases presenting with a history of tick contact were most frequently exposed to *Ixodes spp* ticks and the probability of developing Lyme Borreliosis was low (% 1,4) during the 10 month follow-up period . Further studies with larger number of cases and longer follow-up period are needed.

Keywords: *Borrelia burgdorferi*, tick contact, Lyme disease, IFA, ELISA.

1. GİRİŞ

Vektörlerle bulaşan hastalıklar özellikle kırsal bölgelerde yaşayan popülasyonlarda daha sık görülmektedir. Bu vektörlerden bir tanesi de kenelerdir. Kenelerle bulaşan hastalıklardan bazılarının Kırım Kongo kanamalı ateşi (KKKA), kene kaynaklı ensefalit, Lyme hastalığı (LH), riketsiyal hastalıklar, tularemi ve babezyoz olduğu bilinmektedir (Parola & Raoult, 2001; Turan & Hacımustafaoğlu, 2020). *Borrelia burgdorferi* (*B. burgdorferi*) *Ixodes* (*I.*)cinsi keneler aracılığı ile insanlara bulaşır (Uyanık, Yazgı, & Ayyıldız, 2009). Enfekte bir kenenin ısırmasını takiben, spiroketler hematogen yolla hızla yayılmakta ve birçok organı tutabilmektedir (Wojciechowska-Koszko, Maczynska, Szych, & Giedrys-Kalemba, 2011). *B. burgdorferi* sensu lato (*B. burgdorferi* s.l.) kompleksi içerisinde çeşitli türler bulunmaktadır. Türler göre LH'nın belirtileri değişkenlik gösterebilmektedir (Stanek & Strle, 2018). Genellikle ateş, üşüme, titreme, eritema kronikum migrans (EKM), baş ve vücut ağrıları, yorgunluk ve lenfadenopati gibi klinik belirti ve bulgular görülmektedir (E. D. Shapiro, 2014). Laboratuvar testleri için numune toplama zamanlaması, LH'nın doğru teşhisi için çok önemlidir. Bakteriyemik dönem oldukça kısadır. Ancak mikroorganizmaya karşı gelişen antikor yanıtı yıllarca sürebilmektedir. Bu nedenle LH'nın tanısı genelde serolojik yöntemlerle konulmaktadır (Kenyon & Chan, 2021).

Hastalıkları önleme ve kontrol merkezi (CDC) verilerine göre 2010-2018 yılları arasında Amerika'da her yıl yaklaşık 476.000 kişiye LH teşhisi konulduğu bilinmektedir (Kugeler, Schwartz, Delorey, Mead, & Hinckley, 2021). Türkiye'de LH ilk kez 1990 yılında bildirilmiştir (Çakır, Akandere, Hekim, & Kovancı, 1990; Köksal, Saltoğlu, Bingül, & Öztürk, 1990). Sonrasında artan sayıda olgu bildirimleri ile birlikte farklı bölgelerde seroepidemiolojik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların seropozitifliği % 2-44 aralığında değişiklik gösterdiği ve halen gerçek prevalansın bilinmediği bildirilmektedir (Hatipoglu & Turhan, 2016). Sinop yöresinde 184 kişinin serumları ile yapılan bir çalışmada *B. burgdorferi* ve *Rickettsia conorii* (*R. conorii*)'ye karşı enzim bağlı immunosorbent analizi (ELISA) ile IgG bakılmış olup katılımcıların % 36,4'ünde *B. burgdorferi* ve % 45,1'inde *R. conorii*'ye karşı antikor pozitifliği saptanmıştır ve yine aynı çalışmada kene ısırması sonrası temas bölgesinde kızarıklık ve şişlik öyküsü olan 42 kişinin % 47,6'sında, bu semptomları olmayan 76 kişinin ise % 28,9'unda *B. burgdorferi*'ye karşı antikor yanıtı tespit edilmiştir. (Güneş, 2019). Isparta ilinde çiftçilikle uğraşan kişilerde yapılan seroprevelans çalışmasında 365 kan örneğinde ELISA ile IgG ve IgM bakılmış olup, IgG antikor % 3,28 oranında pozitif saptanmış olup bu örneklerin hiçbirinde

IgM antikor pozitifliği saptanmamıştır (Rad & Hekimler, 2007). Bolu’da tabakalı örnekleme ile yapılan bir çalışmada 196 kişinin kan örneğinde ELISA ile IgG ve IgM pozitifliği sırası ile % 14,8 ve % 13,7 olarak tespit edilmiştir (Bucak, Koçoğlu, Taş, & Mengeloğlu, 2016). Ancak Bolu’da **‘kene tutunması sonrası’** Lyme borelyoz (LB) gelişme sıklığı bilinmemektedir.

Bu nedenle bu araştırmada aşağıdaki hedefler gözetilmiştir:

1. Kene tutunması sonucu hastaneye başvuran olguların değerlendirilmesi ve hastaların getirdikleri kenelerin stereomikroskop ile morfolojik tür tayininin yapılması, bölgemizde insanlara tutunan keneler hakkında bilgi edinilmesi ve kene türleri ile LH semptomları arasındaki korelasyonun belirlenmesi,
2. Kene tutunması sonrasında gelişecek klinik bulguların gözlemlenerek izlenmesi,
3. Kene tutunması sonrası olguların kanlarında Lyme serolojisinin incelenmesi ve zaman süreci içindeki değişkenliğinin ortaya konulması,
4. Kliniğimizde LH tanısı için rutinde kullanılan immunfloresan antikor (IFA) testinin, tarama ve tanıda daha sensitif ve spesifik olan ELISA ile karşılaştırılması,
5. LH pozitif olguların serolojik değişikliklerinin zaman sürecinde incelenmesi ve klinik ile ilişkisinin değerlendirilmesi,
6. Erken dönemde görülen EKM ile akut LH tedavisinin yapılması, profilaksi açısından değerlendirilmesi,
7. Geç dönemde ortaya çıkacak LH komplikasyonlarını (kardiyak, müsküler, psikolojik, romatolojik, nörolojik, dermatolojik) önlemek için hastaların tanımlanması ve bu komplikasyonların engellenmesi hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Amerika Birleşik Devletleri'nin (ABD) Connecticut eyaletindeki Old Lyme kasabasında 1976 yılında Steere ve ark. (Allen C Steere et al., 1977) tarafından yapılan çalışmada artrit vakası ile gelen bir grup çocukta EKM lezyonları saptanmış olup bu bulgular birbirleri ile ilişkilendirilmiştir. Bu olgulara Lyme artriti adı verilmiş ve 'Lyme' terimi ilk kez burada kullanılmıştır.

LH açısından endemik bölge olan ABD'nin New York eyaletinde bulunan Shalter Island'da Willy Burgdorfer ve ark. (Burgdorfer et al., 1982) tarafından 1981 sonbaharında yapılan bir çalışmada, toplanan 126 *I. dammini* (şimdiki adı *I. scapularis*) kenesi disseke edilmiş ve 77 tanesinin midesinde spiroketler olduğu farkedilmiştir. Mikroorganizmalar giemsa ile boyanmış olup karanlık alan mikroskobu ile incelendiğinde yavaş hareket ettikleri görülmüştür. On tane tavşanın 300 tane *I. Dammini* kenesine maruz bırakıldığı çalışmada, maruziyetten 10-12 hafta sonra bu tavşanların gövdelerinde maküler ve papüler döküntüler saptanmıştır. Bu tavşanların serumu indirekt floresan yöntemi ile incelenmiş ve spiroketlere karşı 1:1280 titrelerde antikor geliştiği saptanmıştır. Kenelere maruz kalmayan tavşanların serumunda ise antikor yanıtı tespit edilmemiştir. Klinik olarak LH teşhisi konmuş olan dokuz hastanın serum örnekleri indirekt immunfloresan yöntemi ile incelenmiştir. 1/80 ile 1/1280 arasında değişen pozitif antikor titreleri elde edilince, *I. dammini* kenelerindeki spiroketlerin LH ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. İlk kez Burgdorfer tarafından izole edildiği için LH'nın etkeni 1984 yılında *B. burgdorferi* olarak adlandırılmıştır (Burgdorfer et al., 1982).

2.2. KENE TÜRLERİ

Keneler ülkemizde halk arasında sakırğa, yavsı ve kerni gibi isimlerle bilinen eklem bacaklılardır (Çiçek, 2009). Hiepe ve Ribbeck (1982) tarafından yapılan ve günümüzde de kabul edilen sınıflandırılmaya göre keneler; *Artropoda* şubesi, *Chelicerata* şubealtı, *Arachnida* sınıfında bulunan canlılardır (Gazyağcı & Aydenizöz, 2010). Dünyada bugüne kadar üç farklı ailede 899 (*Ixodidae*: 713, *Argasidae*: 185, *Nuttalliellidae*: 1) kene türü tanımlanmıştır (Çiçek, 2009). *Argasidae* (yumuşak keneler) ailesinde kitinin oranı daha az, dağılımı ise daha homojendir. *Ixodidae* (sert keneler) ailesinde ise kenelerin vücudunun çeşitli bölgelerinde

kitinizasyonun arttığı ve kalkan (scutum) denilen plakların oluştuğu görülmüştür. (Gazyağcı & Aydenizöz, 2010). Keneler, yumurta dönemleri hariç, diğer gelişme dönemlerinde zorunlu olarak konaklarından kan emen dış parazitlerdir. Virüs, bakteri, riketsiya, protozoon ve helmint gibi birçok hastalık etkeninine biyolojik vektörlük ederler (Dumanlı, Altay, & Aydın, 2012).

Bir kenenin yapısı, kapitulum (gnathosoma) ve bacakların bağlı olduğu gövdeden (idiosoma) oluşmaktadır. Larvaların altı bacağı varken, nimflerin ve yetişkinlerin sekiz bacağı vardır. Beslenmemiş yetişkin kenelerin boyları 2 mm ile 20 mm arasında değişmektedir. Kanla beslenmiş dişiler 25 ila 30 mm uzunluğunda olabilir ve tokken ağırlıklarının 100 katına kadar çıkabilir (Estrada-Peña, 2015; Tanır, Özgelen, & Tuygun, 2008). Ağız parçaları kapitulumda bulunur. Palpler (dokunaç), dört eklem ve dört segmentten ibaret olup dördüncü segmentte dokunma duyu kılları taşır. Palpler yaraya girmez; beslenme sırasında cilde yatay olarak bastırılırlar. Sklerotize, iki-segmentli tübüler keliser çifti kapitulum kaidesinden uzanır ve palplerin medialinde yer alır. Keliser şaftların uçlarında son derece hareketli ve keskin iki adet testere diş şeklinde yapı bulunur. Testere dişler beslenme sırasında cildi kesmek için kullanılır (Van der Hammen, 1983). Palplerin medialinde hipostom vardır. Hipostomun ventral yüzeyinde geriye dönük dişleri mevcuttur. Hipostom bir tutunma organı ve gıda kanalı olarak kullanılır. Hipostomun boyutu, şekli ve dişlerin düzeni türler arasında farklılık gösterir. Hipostomun ventrali ile keliserin dorsali arasında besin kanalı oluşur ve konakçıdan emilen kan buradan geçer. Dokuları sindiren proteolitik enzimler içeren tükürük, bu kanal aracılığıyla keneden konakçıya doğru hareket eder. Kapitulumun bazal kısmı esnek bir zar ile kene gövdesine bağlıdır (Anderson & Magnarelli, 2008; Sonenshine & Roe, 2013).

Ixodidae ailesindeki kenelerin yaşam döngüsü diğerlerinde olduğu gibi yumurta, larva, nimf ve olgun (erişkin) dönemleri şeklindedir (Jongejan & Uilenberg, 2004). *Ixodidae* ailesindeki kenelerin doyması için birkaç gün ile birkaç hafta arasında süre gerekmektedir. *Ixodidae* türleri, genellikle ilkbahar ve sonbahar mevsimleri arasındaki aylarda aktiftirler (Çiçek, 2009). Dişi keneler, erkek kenelerden daha fazla kan emerler. Dişi ve erkek kene, konak üzerinde kan emerken çiftleşir. Dişi doyduktan sonra konağı terk ederek, yumurtalarını taş, toprak ve merada yaprakların altına bırakır. Dişi *Ixodid*'ler yumurtladıktan sonra, erkekler ise çiftleştikten sonra ölürler (Mullen & Durden, 2009). *Ixodidae* ailesindeki keneler, yaşamlarının önemli bir kısmını konak dışında geçirmektedir. Uygun olmayan koşullarda taşların altında, yarık ve çatlaklarda inaktif bir şekilde bekleyen keneler, uygun şartlar oluştuğunda aktifleşmekte ve tekrar konak aramaya başlamaktadırlar (Çiçek, 2009).

Argasidae ailesindeki dişiler daha az sayıda ve tekrarlı olarak yumurtlar. Sadece larvalar konak üzerinden ayrılmayıp nimf oluncaya kadar konakta kalır. Nimf olduktan sonra kan emmek için konağa geceleri gelir. Gündüz meskende yarık ve çatlaklarda saklanırlar. Kan emme süreleri ve doyma süreleri çok kısadır (Gazyagcı & Aydenizöz, 2010). *Argasidae* kenelerinin yaşam döngülerinde yumurta, larva, nimf ve erişkin dönemleri vardır. Dişi ve erkek, konaktan uzakta çiftleşir ve her çiftleşme sonrası dişi kene 12-70 arası yumurtayı yarık ve çatlaklara bırakır (Tanır et al., 2008). Çiftleşen erkek kene ve yumurtlayan dişi kene ölmez (Gazyagcı & Aydenizöz, 2010).

Kenelerin tür düzeyinde tanımı için en yaygın kullanılan kriter kenenin morfolojisidir. Tür tanımlamalarında son yapılan çalışmalarda yüksek kaliteli ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu kullanılmıştır. Bu sayede daha önce gözden kaçmış olan ek morfolojik ayrıntılar belirlenebilmiştir (Dantas-Torres, 2018). *Ixodidae*'nin taksonomik durumu derinlemesine incelenmiş olup familyaların ve cinslerin sistematik konumu hakkında neredeyse tam bir konsensus vardır. *Ixodidae* ailesinin *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Amblyomma*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Anomalohimalaya*, *Bothriocroton*, *Cosmiomma*, *Margaropus*, *Nosomma* ve *Rhipicentor* cinslerini içerdiği düşünülmektedir. Yaklaşık 190 tür içeren *Argasidae* familyası için durum farklıdır. *Argasidae* için rekabet eden taksonomiler cins düzeyinde çok farklı gruplamalara sahiptir (Durden & Beati, 2013; Estrada-Peña, 2015).

2.3. ETKEN MİKROORGANİZMA

Dünya genelinde *B. burgdorferi sensu lato* kompleksi içinde 11 adet *Borrelia* türü tanımlanmıştır. Kuzey Amerika'da üç tür (*B. burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia andersonii* ve *Borrelia bissettii*), Avrupa'da beş tür (*B. burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia valaisiana* ve *Borrelia lusitaniae*) ve Asya ülkelerinde (örn. Çin, Japonya ve Kore) yedi tür (*Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia valaisiana*, *Borrelia japonica*, *Borrelia tanukii*, *Borrelia turdi* ve *Borrelia sinica*) tanımlanmıştır (Aguero-Rosenfeld, Wang, Schwartz, & Wormser, 2005). Bu kompleks içerisindeki *B. burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garini* (*B. garini*) ve *Borrelia afzelii* (*B. afzelii*) türlerinin insanlarda LH için patojen olduğu düşünülmektedir (Alje P. van Dam, 1993; Guiqing Wang, 1999). Nörolojik ve romatolojik komplikasyonlara yol açan *B. burgdorferi sensu stricto* Kuzey Amerika'da daha sık görülen türdür. Nöroborelyoz ile ilişkili olan *B. garini* ve daha çok cilt bulgularıyla ilişkili olup nadiren nörolojik komplikasyonlara yol açan *B. afzelii* Avrupa'da daha sık görülen türlerdir (O'Connell,

2014). Yakın zamanda *B. burgdorferi s.l.* kompleksi içinde insan patojeni olarak *B. mayonii* adında yeni bir genotür tanımlanmıştır (Pritt et al., 2016).

B. burgdorferi spiroket ailesinden, gram negatif, hareketli, 10-30 mikrometre boyunda, heliks yapıda, mikroaerofil bir bakteridir. Işık mikroskobu altında saptanması zordur. Ancak faz kontrast mikroskobu ve karanlık alan mikroskopunda kolaylıkla görülebilmektedir (Iseri L, 2000).

Sitoplazmayı bir arada tutan protoplazmik bir silindire sahiptir. Protoplazmik silindir yapısını çevreleyen periplazmik alanda, burğu hareketinden sorumlu olan 7-11 adet periplazmik flagella mevcuttur. Dış membran, lipopolisakkaritlerden yoksun, kırılğan, çift katmanlı bir yapıya sahiptir. Dış membranın temel lipid bileşenleri arasında fosfatidilkolin ve fosfatidilgliserol bulunur. İmmünojenik özelliklere sahip olan kolesterol- β -D-galaktopiranosid ve kolesterol-6-Oasil- β -D-galaktopiranosid gibi diğer glikolipidler, dış membranın temel unsurlarıdır. Diğer tipik bakteriler bu glikolipidlerden yoksundur (LaRocca et al., 2010). Dış yüzeyinde bulunan bir dizi lipoprotein bakterinin patogenezeninden sorumlu tutulmaktadır (Aslam, Nisar, Khurshid, & Salamat, 2017).

B. burgdorferi'nin 1,5 megabaz (mb) boyutunda küçük bir genomu vardır (Allen C Steere, 2017). Fakat bilinen tüm bakteriler içinde en karmaşık olan genoma sahiptir (Casjens et al., 2000). Yaklaşık 1 mb'lik lineer bir kromozomu vardır ve referans genlerin çoğu bu kromozom üzerinde bulunur (Fraser et al., 1997). Bu kromozoma ek olarak 21 plazmit (12 lineer ve 9 dairesel) bulunur. Bu sayı, herhangi bir bakterinin bünyesinde tuttuğu en yüksek plazmit sayısıdır (Halperin, 2018).

B. burgdorferi s.l. OspA'dan OspF'ye kadar birçok membran lipoproteinini içermektedir (Parola & Raoult, 2001). Diğer antijenik yüzey proteinleri arasında variable surface antigen (VlsE), fibronektin bağlayan protein (BBK32), dekorin bağlayan protein (DbpA ve DbpB) yer almaktadır (Bhate & Schwartz, 2011). Mikroorganizmanın çeşitli ortamlara uyum sağlaması için farklı dış yüzey antijenlerini eksprese ettiği iyi bilinmektedir. Beslenmemiş kenelerin orta bağırsaklarında bulunan spiroketler OspA antijenini eksprese ederken, OspC antijenini eksprese etmezler (Fikrig, Feng, Aversa, Schoen, & Flavell, 1998). Kene için besin olan kan, kenenin orta bağırsağında bulunan bakterinin bağırsak epitelinden ayrılması, hemolenf içine girmesi ve tükürük bezlerine göç etmesi için bir uyarıcıdır. Bunun sonucunda OspC, DbpA, DbpB ve P66 gibi yüzey proteinlerinin ekspresyonunda artış, OspA ve OspB proteinlerinin ekspresyonunda ise azalma olmaktadır (Stanek & Strle, 2018).

2.4. EPİDEMİYOLOJİ

Vektör kaynaklı hastalıklar, dünya çapında toplum sağlığı için büyük bir tehdit oluşturmaktadır. İnsanların vektör kaynaklı başlıca küresel hastalıkları arasında sıtma, deng ateşi, lenfatik filaryaz, şistozomiyaz, chikungunya ateşi, onkoserkoz, chagas hastalığı, layşmanyazis, zika virüsü hastalığı, sarı humma ve Japon ensefaliti yer almaktadır. Afrika uyku hastalığı, LH, kene kaynaklı ensefalit ve Batı Nil ateşi gibi diğer vektör kaynaklı hastalıklar, belirli alanlarda veya popülasyonlarda yerel öneme sahiptir. Başlıca vektör kaynaklı hastalıklar, küresel bulaşıcı hastalık yükünün yaklaşık % 17'sini oluşturmakta ve her yıl 700.000'den fazla can almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ye göre her yıl 532.125 Lyme vakası rapor edilmektedir (Organization & UNICEF, 2017).

CDC verilerine göre 2010-2018 yılları arasında Amerika'da her yıl yaklaşık 476.000 kişiye LH teşhisi konulduğu bilinmektedir (Kugeler et al., 2021). Bu vakalar daha çok Kuzeydoğu, Orta Atlantik ve Yukarı Orta Batı bölgelerinde, ayrıca Pasifik Kıyısının belirli bölgelerinde görülmektedir (Schwartz, Hinckley, Mead, Hook, & Kugeler, 2017).

Batı Avrupa ülkelerini kapsayan 17 ülkenin veri tabanları incelenerek insidans tahmini yapılan bir çalışmada, Lyme için rapor edilen en yüksek insidans 464/100.000 oranı ile Güney İsveç'te ve en düşük insidans ise 0.001/100.000 oranı ile İtalya'da rapor edilmiştir. Batı Avrupa bölgesi genelini kapsayan veriler ışığında ağırlıklandırılmamış ortalamaya göre, yıllık insidansın 56.3 / 100.000 olduğu saptanmıştır ve toplam nüfusa dayandırılarak hesaplandığında bu oranın bir yılda 232.125 vakaya eşit olduğu tahmin edilmektedir (2011 yılında Batı Avrupa'da toplam nüfus 412.2 milyon) (Sykes & Makiello, 2016).

Güney İskandinavya'da, orta ve doğu Avrupa'nın bazı bölgelerinde yüksek insidans ile yılda 200.000'den fazla Lyme vakası olabilir (O'Connell, 2014).

Kuzey Avrupa ülkesinde toplumda % 20 seropozitiflik vardır ve her yıl Mayıs-Kasım aylarında 200.000'e yakın LH olgusu saptanmaktadır (Haugeberg, Hansen, Skarpaas, Noraas, & Kjelland, 2014; Perronne, 2014).

Ülkemizde LH hakkında yeterli klinik veri bulunmamaktadır. Çoğu yayın olgular şeklindedir. Türkiye'de ilk *Borrelia* izolasyonu, Trakya'nın Karadeniz'e bakan bölgesindeki ormanlık alanlarda *I. ricinus* türü kenelerden yapılmıştır. Bu çalışmada *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. lusitania* ve *B. valaisiana* türleri tespit edilmiştir (Güner et al., 2003).

Türkiyede 2010 yılında üç LH olgusunda ilk defa kültürde üretilenmiştir. Polat ve ark. (Polat et al., 2010) tarafından yapılan bu çalışmada leptospiroz ko-enfeksiyonlu hasta, fasiyal paralizi bulunan nörolojik tutulumlu hasta ve Kuzey Amerika kıtasına seyahat öyküsü olan hasta olmak üzere üç olgu bildirilmiştir. Türkiye’de olgu şeklinde ilk raporlar 1990 yılında Trabzon’da Köksal ve ark. (Köksal et al., 1990) ile İzmir’de Çakır ve ark. (Çakır et al., 1990) tarafından bildirilmiştir. Çorlu’da kene teması şikayeti olan 120 vakanın 12 ay boyunca takibi yapılmış olup, vakalar ELISA ile tetkik edilmiştir. IgM antikorları 27 örnekte (% 22,5), IgG antikorları 6 örnekte (% 5) pozitif bulunmuştur (Doğan, 2019). Bolu ili genelinde ELISA ile yapılan seroprevalans çalışmasında Lyme pozitifliği sırasıyla % 14,8 IgM ve % 13,7 IgG olarak bildirilmiştir (Bucak et al., 2016). Düzce ilinde 349 orman işçisi ve çiftçiden alınan kan örnekleri ile yapılan çalışmada, ELISA ile *B. burgdorferi* seroprevalansının % 10,9 (n=38) olduğu tespit edilmiştir (Kaya, Parlak, Ozturk, & Behcet, 2008). Ankara ilinde yaşayan sağlıklı bireyleri ve bazı hasta gruplarını içeren 154 kişide yapılan bir çalışmada ELISA ile çalışılan kanlarda *B. burgdorferi* pozitifliği % 7,8 olarak belirlenmiştir (Birengel, Boşca, Kurt, & Tekeli, 1999).

Bolu ilinde akut enflamatuvar demiyelinizan polinöropati olarak da bilinen Guillain-Barré sendromu tanısı bulunan, BOS örneklemesinde ELISA ve Western Blot (WB) yöntemi ile LB IgG antikorları pozitif saptanan iki olgu bildirilmiştir (AYDIN TÜRKOĞLU et al., 2016). Yine Bolu ilinde bir olgu erken lokalize enfeksiyon, beş olgu erken yaygın enfeksiyon ve diğer bir olgu da geç yaygın enfeksiyon evresinde olan 7 olgu raporlanmıştır (Sırmatel, Polat, & Türkoğlu, 2015). Zonguldak ilinde romatoid artrit (RA) tanısı alan ve daha sonra LH olduğu anlaşılan olgular rapor edilmiştir (Borazan, Koçak, Koçak, Arslan, & Üstündağ, 2005).

Sivas ilinde yapılan bir çalışmada 10.303 kene toplanmış olup bunların hiçbirinin *B.burgdorferi* ’nin vektörü olan *Ixodes* cinsine ait olmadığı saptanmıştır. Yine aynı çalışmada kırsal alanda yaşayan ve hayvancılıkla uğraşan 270 kişi ile kontrol grubu olarak kentsel alanda yaşayan 135 kişinin serum örnekleri alınmış olup serolojik olarak negatif bulunmuştur. Hem *Ixodes* cinsi kenelerin bulunmaması hem de seropozitif bireylerin tespit edilmemesi sonucunda bu çalışma ile Sivas ilinde LH’nın endemik olmadığı gösterilmiştir (Güneş, Poyraz, Kaya, Genç, & Alim, 2005).

2.5. KLİNİK TABLO

Lyme borelyoz, *B. burgdorferi sensu lato* kompleksi içinde yer alan belirli enfeksiyöz mikroorganizmaların neden olduğu bir hastalığı ifade eder. “Lyme hastalığı” terimi ise daha önceki zamanlarda, bilinen bir nedeni olmayan bir hastalığı tanımlamıştır. Günümüzdeki kullanımında da enfeksiyöz bir mikroorganizmanın mutlaka var olduğu anlamına gelmemektedir. Bu nedenle spesifik bir terim olan “Lyme borelyoz” tanımının kullanılması arzu edilmektedir (Stanek & Strle, 2018).

LB deri, santral sinir sistemi, eklem, kalp gibi birçok organ tutulumunun olduğu multisistemik bir hastalıktır. Avrupa'da hastalığın klinik belirtilerinin sıklığına ilişkin bilgiler çok sınırlıdır. En karakteristik bulgular deride görülmektedir ve deri en sık tutulan organdır (Strle & Stanek, 2009).

LB, *B. burgdorferi s.l.* kompleksi içerisindeki spiroketlerden kaynaklanmaktadır. Bu spiroketler *I. ricinus* kompleksindeki keneler ile bulaşmaktadır. Enfeksiyon genellikle EKM olarak adlandırılan karakteristik cilt lezyonu (evre 1, erken lokalize enfeksiyon) ile başlar. Günler veya haftalar sonra spiroketler birçok farklı bölgeye yayılabilir (evre 2, erken yaygın enfeksiyon). Erken yaygın enfeksiyonun olası belirti ve bulguları arasında halka şeklindeki sekonder deri lezyonları, menenjit, kraniyal nörit, radikülönörit, periferik nörit, kardit, atriyoventriküler nodal blok veya gezici kas-iskelet ağrısı bulunur. Aylar ya da yıllar sonra (genellikle latent enfeksiyon döneminden sonra), intermitan ya da persistan artrit, kronik ensefalopati ya da polinöropati veya akrodermatit gelişebilir (evre 3, geç dönem enfeksiyon, kronik hastalık). Hastalığın erken lokalize enfeksiyon evresindeki semptomların çoğu hastada yaz aylarında ortaya çıkmaktadır. Bazı hastalarda ise evre 2 veya 3'e ilerleyene kadar semptomatik hale gelmeyebilir (O'Connell, 2014; Allen C Steere, 2017).

2.5.1. Evre 1 (Erken Lokalize Enfeksiyon)

LB 'nin En sık klinik prezentasyonu EM'dir (Berglund et al., 1995). EKM, *B. burgdorferi*'nin vücuda girdiği yerde ortalama 3-32 günde ortaya çıkmaktadır. İlk olarak kırmızı bir makül veya papül olarak belirlemektedir. Yavaş yavaş genişleyerek halka şeklindeki lezyon halini almaktadır. Düz, yuvarlak veya oval şekilli olabilmekte ve palpasyon ile endurasyon verebilmektedir. Lezyonun merkezinin rengi soluktur. Daha az sıklıkla soluk bir halka tarafından çevrelenen koyu kırmızı bir merkez ve ardından kırmızımsı bir dış halka “bull's eye”

denilen boğa gözü şeklinde lezyon oluşabilmektedir. Atipik lezyonlarda veziküler veya nekrotik alanlar olabilmektedir. (E. D. Shapiro, 2014). Lezyon iyileşmeden önce mavi renge döndüğü durumlar da vardır. Uyluk, kasık ve koltuk altı en sık tutulan bölgelerdir. Lezyon sıcaktır, ama genelde ağrılı değildir. Hastaların yaklaşık % 20'sinde bu karakteristik cilt bulgusu görülmemektedir (Allen C Steere, 2017). Vakaların % 2-18'inde EKM multiplerdir (Berglund et al., 1995).

Erken lokalize enfeksiyon evresinde meydana gelen EKM, *B. burgdorferi*'nin kutanöz geçişinden kaynaklanmaktadır, hematojen yayılım ile ilişkili değildir (Gary P Wormser et al., 2005). Tedavi edilmeyen EM, haftalar veya aylar içerisinde kaybolmaktadır (Allen C Steere, Schoen, & Taylor, 1987).

Nimf kenelerinin boyutunun küçük olmasından dolayı, çoğu zaman hastalar önceki kene ısırmasını hatırlamamaktadır. LB tanısı kültür ile doğrulanmış EKM'si olan 231 hastada yapılan bir çalışmada, hastaların yaklaşık yarısı kene ile temasını hatırlamamıştır (Strle et al., 1996).

2.5.2. Evre 2 (Erken Yaygın Enfeksiyon)

B. burgdorferi enfeksiyonunu takiben mikroorganizma deri tutulumu ile sınırlı kalmayabilir. EKM lezyonundan birkaç hafta veya ay sonra *B. burgdorferi* hematojen yolla birçok bölgeye (derinin diğer bölgelerine, sinir sistemine, kalbe ve/veya karaciğere) yayılabilmektedir. Deride, primer EM döküntüsünden daha küçük olan ve daha çabuk kaybolan sekonder EKM lezyonları olabilir (Schoen, 2020). Sekonder EM, multiple eritemli lezyonlarla karakterizedir. Vücudun her yerinde ortaya çıkabilen birkaç adet veya çok sayıda plaktan oluşmaktadır. Lezyonlar çoktur ve boyutları birkaç santimetreden 20 santimetreye kadar değişebilmektedir. Çocuklarda daha sık görülmektedir. Multiple anüler eritemler, erişkinlerde özellikle nörolojik belirtilerden önce ortaya çıkmaktadır (Trevisan, Bonin, & Ruscio, 2020). Hastaların % 15'inde splenomegali veya hepatit vardır (aspartat aminotransferaz <400 IU/l). Hastalarda ayrıca atriyoventriküler (AV) düğüm iletim sistemi anormallikleri ile geçici miyokardit gelişebilmektedir. Erken evre nörolojik hastalıklar kraniyal ve periferik nöropatileri ve menenjitleri içermektedir. Spesifik organ tutulumu ile ilgili semptomlara ek olarak, bu evrede hastalarda sıklıkla ateş, baş ağrısı, artralji ve halsizlik gibi bakteriyemi ile ilişkili semptomlar vardır (Schoen, 2020). Generalize lenfadenopati, splenomegali, hepatit, boğaz ağrısı, prodüktif olmayan öksürük, konjonktivit,

iritis veya testiste şişme gibi belirti ve bulgular daha az sıklıkla görülmektedir. Halsizlik ve uyuşukluk şikayetleri sürekli vardır. Onun dışındaki şikayetler tipik olarak aralıklıdır ve değişkendir. Tedavi edilmeyen hastalarda bile erken enfeksiyon belirtilerinin şiddeti genellikle azalmakta veya birkaç hafta içinde kaybolmaktadır (Allen C Steere, 2017).

LB'li hastaların % 4-10'unda kalp tutulumu gözlenmektedir (Trevisan et al., 2020). En sık görülen kardiyak bulgu birinci derece AV bloktur. Bunların yanında miyokardit, perikardit, postural ortostatik taşikardi sendromu (POTS) ve kalp yetmezliği de görülebilmektedir (Kostić et al., 2017).

Borrelia lenfositoma, *Borrelia* spiroketine bağlı antijenlere yanıt olarak deride ortaya çıkan yalancı B hücreli lenfoma olarak tanımlanmaktadır. Yavaş büyüyen, birkaç santimetre çapa ulaşabilen, endurasyon veren, soliter kırmızı-mavimsi plak şeklinde bir nodüldür. Çocuklarda kulak memesinde, yetişkinlerde ise memenin areola çevresinde yerleşimi daha sıktır. Daha çok *B. afzelii* (daha nadiren de *B. garinii* ile) ile ilişkili olduğundan dolayı Avrupa'da daha sık görülmektedir (Maraspin, Nahtigal Klevišar, Ružić-Sabljić, Lusa, & Strle, 2016).

Nörolojik belirtiler genellikle erken yaygın enfeksiyon evresinde ortaya çıkmaktadır. Tedavisiz kalan EM hastalarında, vakaların % 10-15'inde Lyme nöroborelyoz (LNB) gelişmektedir. LNB prevalansının Amerika'da % 12-14, Avrupada % 16-23 olduğu bilinmektedir. Erkeklerde biraz daha sıktır. Çocuklar ve ergenler ile 50 yaş üstü yetişkinleri daha çok etkilemektedir (Borchers, Keen, Huntley, & Gershwin, 2015).

Avrupa'da erken LNB'nin en sık prezentasyonu, Bannwarth sendromu veya Garin-Bujadoux-Bannwarth sendromu olarak da bilinen subakut, ağrılı meningoradikülitir ve daha çok *B. garinii* ile ilişkilidir. Geceleri kötüleşen keskin ağrı, uyku bozuklukları, baş ağrısı ve yorgunluk şikayetleri, yüz felci, meningeal irritasyon ve beyin omurilik sıvısında (BOS) lenfositöz bulguları eşlik edebilir (Cardenas-de la Garza, la Cruz-Valadez, Ocampo-Candiani, & Welsh, 2019). Bannwarth sendromlu hastaların yaklaşık % 60'ında kraniyal sinir defisitleri ortaya çıkmaktadır. Fasiyal sinir tutulumu, vakaların % 80'inden fazlasında tipik bir periferik fasiyal paraliziye yol açmakta ve vakaların üçte birinde bilateral olmaktadır. Kraniyal sinirlerin herhangi biri etkilenebilmektedir. Ancak olfaktör sinir tutulumu vakası henüz bildirilmemiştir (Rauer et al., 2018). Bannwarth sendromu, eşlik eden menenjit ve omurilik sıvısındaki lenfositöz nedeniyle "lenfositik meningoradikülit" olarak da adlandırılmaktadır (Ryberg, 1984).

Amerikada LNB'nin en sık klinik prezentasyon fasiyal palsidir. Bu hastaların üçte birinde BOS'ta pleositoz görülmektedir. "Bell's palsy" ile karışabilmektedir. Bell's palsy'de tek taraflı tutulum varken, LNB'de bilateral tutulum olmaktadır. Sistemik semptomlar, baş ağrısı ve radiküler ağrının olması, yaz sonu ve sonbaharda ortaya çıkması, kene ısırığı ve/veya EKM öyküsünün olması ile tanıda öncelikle LNB'yi düşündürmelidir (Marques, 2015).

Çocuklarda ve ergenlerde Lyme menenjitisi daha sıktır. Akut veya subakut başlangıçlıdır. Tedavi edilmezse haftalar veya aylarca sürebilmektedir. Baş ağrısı en sık karşılaşılan semptomdur. Ağrı genellikle lokalizedir (en sık frontal veya oksipital yerleşimlidir). Hastaların % 20 ile % 30'unda ancak aşırı fleksiyon ile hafif boyun sertliği oluşur. Semptomlar hafif olabileceğinden dolayı tanı için yüksek bir klinik şüphe gereklidir. BOS incelemesinde lenfositik pleositoz, protein seviyesinde orta derecede artış ve glukoz seviyesinin normal olduğu görülür (Belman, Iyer, Coyle, & Dattwyler, 1993; Sood, 2015).

Diğer nörolojik belirtiler arasında kraniyal nörit, pleksus nöritis ve mononöritis multipleks bulunmaktadır (Koedel, Fingerle, & Pfister, 2015).

2.5.3. Evre 3 (Geç Dönem Enfeksiyon, Kronik Hastalık)

Tedavi edilmediği takdirde, LB, persistan artrit ve/veya nöroborelyoz ile kendini gösteren kronik hastalığa dönüşebilir. Kuzey Amerika ve Avrupa'daki farklı *Borrelia* suşları, farklı klinik prezentasyonlarla ilişkilidir. Avrupa'da, geç enfeksiyon evresinde, akrodermatitis kronika atrofikans (AKA) ve lenfositoma kutis dahil olmak üzere daha çok dermatolojik sendromlarla kendini göstermektedir (Hengge et al., 2003). Kuzey Amerika'da artrit, Avrupa'da nöroborelyoz daha sık görülmektedir (Pachner & Steiner, 2007).

Kuzey Amerika'da, tedavi edilmemiş LH vakalarının yaklaşık % 60 kadarında artrit görülmektedir. Monoartiküler veya oligoartiküler tutulum olabilmektedir. Genellikle diz eklemlerini tutmaktadır. Ayak bileği, dirsek ve el bileği gibi diğer eklemler daha az etkilenmektedir (Daikh, Emerson, Smith, Lucas, & McCarthy, 2013). Lyme artritinin tanısında *B. burgdorferi* antikörlerinin sensitivitesi ve spesifitesi yüksektir. Testin negatif olması Lyme artritini tanıdan uzaklaştırmaktadır (Lindsay, Bernat, & DiBernardo, 2014). Septik artrit ile kıyaslandığında Lyme artritinde enflamatuvar belirteçler daha düşük, ateş daha hafif, enflamasyona bağlı lokal belirtilerin şiddeti daha az ve sinoviyal sıvı hücre sayımında lökosit seviyeleri daha düşüktür (Daikh et al., 2013; Hatchette, Davis, & Johnston, 2014). Sinoviyal

sıvı incelemesinde beyaz hücre sayısı 500 ile 110.000/ μ L (ortalama, 25.000/ μ L) arasında değişebilmektedir. Bu hücrelerin çoğu polimorfonükleer lökositlerdir. Romatoid faktör veya antinükleer antikorlar genellikle negatiftir. Sinovyal sıvının biyopsi ile incelenmesi sonucu fibrin birikintileri, vasküler proliferasyon, mikroanjiyopatik lezyonlar, lenfosit ve plazma hücrelerinin yoğun infiltrasyonu görülebilir (Allen C Steere, 2017).

Geç LNB, erken LNB'den yaklaşık olarak 50 kat daha az sıklıkta görülmektedir. Geç LNB'de kronik progresif ensefalit ya da ensefalomiyelit, miyozit, serebral vaskülit ve kronik polinöropati gibi hastalıklar görülebilmektedir. Kronik progresif ensefalomiyelitte nöropsikiyatrik sendromlarla ilişkili semptomlar, mesane ve rektum ile ilgili rahatsızlıklar ve spastik ataksik yürüyüş görülebilir (Pfister & Rupprecht, 2006). Geç LNB şüphesinde, dissemine demiyelinizan ensefalomiyelit veya nörosifiliz gibi ayırıcı tanıları ekarte edilmelidir. Ek olarak, tanıyı kesinleştirmek için mutlaka bir lomber ponksiyon gereklidir (Summer & Rupprecht, 2019). Geç LNB'nin başka bir klinik tablosu, AKA'nın eşlik ettiği polinöropati'dir. Aksonal dejenerasyon nedeni ile bu hastalarda duyuşal nöropati ön plandadır. Asimetrik bir dağılım göstermektedir. *B. afzelii* ile ilişkili olmasından dolayı ilk olarak Avrupa'da tanımlanmıştır (Cardenas-de la Garza et al., 2019). LB sinir sisteminde hem büyük hem de küçük damar vaskülitine neden olabilir. Vaskülitin en sık klinik prezentasyonu iskemik inmedir. Multiple anevrizmalar, venöz sinüs trombozu ve subaraknoid kanama da bildirilmiştir. Merkezi sinir sistemi (MSS) vaskülitli olan hastalarda, meningovasküler sifilizde görülen patolojik değişikliklere benzer şekilde, leptomeningeal arterlerin intimasında fibroblastik kalınlaşma görülmekte ve bazı durumlarda spiroket kültürü yapılabilmektedir (Russell, Dryden, Pinto, & Lovett, 2018).

Avrupa'da AKA geç enfeksiyon evresinde en sık görülen bulgudur. Esas olarak ekstremitelerin ekstansör yüzlerinde yerleşmektedir. Yavaş ilerleyen bir lezyondur. Yaşlı kadınlarda daha sık görülmektedir. Hastaların % 20'sinde aynı ekstremitede kendiliğinden iyileşmiş olan EKM öyküsü vardır (Mülleger, 2004). AKA, *B. garini* veya *B. burgderferia sensu stricto* enfeksiyonlarından kaynaklanabilse de esas olarak *B. afzelii* ile ilişkilidir (Lipsker & Jaulhac, 2009). Enflamatuvar faz ile başlayıp atrofik faz ile devam etmektedir. Bakteri, AKA'nın ilk ortaya çıkışından 20 yıl sonra izole edilmiştir. AKA lezyonlarından etkilenen bölgelerde periferik nöropati ve eklem tutulumu meydana gelebilmektedir (Allen C Steere et al., 2016).

2.6. TANI

2.6.1. Kültür

EKM dışında, LB'ye ait olabilecek bütün belirti ve bulguların laboratuvar tetkikleri ile doğrulanması gerekmektedir. *Borrelia spp.*'nin izolasyonu tanıda altın standarttır. Barbour-Stoenner-Kelly (BSK) besi yerinde üretilmesi ile *B. burgdorferi*'nin kesin tanısı konulmaktadır. Ancak pahalı olması, özel laboratuvar ortamı ve ekipman gerektirmesi, 2-6 haftaya kadar da sonuçlanmaması nedeni ile bu yöntemin rutin olarak kullanımı sınırlıdır (Borchers et al., 2015). Ayrıca, pozitif kültürler hastalığın yalnızca erken döneminde (AKA istisna), özellikle EKM cilt lezyonlarının biyopsi örneklerinden elde edilmiştir. Daha az sıklıkla plazma ve BOS örneklerinden de elde edilmiştir. Ayrıca negatif kültürler tanıyı ekarte ettirmemektedir (Borchers et al., 2015; Allen C Steere et al., 2016).

2.6.2 PCR (Polymerase Chain Reaction-Polimeraz Zincir Reaksiyon)

Tanıda eklem sıvısında PCR ile *B. burgdorferi*'nin DNA'sının saptanması kültüre göre çok daha üstündür ve LB'de PCR testinin başlıca kullanımı budur. Bununla birlikte antibiyotiklerle spiroketlerin yok edilmesinden sonra, *B. burgdorferi*'nin DNA'sı haftalarca var olmaya devam edebilmektedir. Bu nedenle eklem sıvısı örneklerinde PCR testi, aktif eklem enfeksiyonu için doğru bir test değildir. Aynı zamanda tedavi takibinde de güvenilir bir şekilde kullanılamaz. Nöroborelyozlu hastalardan alınan BOS örneklerinde PCR testinin duyarlılığı eklem sıvısına göre çok daha düşüktür. Kan veya idrar örneklerinde *B. burgdorferi* DNA'sının saptanmasında PCR'nin rolü çok azdır (Allen C Steere, 2017). Sensitivitesi EKM için % 75-80, eklem sıvısı için % 60-85 ve BOS için % 15-30'dur. PCR testinin negatif olması tanıyı ekarte ettirmez (Borchers et al., 2015). LB'nin endemik olduğu bir bölgede kan serum örneğinde *B. burgdorferi s.l.* ELISA ve WB ile IgG antikor pozitif olan bir hastanın sinovyal sıvı örneğinde pozitif bir PCR sonucu, Lyme artriti tanısını güçlü bir şekilde destekler (Aguero-Rosenfeld et al., 2005).

2.6.3. Seroloji

LB'de kullanılan serolojik testler, *B. burgdorferi s.l.* ile reaksiyona giren antikorları saptamaktadır. Klinik olarak LB şüphesi olan hastaların tanısını desteklemektedir. Ancak tek başlarına LB tanısı koydurmazlar. Hasta EM ile erken lokalize evrede başvurduğunda antikorlar

saptanamayabilir. Bu nedenle EM'si olan hastalarda cilt lezyonu karakteristik ise tanı klinik zeminde konur. Bu hastalar semptom başlangıcından 2 ila 4 hafta sonra (iyileşme fazında) tekrar tetkik edilmelidir (Aguero-Rosenfeld et al., 2005).

B. burgdorferi s.l. spiroketlerine karşı oluşan IgM ve IgG antikorları, LB'nin başarılı tedavisinden sonra uzun yıllar kanda saptanabilmektedir. Bu nedenle, kalıcı seropozitiflik tek başına tedavi başarısızlığının bir göstergesi değildir (Aguero-Rosenfeld et al., 2005).

LB'nin geç enfeksiyon evresinde olan hastalarda birinci basamak testlerinde genellikle yüksek konsantrasyonda antikorlar bulunur ve yine ikinci adım WB IgG testlerinde de çok sayıda immünoreaktif bant bulunur. Bu nedenle geç dönem LB olduğundan şüphelenilen hastaların serolojik testlerinde IgG antikorunun negatif olması hastayı tanıdan uzaklaştırır (B Wilske et al., 1993).

Tanı için uygun şekilde doğrulanmamış veya yanlış yorumlanmış laboratuvar testlerinin kullanılması önerilmemektedir. *B. burgdorferi s.l.* idrar antijen testleri, hücre duvarı olmayan *Borrelia* türleri için immunfloresan boyama, eklem sıvısında antikor testleri ve lenfosit transformasyon testleri amaca uygun değildir. Ayrıca bazı laboratuvarlar kan ve idrar gibi uygun olmayan numuneler üzerinde PCR ile *B. burgdorferi s.l.* araştırmakta veya geçerliliği olmayan kriterleri kullanarak WB tetkikini yorumlamaktadır (Russell et al., 2018; Bettina Wilske, Fingerle, & Schulte-Spechtel, 2007).

B. burgdorferi s.l. antikorları için testler, şu anda önerildiği gibi iki aşamalı yaklaşımı içermelidir. Birinci basamak tetkiklerinde pozitif veya şüpheli sonuç alınan hastalarda, özgüllüğü arttırmak için ikinci kademedede WB kullanılmaktadır. Birinci basamak tetkikleri negatif sonuçlanan kişilerde ikinci basamak testin uygulanması özgüllüğü düşürmektedir ve bu yaklaşım önerilmemektedir. Eşzamanlı bir ELISA sonucu olmadan immünoblot testi sonucu pozitif olduğunda sonuçlar yorumlanamaz (Eugene D Shapiro, 2014).

1994 yılında, Devlet ve Bölgesel Halk Sağlığı Laboratuvarı Yöneticileri Derneği, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC), Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH), Devlet Konseyi ve Bölgesel Epidemiyologlar ve Ulusal Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi LB'nin serolojik tanısına ilişkin İkinci Ulusal Konferans'ı düzenlemiştir. Konferans bildirilerinde “standart iki aşamalı test” adı verilen yöntem önerilmiştir. Birincil test olarak ELISA veya IFA kullanımını ve ardından pozitif veya şüpheli sonuçlar için ikincil test olarak WB testini önermiştir. 29 Temmuz 2019'da ise FDA, “modifiye iki aşamalı test” metodolojisini onaylamıştır. Modifiye iki aşamalı testte her iki aşamada da serumlar ELISA yöntemi ile tetkik

edilmektedir. Yani “standart iki aşamalı test” yönteminde ikinci aşamada kullanılan WB tetkiki yerine, “modifiye iki aşamalı test” yönteminde ELISA kullanımını önermiştir. FDA tarafından modifiye yönteminin onaylanmış olması, doğrulama testi olarak ELISA kullanımının, WB ile karşılaştırıldığında ‘büyük ölçüde eşdeğer veya ondan daha üstün olduğunu’ göstermektedir (Mead, Petersen, & Hinckley, 2019)

2.7. TEDAVİ

2.7.1. Erken lokalize enfeksiyon

EKM, antibiyotik tedavisi olmadan da iyileşebilmektedir. Ancak tedavi ile hastalık süresi kısaltmakta ve geç evre hastalığın gelişmesi engellenebilmektedir. Erken evredeki hastaların çoğu antibiyotik tedavisi ile iyileşmektedir (Robert A Kalish et al., 2001). Yetişkinlerde EKM varlığında, doksisiklin 100 mg tablet 10-21 gün boyunca günde iki kez veya amoksisilin 250-500 mg tablet 10-21 gün boyunca günde üç kez önerilmektedir. Doksisiklin veya amoksisilin ile tedavi edilemeyen hastalar için sefuroksim aksetil bir alternatiftir (Schoen, 2020). Bazı suşlar makrolid antibiyotiklere direnç geliştirmiştir. Makrolidlerin amoksisilinlere göre etkinliği daha düşüktür. Birinci kuşak sefalosporinler, kinolonlar ve rifampisinler etkisizdir (Stanek, Wormser, Gray, & Strle, 2012).

2.7.2. Erken yaygın enfeksiyon

Çoğu uzman, izole fasiyal sinir felci gibi hafif nörolojik bulguları olan hastaları, erken lokalize enfeksiyon evresindeki tedaviye benzer şekilde oral doksisiklin veya amoksisilin veya sefuroksim aksetil ile tedavi etmektedir. Doksisiklin, amoksisilinden daha iyi BOS penetrasyonuna sahiptir. Ancak doksisiklin erken LNB tedavisinde amoksisilinden üstün değildir (Strle, Stupica, Bogovič, Visintainer, & Wormser, 2018). Bununla birlikte, Lyme menenjitisi olan hastalar sıklıkla hastaneye yatırılmakta ve 14 gün boyunca 2 gram intravenöz seftriakson ile tedavi edilmektedir (Allen C Steere et al., 2016). Hiçbir çalışmada seftriakson tedavisinin optimal süresi değerlendirilmemiş olsa da, uzun dönemde nörolojik sekel riski nedeni ile bazı klinisyenler tedavi süresini 28 güne kadar uzatmaktadır (Oksi et al., 2007). Avrupa'da erken LNB'si olan 102 yetişkin üzerinde yapılan prospektif, çift kör bir çalışmada, oral doksisiklinin seftriakson kadar etkili olduğu bulunmuştur. Uzun vadeli sonuçların

(nörolojik sekeller, yaşam kalitesi, yorgunluk, bilişsel aktivite) her iki tedaviden sonra da benzer olduğu görülmüştür (Ljøstad et al., 2008).

Lyme karditi kendiliğinden iyileşebilse de, antibiyotik tedavisi hastalık süresini kısaltmakta ve başka komplikasyonları önlemektedir. Hafif derecede kalp tutulumu (birinci derece AV blok olması ve PR aralığının 300 ms'den az olması) varlığında oral doksisisiklin 100 mg günde iki kez 14-21 gün önerilmektedir. Daha ileri derece kalp tutulumlarında intravenöz seftriakson 2 gram günde bir kez 10-14 gün (28 güne kadar da uzatılabilir) süre ile önerilmektedir (Gary P. Wormser et al., 2006; Yeung & Baranchuk, 2019).

2.7.3. Geç enfeksiyon

Lyme artriti tanılı hastalar için oral doksisisiklin 100 mg tablet tedavisinin günde iki kez 28 gün boyunca kullanılması önerilmektedir. İlk oral antibiyotik küründen sonra kısmi yanıt alınan (tedavi sonrası hafif eklem şişliği bulunan) hastalarda ikinci bir antibiyotik tedavisi başlanması önerilmemektedir. Orta derecede eklem şişliği devam eden hastalarda intravenöz tedaviden önce ikinci bir oral antibiyotik başlanabilir. Başlangıçtaki oral antibiyotik tedavisine yanıtı olmayan hastalarda (eklem sıvısında minimal azalma olması ve şiddetli eklem şişliği) ikinci bir oral kür yerine 2-4 haftalık intravenöz seftriakson önerilmektedir (Bush & Vazquez-Pertejo, 2018; Lantos et al., 2021). *B. burgdorferi*'nin belirgin eradikasyonundan sonra sinovyal inflamasyonu aylar hatta yıllar boyunca devam eden Lyme artriti az sayıda hasta, sinovektomiden sonra düzelmiştir (Allen C Steere et al., 1994).

Geç LNB tanılı hastalar için intravenöz seftriakson (2 gram günde bir kez), intravenöz sefotaksim (2 gram günde 3 kez), intravenöz penisilin G (5 milyon IU günde 4 kez) veya oral doksisisiklinin (200 mg tablet günde birkez) 14-28 gün süre ile kullanılması önerilmektedir. En sık tercih edilen seftriaksondur. (Marques, 2015; Rauer et al., 2018). Özellikle geç LNB olan hastalarda antibiyotik tedavisine yanıt yavaş olabilir. Semptomlar devam ederse veya yeni semptomlar ortaya çıkarsa BOS incelemesi tekrarlanmalıdır. BOS'ta lenfosittik pleositoz devam ediyorsa başka bir antibiyotik tedavisi düşünülmelidir. *B. burgdorferi*'ye karşı spesifik antikolar, BOS'ta aylar hatta yıllar boyunca kalabilir. Bu nedenle tedavi yanıtını değerlendirmek için kullanılmaları uygun değildir. Aynı durum serum antikoları için de geçerlidir. Semptomların azalması ve BOS incelemesinde inflamasyon bulgularının olmaması tedaviye yanıtın göstergesidir (Koedel et al., 2015).

LB'li gebe kadınların tedavisi, gebe olmayan kadınların tedavisiyle hemen hemen aynıdır; ancak hem fetüs hem de anne üzerine potansiyel olumsuz etkileri nedeniyle doksisisiklinden kaçınılmalıdır. Konjenital LB sendromunu güvenilir bir şekilde destekleyen hiçbir veri yoktur (Stanek et al., 2012).



3. MATERİYAL VE METOD

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARININ SEÇİMİ VE ÇALIŞMA TASARIMI

Bu tez çalışması için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar ve Etik Kurulu'ndan 22/02/2022 tarihli 2022/40 karar ve 77 sayılı onay numarası ile izin alınmıştır. Çalışmamıza Nisan ve Eylül 2020 tarihleri arasında kene tutunması ile acile başvuran bireyler dahil edilmiştir. Bu tez çalışması Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından 2022.08.26.1570 proje numarası ile desteklenmiştir.

Hastanemizin acil servisine kene teması/ısırmaları ile başvuran olguların KKKA takibi açısından bakılması gereken parametreler için kan örnekleri alınmıştır. Keneler, hekim kontrolünde vücuttan uzaklaştırıldıktan sonra içlerinde herhangi bir kimyasal, sıvı jel vs. bulunmayan tek kullanımlık örnek tüplere konularak çalışma zamanı gelinceye kadar -20°C'de saklanmıştır. Olguların, kene teması/ısırmalarından sonraki üçüncü günde hastanemiz enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji polikliniğine kontrol amaçlı olarak yeniden başvuru yapmaları istenilmiştir. Kontrol için 3. gün polikliniğe gelen bireylerden rutin kan tetkikleri istenmiş ve daha önceden hazırlanan bilgilendirilmiş onam formu doldurulmuştur. Klinik ve laboratuvar kontrolleri için olguların 1. ay, 3. ay ve 10. ay polikliniğe tekrar gelmeleri istenilmiştir. Yapılan bu takiplerde olguların anamnezleri alınmış ve rutin kan tetkiklerinin yanı sıra Lyme borelyoz hastalığına yönelik serolojik tetkikleri de hastanemizin anlaşmalı olduğu dış laboratuvarlardan istenilmiştir. Dış laboratuvarlarda IFA yöntemi ile *Borrelia* IgM ve *Borrelia* IgG antikorları çalışılmıştır. Ayrıca daha sonra ELISA kitleri ile çalışılmak üzere fazladan alınan serum örnekleri eppendorf tüpleri içerisinde -20 santigrat derecede saklanmıştır.

Tez çalışmamıza Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Servisine kene teması/ısırmaları ile başvuran ardından Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğine Lyme düşündürülen belirti ve/veya bulgularla gelen ve Bilgilendirilmiş Olur Formu ile onamı alınan olgular olmak üzere toplam 123 birey dahil edilmiştir. Hastaların takiplerinde anamnez ve klinik bulgularına ilişkin önceden hazırlanmış olan forma göre olgulara belli sorular sorulmuştur. Bunlara ek olarak da daha önce kene ile temas öyküsü, eşlik eden hastalıklar, tarım ve hayvancılık, kene temasının olduğu yer ile ilgili sorular sorularak verilen cevaplar kaydedilmiştir. Çalışmamıza dahil edilen olguların 73'ü (%59,3) kadın, 50'si (%40,7) erkekti. Erkeklerin yaş ortalamaları 42,4, kadınların yaş ortalamaları ise 38,8 idi. Çalışmaya dahil edilen olgu sayısı, yaş ve cinsiyete ait demografik bilgiler Tablo 3.1'de verilmiştir. İlk başvuru

esnasında olgulardan alınan kan örneğinden sonra herhangi bir zaman diliminde kene teması/ısırmasının tekrarlanması ve/veya antibiyotik, kortikosteroid gibi ilaç kullanımının olduğu olgular çalışma dışında bırakılmıştır.

Tablo 3. 4. Çalışmaya dahil edilen olguların sayısı, yaş ve cinsiyete göre dağılımları

		n (sayı)	% (yüzde)
Cinsiyet	Erkek	50	40,7
	Kadın	73	59,3
Toplam		123	
Yaş	(0-14)	19	15,5
	(14-29)	19	15,5
	(30-44)	32	26
	(45-59)	29	23,5
	(≥60)	24	19,5
Toplam		123	

3.2. BORRELIA BURGDORFERİ IGM/IGG ELISA KİTİ ÇALIŞMA PRENSİBİ/PROSEDÜRÜ

Polikliniğimize başvuran olgulardan alınan kan örnekleri 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri elde edilmiştir. Serum örnekleri çalışma zamanı gelinceye dek -20°C’de saklanmıştır.

Borrelia IgM ve IgG antikorlarının (Euroimmun, Lubeck, Germany) tespiti için;

- Öncelikle kitler ve çalışma zamanına kadar -20°C’de saklanmış olgulara ait serum örnekleri oda sıcaklığına getirildi.
- Antijen kaplı mikropiakların üzerine pipetlemeden önce serum örnekleri firma önerileri doğrultusunda 1/101 (10 µl serum + 1000 µl örnek dilüsyon çözeltisi) oranında tek kullanımlık dilüsyon tüpleri kullanılarak dilue edildi.
- Serum dilüsyonu için Borrelia IgG (mavi renkli) ve IgM (yeşil renkli) kitleri içerisinde farklı renklerde bulunan örnek dilüsyon çözeltileri kullanıldı.
- Serumda total IgG miktarının fazla olması nedeniyle Borrelia IgM testi için serum örnekleri IgG’leri uzaklaştırma özelliğine sahip örnek dilüsyonu ile dilüe edildi.

- Dilüsyon sonrası örneklerin çözelti ile homojen karışabilmesi için tüm dilüsyon tüpleri vortekslendi.
- Dilüsyon ve vorteks işlemi tamamlandıktan sonra Borrelia IgG ve IgM kuyucuklarına serum örnekleri 100'er µl sırasıyla pipetlendi.
- Toplam 84 serum örneği pipetlendikten sonra kit içerisinde bulunan ve kullanıma hazır kalibratörler, pozitif ve negatif Kontroller hem IgG hem de IgM için her bir kalibratör ve kontrol için 2'şerli olacak şekilde yine 100 µl olarak pipetlendi. Mikroplaklara örnek, kalibratör ve kontrollerin pipetlenme şekli ve sırası Tablo 3.2'de özetlenmiştir.

Tablo 3. 5. Örnekler, kalibratör ve kontrollerin şematize görünümü

Olgu1	Olgu9	Olgu17	Olgu25	Olgu33	Olgu41	Olgu49	Olgu57	Olgu65	Olgu73	Olgu81	Kal3
Olgu2	Olgu10	Olgu18	Olgu26	Olgu34	Olgu42	Olgu50	Olgu58	Olgu66	Olgu74	Olgu82	Kal3
Olgu3	Olgu11	Olgu19	Olgu27	Olgu35	Olgu43	Olgu51	Olgu59	Olgu67	Olgu75	Olgu83	PK
Olgu4	Olgu12	Olgu20	Olgu28	Olgu36	Olgu44	Olgu52	Olgu60	Olgu68	Olgu76	Olgu84	PK
Olgu5	Olgu13	Olgu21	Olgu29	Olgu37	Olgu45	Olgu53	Olgu61	Olgu69	Olgu77	Kal1	NK
Olgu6	Olgu14	Olgu22	Olgu30	Olgu38	Olgu46	Olgu54	Olgu62	Olgu70	Olgu78	Kal1	NK
Olgu7	Olgu15	Olgu23	Olgu31	Olgu39	Olgu47	Olgu55	Olgu63	Olgu71	Olgu79	Kal2	Blank
Olgu8	Olgu16	Olgu24	Olgu32	Olgu40	Olgu48	Olgu56	Olgu64	Olgu72	Olgu80	Kal2	Blank

Dipnot: Borrelia IgG ve IgM için iki ayrı mikroplakta aynı sıra takip edildi. Kal: Kalibratör, PK: pozitif kontrol, NK: negatif kontrol

- Tüm örnek ve kontrollerin kuyucuklara pipetlenmesinin ardından antijen-antikor birleşmesinin sağlanabilmesi için mikroplaklar üzerleri seal bant ile kapatılarak antijen-antikor birleşmesinin sağlanabilmesi için 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
- Inkübasyon süresi beklenirken kit içerisinde bulunan 10X konsantre yıkama solüsyonu firma önerileri doğrultusunda distile su ile dilüe edilerek mikroplakların yıkama işlemi için hazırlandı.
- İlk inkübasyon süresi tamamlandıktan sonra istenmeyen antijen-antikor bağlanmalarının ve artefaktların giderilmesi için otomatik pipet yardımı ile 3 x 300 µl tüm kuyucuklara yıkama solüsyonu pipetlenerek manuel yıkama yapıldı.
- Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra tüm kuyucuklara 100 µl enzim konjugat (peroksidaz- işaretli anti-insan IgG ve IgM) eklenerek mikroplaklar yine oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Konjugat inkübasyonu sonrası ilk antijen-antikor inkübasyon başmağında olduğu gibi manuel yıkama işlemi tekrar edildi.

- Yıkama tamamlandıktan sonra tüm kuyucuklara 100 µl kromojen/substrat solüsyonu pipetlendi ve mikrolaklar bir dolap içerisinde direk ışıktan korunacak şekilde 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- İnkübasyon biter bitmez kuyucuklara 100 µl durdurucu/stop solüsyon eklendi ve solüsyon eklendikten sonra yarım saat içerisinde mikrolaklar 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Epoch BioTek Instruments, Inc. Highland Park, USA) okutuldu.

Semikantitatif sonuçlar için firmanın önerileri doğrultusunda IgM ve IgG antikorları için aynı formül uygulandı.

$$\frac{\text{hasta serum örneklerinin optik dansiteleri}}{\text{kalibratör 2 değeri}} = \text{oran (rasyo)}$$

Elde edilen oran aşağıdaki şekilde yorumlandı.

Oran <0,8: negatif

Oran ≥0,8 ile <1,1: sınırda

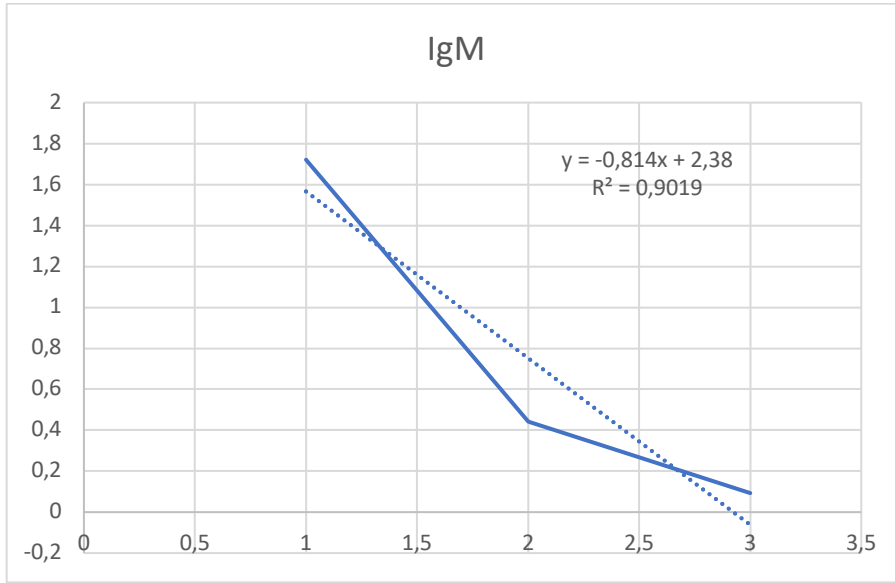
Oran ≥1.1: pozitif

Kantitatif sonuçlar elde etmek için firmanın önerileri doğrultusunda kalibratör 1, kalibratör 2 ve kalibratör 3'ün her iki kuyucuktaki verileri ve bunların kendi aralarındaki ortalama değerleri kullanılarak grafik üzerinde bir eğilim çizgisi oluşturuldu. “R²” değerini “1” değerine en çok yakınlaştıracak değerler seçildi. Bu eğilim çizgisi üzerinde IgM (Tablo 3.3. ve Şekil 3.1.) ve IgG (Tablo 3.4. ve Şekil 3.2.) kantitatif değerlerini hesaplamak için bir denklem türetildi.

Tablo 3. 6. Borrelia IgM antikorlarının kalibratör verileri

	Borrelia ru/ml	IgM	1. Kuyucuk	2. Kuyucuk	Ortalama
Kalibratör 1	200	1,721	2,063		1,892
Kalibratör 2	20	0,49	0,394		0,442
Kalibratör 3	2	0,093	0,137		0,115

*Koyu punto olan veriler grafik için kullanıldı.

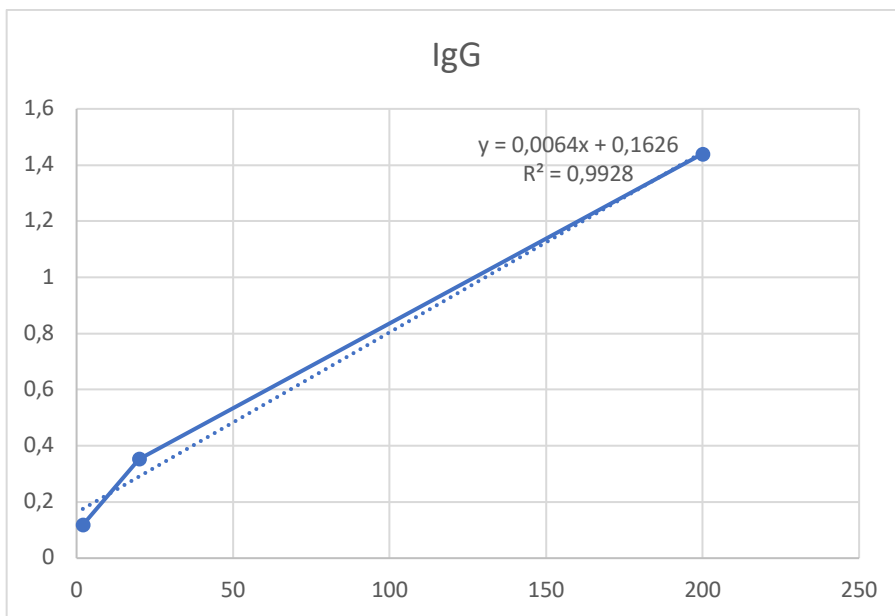


Şekil 3. 1. Borrelia IgM antikorlarının kalibratör verilerine göre oluşturulan eğri

Tablo 3. 7. Borrelia IgG antikorlarının kalibratör verileri

	Borrelia ru/ml	IgG	1. Kuyucuk	2. Kuyucuk	Ortalama
Kalibratör 1	200	1,533	1,347		1,44
Kalibratör 2	20	0,375	0,332		0,3535
Kalibratör 3	2	0,11	0,127		0,1185

*Koyu punto olan veriler grafik için kullanıldı.



Şekil 3. 2. Borrelia IgG antikorlarının kalibratör verilerine göre oluşturulan eğri

Grafik üzerinde de görüldüğü üzere IgM için $y = -0,814x + 2,38$ ve IgG için $y = 0,0064x + 0,1626$, denklemleri ortaya çıkmıştır. Grafik üzerindeki denklemde “y” bilinmeyeninin yerine hasta serum örneklerinin optik dansite değerleri yerleştirilmiş ve “x” bilinmeyeni elde edilerek hastaların kantitatif verilerine ulaşılmıştır.

3.3. KENELERİN TOPLANMASI VE İDENTİFİKASYONU

Ülkemizde kene teması/sokması şikâyeti ile hastalar acil servise başvurduğundan olguların ilk müdahaleleri buralarda yapılmıştır. Kene, deriye tutunduğu yerin üzerinden (ağız organelinin üstü) bir klemp yardımı ile kısırılmış ve sıkıştırılmadan hafif çekme-oyunatma uygulanarak tutunduğu noktadan çıkartılmıştır. Kene temas yeri antiseptik solüsyon ile silinmiştir. Çıkartılan keneler kuru tüplere alınarak uygun koşullarda saklanmıştır. Tür ve cins identifikasyonu için, çalışmamızda araştırmacı olarak yer alan üniversitemiz Tıbbi Parazitoloji A.D.’nda görevli Dr. Öğr. Üyesi Kerem YAMAN tarafından “zeiss” marka “stemi 2000-C” model stereomikroskop altında incelenerek morfolojik özelliklerine göre ayrımları yapılmıştır.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tez çalışmasına dahil edilen olguların demografik verileri sayı ve yüzdelik dağılım ile gösterilmiştir. Borrelia IgG ve IgM antikorlarını tespit etmek için kullanılan ELISA test mikropiplaklarının spektrofotometrede okutulmasından sonra elde edilen absorbans değerleri Microsoft Excel programına kaydedilerek test kiti içerisinde yer alan kalibratör ve kontrollere göre çizilen grafikler doğrultusunda hesaplanmıştır. Veri analizi için Microsoft Office 365 programı kullanılmıştır. Normal dağılan değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde gösterilmiştir. Normal dağılmayan değişkenler ortanca (çeyreklikler arası genişlik) şeklinde gösterilmiştir. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde ile gösterilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışma için onamları alınan kişilere ait demografik veriler ve onların bazı klinik özellikleri ile ilgili elde edilen bulgular Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen olgu sayısı 123 idi. Bunların 73'ü (% 59,3) kadın, 50'si (% 40,7) erkekti. Olguların 15'i (% 12,1) kene temasına nerede maruz kaldığının farkına varamamıştır. Kenenin vücutta baş, gövde, üst ekstremité ve alt ekstremité tutulumlarına göre dağılımları değerlendirildiğinde, kene temasının en sık alt ekstremitéde olduğu saptanmıştır (şekil 4.1.). Daha önce de kene teması öyküsü olan hastaların sayısının 21 (% 17,1), kene teması öyküsü olmayanların sayısının ise 78 (% 63,4) olduğu tespit edilmiştir. Olguların 24'ü (% 19,5) ise daha önceden kene temasının olup olmadığını hatırlamadığını belirtmiştir. Çalışmada yer alan 17 (% 13,8) kişinin ise tarım ve hayvancılıkla uğraştığı saptanmıştır.

Kene teması ile acil servise başvurup temas sonrası üçüncü günde polikliniğimizde değerlendirilen 123 hastanın başvuru anında IFA ile bakılan tetkiklerinde sekiz hastada IgG antikor pozitif saptanmıştır. Hastaların hepsinde IFA ile IgM antikor negatif saptanmıştır.

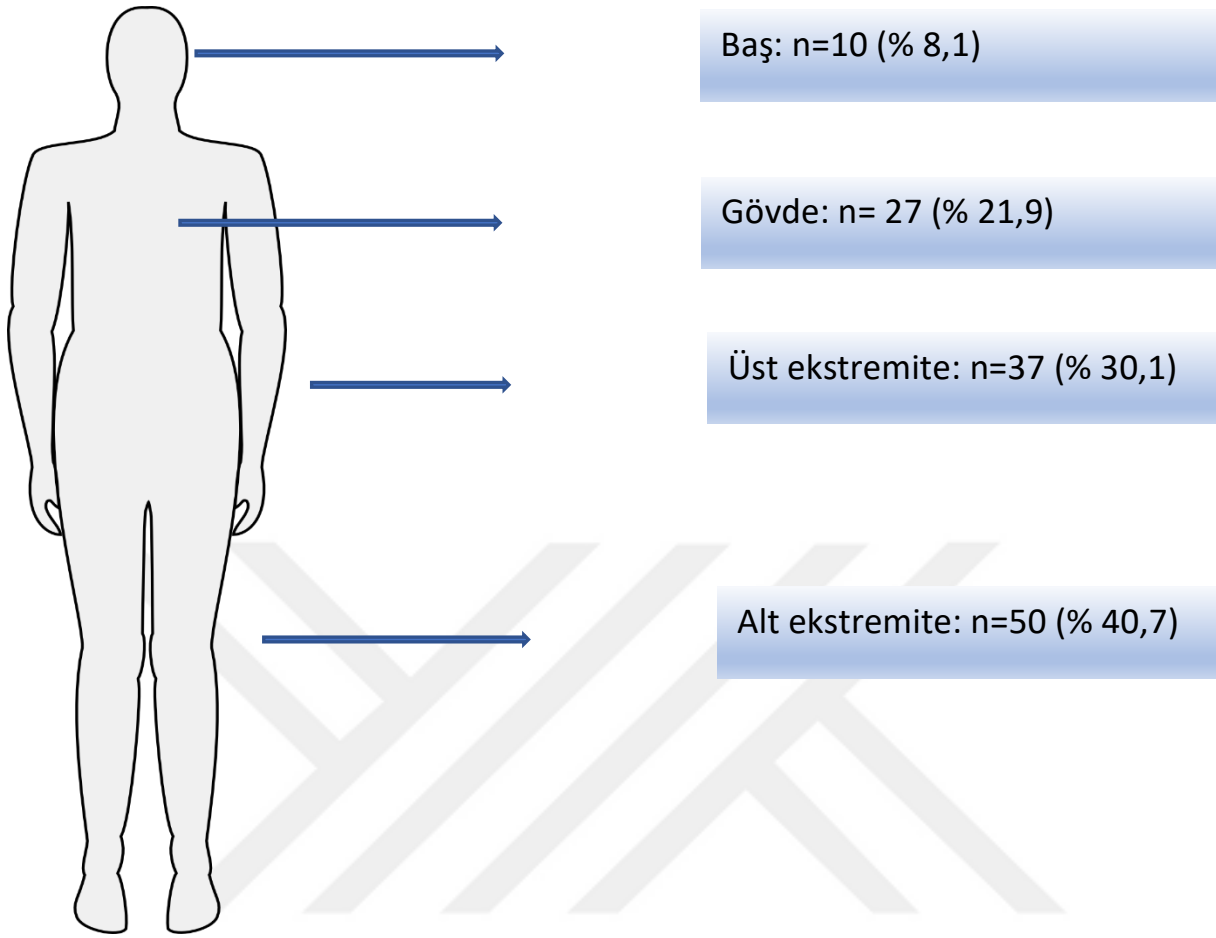
Aynı hastalar birinci ayda da kontrole çağırılmıştır. Bu hastaların 55'i birinci ay kontrollerine gelmiştir. IFA ile bakılan tetkiklerinde dört hastada IgG antikor pozitif saptanmıştır. Bu dört olgunun üçü ilk başvuru anında da pozitif olduğu için serokonversiyon olarak değerlendirilmedi. Diğer olgunun ilk başvuru anında IFA ile IgG antikor negatif olup, birinci ay pozitif döndüğünden dolayı serokonversiyon olarak değerlendirildi. Birinci ay kontrollerinde IFA ile bakılan tüm IgM tetkikleri negatif bulunmuştur.

Üçüncü ay kontrollerine gelen 51 hastanın ikisinde IFA ile IgG antikor pozitif sonuçlandı. Bu olgulardan biri ilk başvuruda ve birinci ay kontrollerinde de pozitif. Diğer başvuru anında negatif olan, birinci ayda serokonversiyon geliştiren hastaydı. Üçüncü ay kontrollerinde IFA ile bakılan tüm IgM tetkikleri negatif bulunmuştur.

10. ay kontrollerine gelen 40 hastanın IFA ile bakılan IgG ve IgM antikorlarının hepsi negatifti. Bunların içinde daha önce serokonversiyon geliştiren hasta da mevcuttu.

Tablo 4. 5. Çalışmaya katılan kişilere ait demografik veriler ve bazı klinik özellikler

		n (sayı)	% (yüzde)
Cinsiyet	Erkek	50	40,7
	Kadın	73	59,3
Yaş grubu	(0-14)	19	15,5
	(14-29)	19	15,5
	(30-44)	32	26
	(45-59)	29	23,5
	(≥60)	24	19,5
Kene temasının olduğu yer	Kentsel yaşam alanı	19	15,3
	Kırsal yaşam alanı	46	37,1
	Mesire alanı	44	35,5
	Bilmiyor	15	12,1
Vücutta kenenin temas ettiği bölge	Alt ekstremité	50	38,4
	Üst ekstremité	37	28,5
	Gövde	27	20,8
	Baş	10	7,7
	Birden çok kene ile tutulum	7	—
	Belirtilmemiş	6	4,6
Daha önce kene teması	Var	21	17,1
	Yok	78	63,4
	Bilmiyor	24	19,5
Tarım ve/veya hayvancılıkla uğraş	Var	17	13,8
	Yok	106	86,2
KOMORBİTE			
Kardiovasküler	Aritmi, doğumsal kalp defekti, kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı, hipertansiyon, pulmoner hipertansiyon, Hiperlipidemi	28	18,9
Akciğer	Astım, KOAH, pulmoner emboli	9	6,1
Tiroid	Guatr	8	5,4
Alerjik-immunolojik	İnek sütü alerjisi, Polen alerjisi, Atopik dermatit, Romatoid artrit, Reynaud fenomeni	6	4,1
Psikiyatrik	Depresyon, anksiyete, Psikoz	3	2
Nörolojik	Kekemelik, Migren, Meniere	4	2,7
Endokrin	Diabet	9	6,1
Kemik, eklem ve nöromusküler	Kifoz, Protez, Muskuler distrofi, Fibromiyalji, Lomber disk hernisi,	8	5,4
	Karpal tünel sendromu		
Diğer	Malignite, Vitiligo	2	1,3
	yok	66	44,6
	belirtilmemiş	5	3,4



Şekil 4. 1. Kenenin vücutta baş, gövde, üst ekstremitate ve alt ekstremitate tutulumlarına göre dağılımları

Çalışmaya alınan toplam 123 hastadan birinci veya üçüncü ay kontrollerine gelen toplam hasta sayısı 72 idi. Bu kontrollerde alınmış olan serum örneklerinde EUROIMMUN ELISA yöntemi ile anti-Borrelia IgG ve IgM antikorları tetkik edilmiştir. Semi-kantitatif ELISA IgG antikor 9 kişide borderline (ara değer), 13 kişide pozitif saptanmıştır. Kantitatif ELISA IgG antikor 5 kişide borderline, 21 kişide pozitif saptanmıştır. Semikantitatif ELISA IgG antikor tetkikinde borderline sonuç elde edilen dokuz olgunun sekizinde kantitatif ELISA IgG antikor pozitif saptanmıştır. Semi-kantitatif ELISA IgM antikor 3 kişide borderline, 5 kişide pozitif saptanmıştır. Semi-kantitatif ELISA IgM antikor borderline olan 3 hastanın; 3'ünün de semi-kantitatif ELISA IgG antikor negatif, 1'inin kantitatif ELISA IgG antikor pozitif saptanmıştır. Semi-kantitatif ELISA IgM antikor pozitif olan 5 hastanın; semi-kantitatif

ELISA IgG antikoruna 1'inin borderline, 2'sinin pozitif, 2'sinin negatif olduğu, kantitatif ELISA IgG antikorunun 3'ünün pozitif, 2'sinin negatif olduğu saptanmıştır. Kantitatif ELISA IgM antikoruna tüm olgularda negatif saptanmıştır. Birinci veya üçüncü ay kontrolleri için hastaneye başvuran hastaların ELISA yöntemi ile bakılan serum örneklerinin antikor dağılımı tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4. 6. Birinci veya üçüncü ay kontrolleri için hastaneye başvuran hastaların ELISA yöntemi ile bakılan serum örneklerinin antikor dağılımı

Yaş aralığı	Toplam		Semi-kantitatif IgM		Kantitatif IgM		Semi-kantitatif IgG		Kantitatif IgG	
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
(0-14)	7	9,66	0	0	0	0	2	2,76	2	2,76
(14-29)	12	16,56	1	1,38	0	0	1	1,38	3	4,14
(30-44)	21	28,98	2	2,76	0	0	2	2,76	4	5,52
(45-59)	18	24,84	1	1,38	0	0	6	8,28	9	12,42
(≥60)	14	19,32	1	1,38	0	0	2	2,76	3	4,14
toplam	72		5	6,9	0	0	13	17,94	21	28,98

EUROIMMUN ELISA testinden kalan 12 kitin 11 tanesi ilk başvuru anındaki kişilerden alınmış olan serum örneklerinde (IFA yöntemi ile IgG antikorları pozitif sonuçlanmış olan 6 hasta ile negatif sonuçlanmış olan 5 hastanın serum örnekleri seçildi) kullanılmıştır. İlk başvuru anındaki 11 olgunun serum örnekleri semi-kantitatif ELISA IgG antikoruna 2 kişide borderline, 1 kişide pozitif saptanmıştır. Aynı serum örneklerinde kantitatif ELISA IgG antikoruna 1 kişide borderline, 2 kişide pozitif saptanmıştır. Semi-kantitatif ELISA IgG antikoruna borderline sonuçlanan bir serum örneğinin kantitatif ELISA IgG antikorunun pozitif sonuçlandığı gözlenmiştir. Bu 11 olgunun serum örneklerinde semi-kantitatif ELISA IgM antikoruna iki kişide pozitif saptanmıştır. Bu pozitif sonuçlardan biri, IFA IgG tetkikinde serokonversiyon gelişen hastaya aitti. Semi-kantitatif ELISA IgM antikoruna pozitif saptanan 2 hastanın da semi-kantitatif ve kantitatif ELISA IgG antikorları negatif saptanmıştır. Kantitatif ELISA IgM antikoruna hepsinde negatif saptanmıştır. İlk başvuru anında (kene temasından sonra üçüncü gün) 11 hastaya ait serum örneklerinin IFA ve ELISA yöntemi ile bakılan antikorların dağılımı tablo 4.3'te gösterilmiştir.

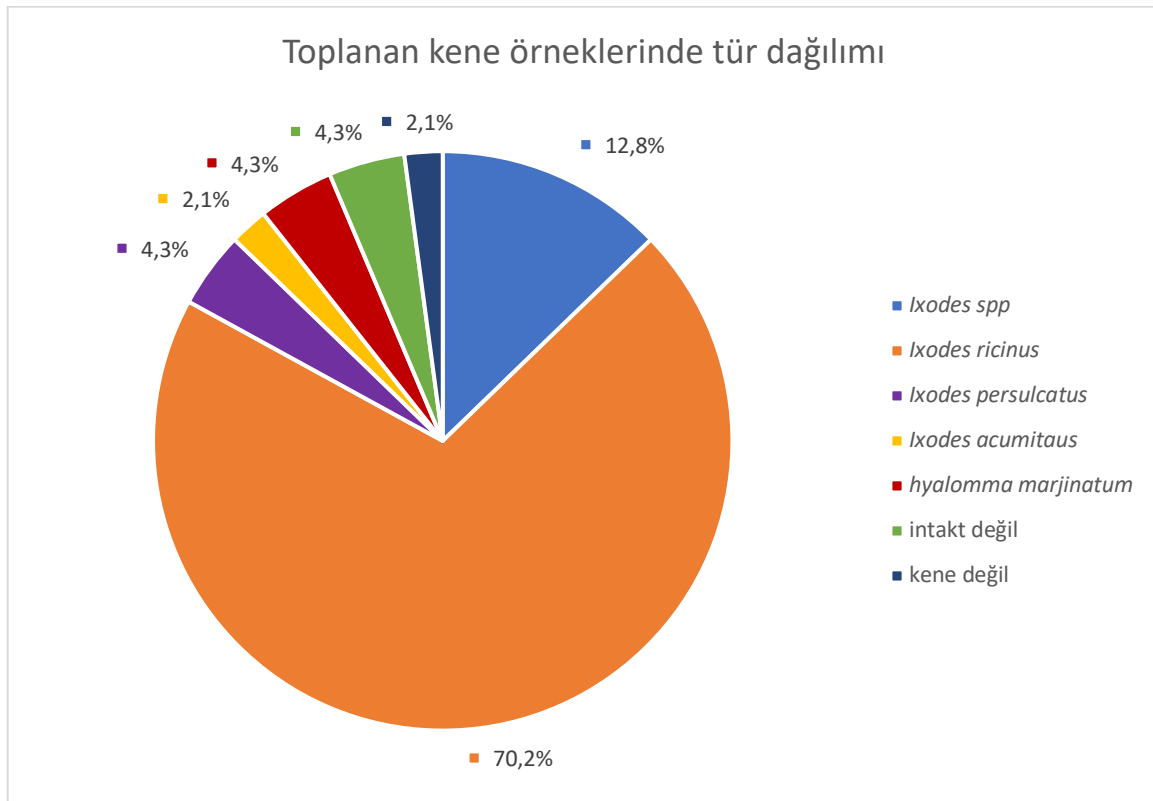
EUROIMMUN ELISA testinden kalan son kit, IFA ile serokonversiyon gelişen hastanın üçüncü ay kontrollerindeki serum örneğinde kullanılmıştır. Semi-kantitatif ELISA IgG antikoruna

pozitif, kantitatif ELISA IgG antikor pozitif, semi-kantitatif ELISA IgM antikor pozitif ve kantitatif ELISA IgM antikor negatif saptanmıştır.

Tablo 4. 7. İlk başvuru anında (kene temasından sonra üçüncü gün) 11 hastaya ait serum örneklerinin IFA ve ELISA yöntemi ile bakılan antikorların dağılımı

Olgular	IFA		ELISA			
	IgM	IgG	Semikantitatif	Kantitatif	Semikantitatif	Kantitatif
			IgM	IgM	IgG	IgG
Olgu 1	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Olgu 2	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Olgu 3	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif
Olgu 4	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Olgu 5	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif
Olgu 6	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Olgu 7	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Olgu 8	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Olgu 9	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Ara değer	Ara değer
Olgu 10	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Ara değer	Pozitif
Olgu 11	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif

2020 nisan ve eylül ayları arasında kene teması olan hastalardan toplam 206 kene toplandı. Bu toplanan kenelerin 47 tanesi çalışmaya katılan hastalara aitti. 47 kene incelendiğinde 42 (%89,3) tanesini *Ixodes* spp., 2 (%4,3) tanesini *Hyalomma* spp. olmak üzere toplamda 2 cins belirlenmiştir. İntakt olmadığından dolayı iki kenenin cins ve tür düzeyinde ayrımı yapılamamıştır. Bir tanesinin de kene olmadığı belirlenmiştir. 42 *Ixodes* cinsi kenenin tür düzeyinde ayrımları yapıldığında 33'ünün (%70,2) *I. ricinus*, 6'sının (%12,8) *I. spp*, 2'sinin (%4,3) *I. persulcatus*, 1 (%2,1) tanesinin *I. acuminatus* olduğu gözlenmiştir. İki *Hyalomma* cinsi kenenin ikisinin de *Hyalomma marginatum* olduğu gözlenmiştir. Değerlendirilen 44 kenenin 24'ü erişkin, 20'si nimf idi. Larva formunda kene saptanmamıştır. Cinsiyete bakıldığında 24 erişkin kenenin 22 tanesi dişi, 2 tanesi erkek cinsiyete sahip keneydi. Erkek cinsiyete sahip olan 2 kene de *Hyalomma marginatum* idi. Toplanan kene örneklerinde tür, cinsiyet ve boyut dağılımları şekil 4.2. ve tablo 4.4.'te belirtilmiştir.

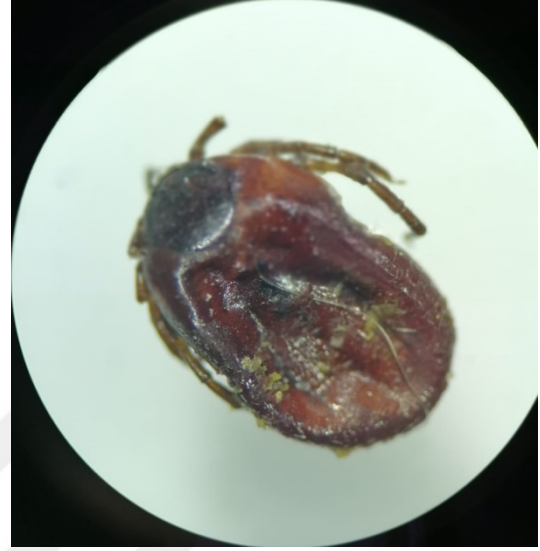
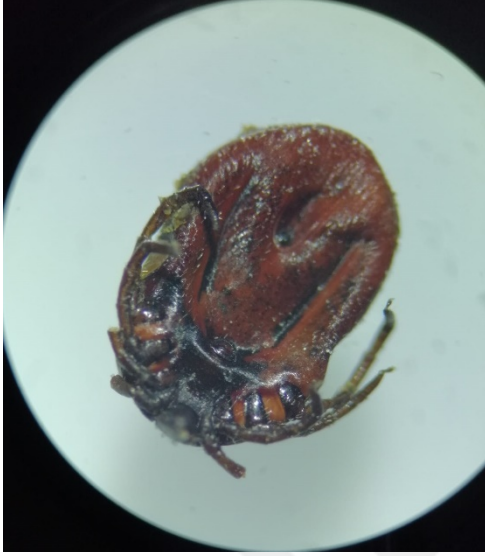


Şekil 4. 2. Toplanan kene örneklerinin cins ve tür dağılımları

Tablo 4. 8. Kene türlerinin cinsiyet ve boyut dağılımları

Kene türü	Toplam	Erkek	Dişi	Nimf	Larva
<i>Ixodes spp</i>	6		2	4	
<i>Ixodes ricinus</i>	33		18	15	
<i>Ixodes persulcatus</i>	2		1	1	
<i>Ixodes acuminatus</i>	1		1		
<i>Hyalomma marjinalatum</i>	2	2			
İntakt değil	2				
Kene değil	1				
Toplam	47	2	22	20	0

Çalışmamıza katılan olgulardan izole edilen keneler stereomikroskop altında incelenirken bazılarının görüntüleri alınmış olup şekil 4.3., şekil 4.4., şekil 4.5. ve şekil 4.6.'da gösterilmiştir.



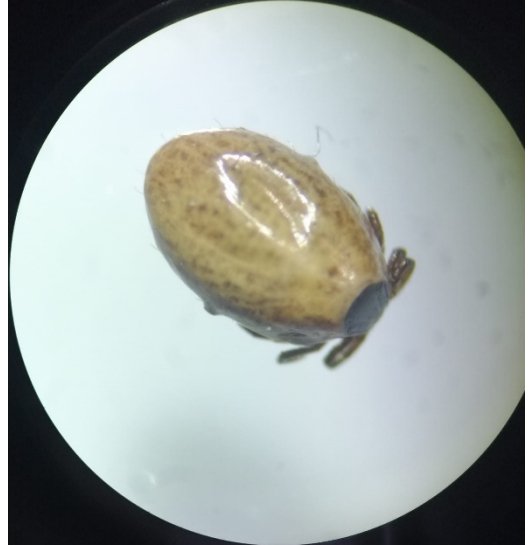
Şekil 4. 3. H-21 kodlu katılımcıdan izole edilen *ixodes ricinus* türü dişi cinsiyete sahip erişkin yaşam döngüsündeki kenenin ventral (sol) ve dorsal (sağ) yüzden fotoğranlanmış görseli



Şekil 4. 4. H-24 kodlu katılımcıdan izole edilen *ixodes spp.* türü nimf yaşam döngüsündeki kenenin ventral (sol) ve dorsal (sağ) yüzden fotoğranlanmış görseli



Şekil 4. 5. H-33 kodlu katılımcıdan izole edilen *ixodes acuminatus* türü dişi cinsiyet erişkin yaşam döngüsündeki kenenin ventral (sol) ve dorsal (sağ) yüzden fotoğranlanmış görseli



Şekil 4. 6. H-130 kodlu katılımcıdan izole edilen *ixodes* spp. türü nimf yaşam döngüsündeki kenenin ventral (sol) ve dorsal (sağ) yüzden fotoğranlanmış görseli

Takip edilen olguların sadece birinde lyme hastalığı ile ilişkili klinik bulgu gözlemlendi. Bu hasta önce baş dönmesi şikâyeti ile nöroloji polikliniğine sonraki haftada da çarpıntı şikâyeti ile kardiyoloji polikliniğine başvurmuştu. Hasta birinci ay kontrollerine geldiğinde bu anamnezi ile birlikte değerlendirilerek tetkikleri istendi. Hastanın ilk başvurusunda IFA yöntemi ile bakılan IgM ve IgG antikorları negatif saptanmıştır. Birinci ay kontrollerinde IFA ile IgM antikorunu negatif, IgG antikorunu ise pozitif saptanmıştır. Bu tetkikler ile hastada serokonversiyon geliştiği düşünülmüştür. Bu hastaya doksisisiklin tablet 2*1 dozunda başlandı ve 21 gün süre ile verildi. Hastanın 3. ay kontrollerinde IFA ile IgG antikorunu pozitif, IFA ile IgM antikorunu ise negatif saptanmıştır. 10. ay kontrollerinde ise IFA ile IgG ve IgM antikorunu negatif saptanmıştır. Kontrolleri sırasında uygun koşullarda saklanmış olan serum örnekleri ELISA yöntemiyle çalışıldığında bu hastanın başvuru anında semi-kantitatif IgM antikorunu pozitif, semi-kantitatif IgG antikorunu negatif, kantitatif IgM ve IgG antikorları negatif; 1. ay kontrollerinde semi-kantitatif IgM ve IgG antikorları pozitif, kantitatif IgM antikorunu negatif, kantitatif IgG antikorunu ise pozitif saptanmıştır. Bu tetkiklerle hastanın ELISA yöntemiyle de serokonversiyon geliştirdiği gözlenmiştir. 3. Ay kontrollerinde ise yine ELISA yöntemi ile semi-kantitatif IgM ve IgG antikorunu pozitif, kantitatif IgM antikorunu negatif, kantitatif IgG antikorunu ise pozitif saptanmıştır. Burada dikkat çekici nokta kantitatif ELISA IgG antikorunu verilerinde sayısal olarak artış olmasıydı. Kantitatif ELISA IgG antikorunu sayısal değerleri ilk başvuru anında -3,53, RU/ml 1. ay kontrollerinde 56,78 RU/ml, 3. ay kontrollerinde ise 83,81 RU/ml ölçülmüş olup zamanla hem serokonversiyon geliştiği hem de titrasyonunda artış olduğu görülmektedir. Takip edilen diğer olguların hiçbirinde lyme hastalığını düşündürecek klinik bulgu gelişmedi.

Hyalomma marginatum ile teması olan bir hastanın IFA ile Borrelia IgM ve Borrelia IgG antikorları negatif olmasına rağmen semi-kantitatif ELISA IgG ve IgM antikorları ile kantitatif ELISA IgG antikorunu pozitif saptanmıştır. Bu olguda lyme hastalığı ile ilgili klinik belirti ve bulguya rastlanmamıştır. Önceden tarım ve hayvancılıkla uğraştığını ve birkaç kez kene temasına maruz kaldığını belirtmiştir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışma Bolu ilinde bir kene ısırmasından sonra LB hastalığı gelişme riski üzerine yapılmış ilk prospektif çalışmadır. Bu çalışmanın amacı, *B. burgdorferi* ile enfekte bir kene tarafından ısırıldıktan sonra LB gelişme riskini değerlendirmektir. Çalışmaya dahil olan 123 olgunun 72 tanesi 10 aylık takiplerine devam etmiştir. Bu çalışmada, kene ısırığı olan takiplerine devam eden katılımcıların sadece % 1,38'si (1/72) hem klinik hem de laboratuvar olarak LB tanısı almıştır. Benzer çalışma tasarımlarına sahip Avrupa ülkelerindeki diğer çalışmalarda da kene ısırmasından sonra % 0,8-5,2 oranında LB geliştiği bildirilmiş olup LB gelişme riskinin düşük olduğu öne sürülmüştür (Hofhuis et al., 2013; Huegli et al., 2011; Nahimana et al., 2004). Bizim çalışmamızdaki olguların hiçbirinde EM gelişmemiştir.

Çalışmamızda başvuru anındaki olguların IFA ile negatif saptanan IgM ve IgG antikorlarının sonraki başvurularında herhangi birinin pozitive dönmesi serokonversiyon olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamıza alınan olguların serum örnekleri IFA ile değerlendirildiğinde % 1,38 (1/72) olguda serokonversiyon gelişmiştir. İsviçre’de yapılan benzer bir çalışmada ELFA (enzyme-linked fluorescent assay, enzime bağlı floresan testi) ve WB yöntemi ile % 4,5 (17/376) olguda serokonversiyon saptanmıştır. ELFA yöntemi ile %2,1 (n=8) olguda, WB yöntemi ile %3,9 (n=15) olguda serokonversiyon geliştiği saptanmıştır (Nahimana et al., 2004). Güneybatı Almanya’da Heidelberg bölgesinde yapılan benzer bir çalışmada takiplerine devam eden 334 olgunun IFA yöntemi ile IgM ve ELISA yöntemi ile IgG antikorlarına bakılmış olup % 1,2 (4/334) olguda serokonversiyon gelişmiştir. Aynı çalışmada Stuttgart bölgesinde takiplerine devam eden 360 olgunun ELISA yöntemi ile IgM ve IgG antikorlarına bakılmış olup % 2,2 (8/360) olguda serokonversiyon gelişmiştir (Maiwald et al., 1998). Hollanda’da takiplerine devam eden 284 kene ısırığı vakasında yapılan bir çalışmada C6 peptid ELISA yöntemi ve WB yöntemi ile serumlar çalışılmış olup % 3,2 (9/284) olguda serokonversiyon gelişmiştir (Hofhuis et al., 2013). İsveç ve finlandiya’da kene teması sonrası 1546 kişi 3 ay boyunca takibe alınmış olup ELISA ve WB yöntemi ile çalışılan serum örneklerinde % 3,5 (54/1546) oranında serokonversiyon geliştiği tespit edilmiştir (Wilhelmsson et al., 2016). Benzer çalışmalarda farklı sonuçların elde edilmesi Bb antijenlerine karşı IgM ve/veya IgG antikorlarını saptamak için kullanılan farklı ticari kit ve yöntemlerden ya da LB insidansının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızdaki olguların serum örnekleri IFA yöntemi ile değerlendirildiğinde hiçbirinde asemptomatik enfeksiyon (LB gelişmeden sadece antikor pozitifliğinin olması) saptanmamıştır. ELISA yöntemi (semikantitatif IgG ve IgM, kantitatif IgG ve IgM antikorlarından en az birinin pozitif olması) ile değerlendirildiğinde ise 22 olguda (% 30,5) asemptomatik enfeksiyon saptanmıştır. Lyme hastalığı için endemik olan bölgelerde, pek çok bölge sakini seropozitifdir, ancak çoğunda Lyme hastalığı öyküsü veya semptomu yoktur (Allen C Steere, Coburn, & Glickstein, 2004). Pozitif serolojik bir testin aktif lyme borreliyozu tanısı için tek başına yeterli bir kriter olmayacağı Stanek ve ark. (Stanek et al., 2012) tarafından öne sürülmüştür. Enfekte bireylerin yaklaşık %1,6-7'si asemptomatik enfeksiyon geçirebilir (Huegli et al., 2011; Allen C. Steere, Sikand, Schoen, & Nowakowski, 2003). İsveç'te yapılan retrospektif bir çalışmada, ELISA ile seropozitif olan kişilerin yarısından fazlasının Lyme hastalığını düşündüren herhangi bir semptomu hatırlamadığı bildirilmiştir (Gustafson, Svenungsson, Gardulf, Stiernstedt, & Forsgren, 1990). Asemptomatik enfeksiyonu olan hastalarda prognoz genellikle iyidir (Hatchette et al., 2014). Fahrer ve ark. (Fahrer, Sauvain, Zhioua, Van Hoecke, & Gern, 1998) tarafından yapılan bir çalışmada, 7 yıl boyunca takip ettikleri seropozitif asemptomatik kişilerde LB'nin geç klinik belirtilerinin gelişme riskinin yüksek bulunmadığı öne sürülmüştür. Çalışmamızdaki takip süresi, asemptomatik enfeksiyonu olan olguların ilerleyen zamanlarda klinik bulgu vermesi hakkında herhangi bir sonuca varmak için açıkçası çok kısadır. Bazı hastalarda, hastalık evre 2 veya evre 3'e ilerleyene kadar semptomatik hale gelmeyebilir (O'Connell, 2014; Allen C Steere, 2017). Bu, bağışıklık sisteminin spiroketi hızlı ve etkili bir şekilde yok ettiğini gösterebilir. Bu nedenle, *B. burgdorferi* enfeksiyonundan sonra LB ile ilişkili semptomların olmadığı asemptomatik enfeksiyonlar sık olabilir. Amerika'da LH'nin hiperendemik olduğu bir bölgede Nadelman ve ark. (Nadelman et al., 2001) tarafından gerçekleştirilen bir antibiyotik profilaksisi çalışmasında şaşırtıcı bir şekilde çalışma gruplarının hiçbirinde asemptomatik *B. burgdorferi* enfeksiyonu görülmemiştir. Avrupa'da asemptomatik veya subklinik enfeksiyon, klinik olarak belirgin hastalık kadar yaygın olabilirken, ABD'de enfekte hastaların yalnızca küçük bir kısmı asemptomatiktir (Carlsson, Ekerfelt, Henningsson, Brudin, & Tjernberg, 2018; Allen C. Steere et al., 2003; Wilhelmsson et al., 2016). Bununla birlikte, *B. burgdorferi sensu stricto*, ABD'de *B. burgdorferi*'nin tek insan patojenik suşudur. Bu nedenle, *B. afzelii* ve *B. garinii*'nin yaygın olduğu Avrupa'da enfekte keneler tarafından ısırılan sağlıklı bireylerde LB ve asemptomatik enfeksiyon riskinin belirlenebilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Türkiye'de de Lyme hastalığının etkenine yönelik yeterince araştırma mevcut değildir. Sinop ilinde 334 *I. ricinus* kenesi üzerinde yapılan bir çalışmada %15,9 (53/334) oranında *B. burgdorferi s.l.* kompleksine ait spiroketler izole edilmiş olup

bunların türlendirilmesi yapılmamıştır (Güneş, Kaya, Poyraz, & Engin, 2007). Güner ve ark. (Güner et al., 2003) tarafından Trakya’da yapılan bir çalışmada doğal ortamlarından toplanan 312 beslenmemiş kenenin 299 kadarının *I. Ricinus* türü kene olduğu tespit edilmiştir. Bu 299 *I. ricinus* kenesinin 10 tanesinde *Borrelia* (*B. garinii*, *B. afzelii*, *B. valaisiana* and *B. lusitaniae*, *B. burgdorferi sensu stricto*,) türleri izole edilmiş olup bunlardan sadece 1 tanesinde *B. burgdorferi sensu stricto* saptanmıştır. Yine istanbul’da yapılan başka bir çalışmada 241 *I. ricinus* kenesinin 48 tanesinde *B. burgdorferi s.l.* kompleksine (*B. lusitaniae*, *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. valaisiana*) ait spiroketler izole edilmiş olup *B. burgdorferi sensu stricto* türüne rastlanmamıştır (Sen et al., 2011). Çalışmamızdaki asemptomatik enfeksiyon oranının yüksek çıkması, LB’e yönelik etkenlerin Avrupa ile benzer olmasıyla açıklanabilir. Bazı asemptomatik enfeksiyonların, lokal deri iltihabına bile neden olamayacak suşlar da dahil olmak üzere, *B. burgdorferi*’nin invazif olmayan suşlarına atfedilebileceği öne sürülmüştür (Seinost et al., 1999). *B. burgdorferi*’nin invaziv ve invaziv olmayan suşlarının neden olduğu enfeksiyonu ayırt etmek için bir serolojik test tasarlanabilirse klinik olarak ciddi enfeksiyonları olan hastaların belirlenmesine yardımcı olacağı belirtilmiştir (G. Wormser, Nadelman, Nowakowski, & Schwartz, 2001). Türkiye’de invazif olmayan *borrelia* etkenleri araştırılmamış ya da tespit edilmemiştir. Lyme hastalığının erken dönem belirtisi EM’nin ağrılı olmaması ve subfebril ateş, halsizlik gibi spesifik olmayan semptomlarla seyretmesi, hastalığın çoğu hasta tarafından fark edilmemesine yol açabilmektedir. Bu durum asemptomatik seropozitif olguların nedenlerinden birisi olabilir. Sonuç olarak asemptomatik enfeksiyona yönelik ülkemizde ve Avrupa’da daha çok araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Birinci ay takiplerinde semi-kantitatif ELISA IgM antikoru 3 (% 4,1) kişide borderline, 5 (% 6,9) kişide pozitif saptanmıştır. Semi-kantitatif ELISA IgG antikoru ise 9 (% 12,4) kişide borderline, 13 (% 17,9) kişide pozitif saptanmıştır. Ülkemizde çok az sayıda benzer çalışmalar mevcuttur. Antakya ilinde yapılan bir çalışmada kene tutunması şikayeti ile acil servislere başvuran 65 olgunun 6-8 hafta sonra lyme hastalığına yönelik ELISA ile IgM ve IgG antikorlarına bakılmış olup IgM antikoru 45 (%69,2) olguda pozitif, 15 (% 23,1) olguda gri zon, 5 (% 7,7) olguda negatif; IgG antikoru ise tüm olgularda negatif saptanmıştır (Özeren, Kaya, & Önlen, 2012). Çalışmamızdaki verilerden çok daha farklı sonuçların ortaya çıkmasının nedeninin Antakya ilinin coğrafi olarak Türkiye’nin farklı bölgesinde olması ve ELISA için farklı ticari kitlerin kullanılması ile ilgili olabileceğini düşündürmüştür. Tekirdağ yöresinde yapılan bir çalışmada kene teması ile başvuran olgulardan başvuru anında 120 adet serum örneği alınmış olup *B. burgdorferi*’ye karşı ELISA ile yapılan serolojik testler sonucunda IgM

yönünden 27 (% 22,5) örnek, IgG yönünden ise 6 (%5) örnek pozitif olarak tespit edilmiştir (Doğan, 2019). Fakat bu çalışmada sadece başvuru anında kan serum örnekleri alınmış olup hastalar takibe çağrılmamıştır.

Çalışmamızda bir hastada LB ile uyumlu klinik bulgu gelişmiştir. Bu hasta halsizlik, uyuşukluk, baş ağrısı ve vertigo şikayeti ile nöroloji polikliniğine başvurmuş olup çekilen Manyetik Rezonans (MR) radyolojik görüntülemeye herhangi bir patolojiye rastlanmamıştır. EKG ile değerlendirmede hastada 1. Derece AV blok saptanmıştır. Bu hastanın IFA yöntemi ile bakılan IgG antikoruna başvuru anından negatif, 1. ay ve 3. ay takiplerinde pozitif, 10. ay ise negatif saptanmıştır. IFA yöntemi ile bakılan IgM antikorları ise tüm takiplerinde negatif sonuçlanmıştır. Aynı hastanın serum örnekleri ELISA yöntemi ile değerlendirildiğinde başvuru anında semikantitatif IgM antikorunun pozitif, IgG antikorunun negatif olduğu saptanmıştır. Birinci ve üçüncü ayda ELISA yöntemi ile değerlendirildiğinde semikantitatif IgM ve IgG antikorlarının pozitif olduğu saptanmıştır. ELISA ve IFA testlerinin duyarlılığı, testin zamanlamasından etkilenebilmektedir. Hastalığın erken döneminde *B. burgdorferi*'ye karşı antikor yanıtı gelişmeyebileceğinden, potansiyel olarak yanlış negatif sonuçlara yol açabileceği öne sürülmüştür (Bratton, Whiteside, Hovan, Engle, & Edwards, 2008). LB tanısı alan hastamızın başvuru anında (kene temasından sonra üçüncü günde polikliniğimize başvuran hastalar) IFA ile IgM antikorunun negatif, ELISA ile semikantitatif IgM antikorunun pozitif olması, ELISA yönteminin IFA yöntemine göre duyarlılığının daha yüksek olduğunu göstermektedir. Wilske ve ark. (B Wilske et al., 1993) tarafından yapılan bir çalışmaya göre IgM antikorunun tespiti için kullanılan ELISA yönteminin IFA yöntemine göre daha sensitif olduğunun ileri sürülmesi bizim çalışmamızda bulduğumuz veriyi desteklemektedir. ELISA ile bakılan kantitatif IgG antikoruna başvuru anında negatif saptanmış olup birinci ve üçüncü ayda ise hem pozitif saptanmış hem de antikorun titrasyonunda artış görülmüştür. Yapılan çalışmalarda antibiyotik tedavisinden sonra, antikor titrelerinin yavaşça düşeceği, ancak ELISA yöntemi ile bakılan IgG ve hatta IgM antikor yanıtlarının, tıpkı WB yöntemi ile bakılan VlsE peptidine verilen IgG yanıtı gibi yıllarca devam edebileceği öne sürülmüştür (Dressler, Whalen, Reinhardt, & Steere, 1993; Robert A. Kalish et al., 2001). Onuncu ayda IFA yöntemi ile bakılan IgG antikorunun negatif saptanması antibiyotik kullanımıyla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu hastada evre 2 LB düşünülmüş olup hastaya doksisiklin tedavisi üç hafta süreyle verilmiştir. LB tanısı alan hastamızın IFA ve ELISA tetkikleri tablo 5.1'de gösterilmiştir.

Tablo 5. 2. LB tanısı alan hastanın IFA ve ELISA sonuçları

Yöntem	Başvuru anında	1. ay	3. ay	10. ay
IFA				
IgM	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
IgG	Negatif	Pozitif	Pozitif	Negatif
ELISA				
IgM				
Semikantitatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	
Kantitatif	Negatif	Negatif	Negatif	
IgG				
Semikantitatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	
Kantitatif	Negatif (-3,53 RU/ml)	Pozitif (56,78 RU/ml)	Pozitif (83,81 RU/ml)	

Elimizde kalan ELISA kitlerini değerlendirmek üzere başvuru anında IFA ile bakılan IgG antikoru pozitif olan 6 olgu ile negatif olan 5 olgunun serum örnekleri ELISA ile çalışılmıştır. Bu sayede başvuru anındaki toplamda 11 olgunun IFA ile ELISA sonuçları karşılaştırılmıştır. Padula ve ark. (Padula, Dias, Sampieri, Craven, & Ryan, 1994) tarafından yapılan bir çalışmada EM tanılı 74 hastada EM ortaya çıktıktan sonra 90 gün içerisinde alınan kan serum örneklerinde OspC tabanlı ELISA yöntemi ile %63,5 (47/74) oranında IgM antikoru tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da serum örnekleri OspC tabanlı ELISA yöntemi ile çalışılmıştır. ELISA ile semikantitatif IgM antikoru pozitif sonuçlanan iki olgudan biri LB tanısı alan hastamıza ait olup, serum örneği alındığı zamanda hastada henüz LB ilişkili herhangi bir semptom gelişmemiştir. Bu bulgu kene teması sonrası LB ilişkili semptom gelişmesini beklemeden IgM antikoru aramaya yönelik tarama amaçlı OspC tabanlı ELISA tetkikinin kullanılabileceği yönünde fikir vermektedir. ELISA ile semikantitatif IgM antikoru pozitif sonuçlanan diğer olguda herhangi bir klinik semptom gelişmemiştir. Bu iki olgunun IFA ile

IgM antikorları negatif sonuçlanmıştır. Her iki olguda da daha önceden herhangi bir kene temasının olmadığı belirtilmiştir. Flagella bazlı ELISA yönteminin IgM ve IgG antikorlarının tespitinde erken ve geç Lyme hastalığı için %90'lık bir özgüllüğe sahip olduğu, ancak birinci aşama tetkik olarak kullanılmak üzere yeterince hassas olduğu rapor edilmiştir (Johnson et al., 1996). *B. burgdorferi*'nin VlsE proteininden türetilen sentetik bir peptidi temel alan ELISA yönteminin, flagella bazlı ELISA yöntemine benzer bir duyarlılığa sahip olduğu ancak yaklaşık %100 özgüllüğe sahip olduğu bildirilmiştir (Lawrenz et al., 1999; Liang et al., 1999). Bizim çalışmamızda da yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu bildirilen VlsE protein bazlı ELISA yöntemi kullanılmış olup ELISA ile IgG antikor reaktivasyon veren (semikantitatif ile 1 pozitif ve 2 borderline sonuç, kantitatif ile 2 pozitif ve 1 borderline sonuç) üç olgu saptanmıştır. Bu üç olgunun ikisinde IFA ile IgG antikor pozitif saptanmıştır. Her üç olguda da daha önce kene teması olduğu bildirilmiştir. Bilindiği üzere numuneler IFA yöntemi ile değerlendirildiğinde *borrelianın* diğer türleri ile çapraz reaksiyon oluşabilmektedir. Lane ve ark. (Lane, Lennette, & Madigan, 1990) tarafından yapılan bir çalışmada *B. burgdorferi*, *Borrelia coriaceae* ve *Borrelia hermsii* arasında önemli derecede çapraz reaksiyon olduğu gösterilmiştir. IFA ile IgG antikor pozitif olan diğer dört olgunun ELISA ile IgG antikor negatif saptanmış olup daha önceden herhangi bir kene teması ve LB ile ilişkili herhangi bir klinik semptomu olmamıştır. Bu dört olguda IFA ile saptanan IgG antikor pozitifliğinin yanlış pozitif olabileceği düşünülmüştür.

İnsanlara tutunan kene türlerinin tanımlanması, o bölgedeki insanlarda görülen ve kene vektörlüğü ile bulaşan enfeksiyon etkenleriyle ilgili epidemiyolojik verilerin elde edilmesi bakımından önem taşımaktadır. Çalışmamızdaki olgulardan elde edilen 47 kene incelendiğinde 42 (%89,3) tanesi *Ixodes* spp., 2 (%4,3) tanesi *Hyalomma* spp. olmak üzere toplamda 2 cins belirlenmiştir. İntakt olmadığından dolayı iki (% 4,3) kenenin cins ve tür düzeyinde ayırımı yapılamamıştır. Bir (% 2,1) tanesinin de kene olmadığı belirlenmiştir. 42 *Ixodes* cinsi kenenin tür düzeyinde ayrımları yapıldığında 33'ünün (%70,2) *I. ricinus*, 6'sının (%12,8) *I. spp*, 2'sinin (%4,3) *I. persulcatus*, 1 (%2,1) tanesinin *I. acuminatus* olduğu gözlenmiştir. İki *Hyalomma* cinsi kenenin ikisinin de *Hyalomma marginatum* olduğu gözlenmiştir. İstanbul'un Anadolu yakasından, Bulgaristan sınırına kadar devam eden, Trakya'nın karadeniz iklimi etkisi altında bulunan alanlarda doğal ortamından toplanmış olan 2624 kene içerisinde % 89,2 oranında *Ixodes* spp. (*I. ricinus* %16,35, nimf %22,70, larva %60,95), %4,8 oranında *Hyalomma* spp. (*H. aegyptium* %3,9, nimf %23, larva %73), %4 oranında *Rhipicephalus* spp., %1,3 oranında *Haemaphysalis* spp. ve %0,5 oranında da *Dermacentor* spp. saptanmıştır (Kar, Yilmazer,

Midilli, Ergin, & Gargılı, 2013). Karadeniz iklimi altındaki Bolu ilinde yaptığımız çalışmada Kar ve ark. (Kar et al., 2013) yaptığı çalışma ile benzer sonuçların elde edilmesi şaşırtıcı değildir. Nitekim yüksek yağış oranı ve nemi yüksek (en az %80) ormanlık alanların özellikle *I. ricinus* türü kenelerin yaşam döngüsü için daha uygun olduğu bildirilmektedir (Anderson & Magnarelli, 2008). Ayrıca meşe ağaçlarının bol olduğu ormanlık alanlarda düşen meşe yapraklarının keneleri olumsuz hava koşullarından belli ölçüde koruduğu öne sürülmüştür (Kar et al., 2013). Yine Trakya bölgesinde Güner ve ark. (Güner et al., 2003) tarafından yapılan bir çalışmada doğal ortamından toplanan 312 kene içerisinde dört farklı türden (*I. ricinus*, *Rhipicephalus haemaphysaloides*, *Haemaphysalis aponomoides* ve *Ixodes sp.*) kene saptanmış olup elde edilen % 95,8 (299/312) oranında *I. ricinus* türü kene ile benzer sonuçların olduğu görülmektedir. Farklı bölgelerde farklı iklim koşullarının ve farklı bitki örtüsünün olması kene popülasyonunda değişikliklere yol açmaktadır. Hatay ilinde yapılan bir çalışmada toplanan 65 kenenin cins düzeyinde ayrımı yapıldığında % 58,4 oranında (38/65) *Rhipicephalus* spp., % 12,3 (8/65) oranında *ixodes* spp., % 10,7 (7/65) oranında *hyalomma* spp. olduğu saptanmış olup % 18,4 (12/65) oranında kene intakt olmadığından dolayı cins düzeyinde ayrımı yapılamamıştır (Özeren et al., 2012). Çorluda yapılan bir çalışmada örneklenen 200 kenede *Ixodes* spp. (% 29), *Hyalomma* spp. (% 6), *Haemaphysalis* spp. (% 1) ve *Rhipicephalus* spp. (% 64) olmak üzere 4 cins belirlenmiş olup yapılan incelemeler sonucunda toplamda 7 tür (*I.gibbosus*, *I.ricinus*, *H.aegyptium*, *H.marginatum*, *Haemaphysalis parva*, *R.sanguineus*, *R.turanicus*) tanımlanmıştır (Doğan, 2019). Sivas'ta yapılan bir çalışmada 10.303 kene arasından *Ixodes* cinsi keneye rastlanmamıştır (Güneş et al., 2005).

Çalışmamızda elde edilen 47 kenenin yaşam döngüsü incelendiğinde 24'ünün (% 51) erişkin, 20'sinin (% 42,5) nimf olduğu saptanmıştır. Larva formunda kene saptanmamıştır. Erişkin kenelerin özellikle ilkbaharda, nimf kenelerin ise ilkbaharın sonunda pik yaptığı, ancak larvaların ortaya çıkışı bölgelere göre değişkenlik göstermekle birlikte nimflerden birkaç ay sonra gerçekleştiği öne sürülmüştür (Barandika, Hurtado, Juste, & García-Pérez, 2010; Rizzoli et al., 2011). Çalışmamızdaki keneler ilkbahar ve yaz mevsimi aylarında toplanmış olup bu kenelerde larva formunun saptanmamış olması mevsimle ilgili olabileceğini düşündürmüştür. Doğan ve ark. (Doğan, 2019) tarafından Tekirdağ yöresinde yapılan bir çalışmada keneler yaşam döngüsüne göre değerlendirildiğinde % 52 (104/200) erişkin, % 44 (88/200) nimf, % 4 (8/200) larva verileri ile çalışmamızla benzer dağılım göstermiştir. Trakya bölgesinde Kar ve ark. (Kar et al., 2013) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise %13,3 (481/2624) erişkin, % 22 (594/2624) nimf, % 59 (1549/2624) larva verileri ile yaptığımız çalışmaya göre farklı

dağılım elde edilmiştir. Kar ve ark. tarafından (Kar et al., 2013) yapılan çalışmada yüksek oranda larva tespit edilmiş olması yılın her ayında kene toplanmasıyla ilişkili olabileceğini düşündürmüştür.

Keneler potansiyel bir konağın vücuduna konduktan sonra cilt üzerinde uygun bir yer arayarak dolaşmaktadırlar. En sık tutulum yeri; erişkinlerde alt ekstremitte, çocuklarda ise baş ve çevresi olmaktadır (Bartosik, Kubrak, Olszewski, Jung, & Buczek, 2008). Bizim çalışmamızda ise kenelerin konakta tutunduğu bölgeler % 40,9 alt ekstremitte, % 30,1 üst ekstremitte, %21,9 gövde, % 8,1 baş olarak dağılım göstermiştir. En sık tutulumun alt ekstremitte olduğunu gösteren benzer birçok çalışma (Bartosik, Sitarz, Szymanska, & Buczek, 2011; Berglund et al., 1995; Hügli et al., 2009; Panczuk, Koziol-Montewka, & Tokarska-Rodak, 2014; Robertson, Gray, & Stewart, 2000; Wilhelmsson et al., 2013) mevcuttur.

Çalışmamızda *Hyalomma marginatum* türü kene ile teması olan bir olgumuzda 1. ay ELISA ile bakılan tetkiklerinde semikantitatif IgM, semikantitatif ve kantitatif IgG antikorları pozitif saptanmıştır. On ay boyunca takiplerine devam eden aynı olgunun, bu süreçte alınan 4 serum örneğinde de IFA ile bakılan IgG ve IgM antikorları negatif saptanmıştır. Bu olguda LB ile ilişkili herhangi bir klinik semptom gelişmemiştir. Hatay ilinde yapılan tez çalışmasında *Hyalomma* cinsi kene teması olan 6 kişinin ELISA ile değerlendirilen IgM antikorları 4 kişide pozitif, 2 kişide gri zon ve 1 kişide negatif saptanmış olup *Ixodes* cinsi dışındaki kenelerin de LB vektörü olabileceği ileri sürülmüştür (Özeren et al., 2012). Keskin ve ark. (Keskin, Bursali, Snow, Dowd, & Tekin, 2017) tarafından yapılan bir çalışmaya göre *Hyalomma* cinsi kenelerin üç türü olan *H. marginatum*, *H. aegyptium* ve *H. excavatum* türü 12 kene, zoonotik bakteri varlığı açısından incelenmiş olup patojenik ve patojenik olmayan çok sayıda bakteri cinsi tespit edilmiştir. Aynı çalışmada patojenitesi bilinmeyen bir *Borrelia* cinsi mikroorganizmanın varlığı *Hyalomma* cinsi kenelerde saptanmıştır. 2004 yılında Güner ve ark. (Güner et al., 2004) tarafından yapılan bir çalışmada *H. aegyptium* kene türünden izole edilen, *Borrelia turcica* adını verdikleri bir spiroket türü tanımlanmıştır. Yunanistan ve Türkiye’de yapılan bir araştırmada kaplumbağadan toplanan *H. aegyptium* kenelerinden izole edilen *B. turcica* örneklerinin Lyme hastalığı ve dökü ateşine yol açan spiroket türlerinden farklı olduğu öne sürülmüştür (Hepner et al., 2020). Hepner ve ark. (Hepner et al., 2019) tarafından yapılan başka bir çalışmada izole edilen *B. turcica* spiroketlerinin kaplumbağa serumuna karşı direnç gösterdiği, insan ve kuş serumuna karşı ise duyarlı olduğu saptanmış olup dolaylı olarak *B. turcica*’nın insanlar için patojenik olmadığı ileri sürülmüştür. Bu araştırmalar ışığında *Hyalomma* cinsi kenelerin patojen olmayan *Borrelia* cinsi mikroorganizmalarla enfekte olabileceği anlaşılmıştır. Kene

ısırtığı ile insanlara geçen bu spiroketlerin klinik semptom vermeden de antikor yanıtı oluşturabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızı kısıtlayıcı en önemli faktörlerinden biri covid-19 pandemisi nedeni ile çalışmaya alınan olguların 10 aylık uzun süreli takiplerine devam etmekte zorlanmasıdır. Bütçe kısıtlı olduğundan dolayı ilk başvuru anında olguların serum örneklerinden ELISA yöntemi ile antikor bakılamaması diğer sınırlayıcı faktör olmuştur. Ülkemizde kene teması olanların ilk müdahalesi acil servislerde olmaktadır. Kenenin vücuttan uzaklaştırılıp izole edilmesi işlemi acil serviste yapıldığından dolayı olgulardan izole edilen kenelerin tamamına ulaşılammıştır. Çalışmamızın sınırlı bir alanda ve zaman diliminde az sayıda olgu ile yapılmış olması da önemli bir kısıtlılık idi. Bütün bunlara rağmen, çalışmamızın Bolu ilinde kene teması olan bireylerde Lyme hastalığı görülme sıklığını araştıran ilk çalışma olması nedeniyle önemli olduğunu düşünüyoruz.

6. SONUÇ

Genel olarak ülkemizde, Lyme hastalığının insidansında görülen düşüklüğün sebebi hastalığın ülkemizde sık görülmemesinden çok bildirim zorunlu olmayan bir hastalık olmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Bir diğer sebep ise hastalıkla ilgili toplumda farkındalığın düşük olmasıdır. Ülkemizde *B. burgdorferi* antikor pozitifliği ve Lyme hastalığının bölgesel görülme sıklığı ile ilgili olarak az sayıda çalışma yapılmıştır. Fakat kene teması sonrası olguların takip edilerek Lyme hastalığı açısından laboratuvar ve klinik değerlendirmenin yapıldığı prospektif çalışma sayısı yok denecek kadar azdır. Biz bu araştırmada Bolu ilinde kene teması öyküsü ile gelen olguların 10 ay süre ile takibi sonucunda laboratuvar ve klinik değerlendirmeler ile süreç içerisinde LB gelişme riskini araştırdık ve topladığımız keneler ile Bolu ilindeki kene popülasyonunu inceledik. Bizim çalışmamızda her ne kadar LB tanısı alan sadece bir olgumuz olsa da, olgulardan alınan serum örneklerinde yüksek oranda asemptomatik seropozitiflik (% 30,5) saptanmıştır. Bu olguların zamanla semptomatik hale gelip gelmeyeceği merak uyandırmaktadır. Kene popülasyonuna yönelik araştırmamızda ise Lyme hastalığının etkeni olan *Borrelia burgdorferi*'nin vektörü olan *Ixodes* cinsi kenelerin yüksek oranda bulunduğunu tespit ettik. Ülkemizde bu alanda çok az sayıda çalışma olması nedeni ile çalışmamızdan elde ettiğimiz verilerin ileride yapılacak olan daha kapsamlı araştırmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz. Kene ısırığı olgularının akut/kronik Lyme hastalığı olgularına dönüşüp dönüşmediklerinin takip edilmesi ve Lyme hastalığının insidansının ve prevalansının bölgemizde ve ülkemizde kesin olarak belirlenmesini sağlayacak daha kapsamlı epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

- Aguero-Rosenfeld, M. E., Wang, G., Schwartz, I., & Wormser, G. P. (2005). Diagnosis of Lyme borreliosis. *Clinical microbiology reviews*, 18(3), 484-509.
- Alje P. van Dam, H. K., Koen Vos, Anneke Widjojokusumo, Bartelt M. de Jongh, Lodewijk Spanjaard, Anton C. P. Ramselaar, Michael D. Kramer, and Jacob Dankert. (1993). Different Genospecies of *Borrelia burgdorferi* Are Associated with Distinct Clinical Manifestations of Lyme Borreliosis.
- Anderson, J. F., & Magnarelli, L. A. (2008). Biology of ticks. *Infectious disease clinics of North America*, 22(2), 195-215.
- Aslam, B., Nisar, M. A., Khurshid, M., & Salamat, M. K. F. (2017). Immune escape strategies of *Borrelia burgdorferi*. *Future Microbiology*, 12(13). doi:10.2217/fmb-2017-0013
- AYDIN TÜRKOĞLU, Ş., Bolac, E. S., YILDIZ, S., Küçükbayrak, A., SIRMATEL, F., & YILDIZ, N. (2016). Nöroborelyoz ve otoimmünite, Guillain Barre sendromu: iki olgu sunumu. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 41(1), 152-155.
- Barandika, J. F., Hurtado, A., Juste, R. A., & García-Pérez, A. L. (2010). Seasonal dynamics of *Ixodes ricinus* in a 3-year period in northern Spain: first survey on the presence of tick-borne encephalitis virus. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 10(10), 1027-1035.
- Bartosik, K., Kubrak, T., Olszewski, T., Jung, M., & Buczek, A. (2008). Prevention of tick bites and protection against tick-borne diseases in south-eastern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 15(2).
- Bartosik, K., Sitarz, M., Szymanska, J., & Buczek, A. (2011). Tick bites on humans in the agricultural and recreational areas in south-eastern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 18(1).
- Belman, A., Iyer, M., Coyle, P., & Dattwyler, R. (1993). Neurologic manifestations in children with North American Lyme disease. *Neurology*, 43(12), 2609-2609.
- Berglund, J., Eitrem, R., Ornstein, K., Lindberg, A., Ringnér, Å., Elmrud, H., . . . Norrby, R. (1995). An epidemiologic study of Lyme disease in southern Sweden. *New England Journal of Medicine*, 333(20), 1319-1324.
- Bhate, C., & Schwartz, R. A. (2011). Lyme disease: Part I. Advances and perspectives. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 64(4), 619-636.
- Birengel, S., Boşca, A., Kurt, H., & Tekeli, E. (1999). Sağlıklı bireylerde ve bazı hasta gruplarında lyme seropozitifliği. *Flora*, 4(1), 51-57.
- Borazan, A., Koçak, E., Koçak, G., Arslan, T., & Üstündağ, Y. (2005). Romatoid artrit ve lyme hastalığı birlikteliği. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 25(5), 736-739.
- Borchers, A. T., Keen, C. L., Huntley, A. C., & Gershwin, M. E. (2015). Lyme disease: a rigorous review of diagnostic criteria and treatment. *Journal of autoimmunity*, 57, 82-115.
- Bratton, R. L., Whiteside, J. W., Hovan, M. J., Engle, R. L., & Edwards, F. D. (2008). *Diagnosis and treatment of Lyme disease*. Paper presented at the Mayo Clinic Proceedings.
- Bucak, Ö., Koçoğlu, M. E., Taş, T., & Mengeloğlu, F. Z. (2016). Evaluation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato seroprevalence in the province of Bolu, Turkey. *Turk J Med Sci*, 46(3), 727-732. doi:10.3906/sag-1504-100
- Burgdorfer, W., Barbour, A. G., Hayes, S. F., Benach, J. L., Grunwaldt, E., & Davis, J. P. (1982). Lyme disease—a tick-borne spirochetosis? *Science*, 216(4552), 1317-1319.
- Bush, L. M., & Vazquez-Pertejo, M. T. (2018). Tick borne illness—Lyme disease. *Disease-A-Month*, 64(5), 195-212. doi:10.1016/j.disamonth.2018.01.007

- Cardenas-de la Garza, J. A., la Cruz-Valadez, D., Ocampo-Candiani, J., & Welsh, O. (2019). Clinical spectrum of Lyme disease. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 38(2), 201-208.
- Carlsson, H., Ekerfelt, C., Henningsson, A. J., Brudin, L., & Tjernberg, I. (2018). Subclinical Lyme borreliosis is common in south-eastern Sweden and may be distinguished from Lyme neuroborreliosis by sex, age and specific immune marker patterns. *Ticks and tick-borne diseases*, 9(3), 742-748.
- Casjens, S., Palmer, N., Van Vugt, R., Mun Huang, W., Stevenson, B., Rosa, P., . . . M. Fraser, C. (2000). A bacterial genome in flux: the twelve linear and nine circular extrachromosomal DNAs in an infectious isolate of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *Molecular Microbiology*, 35(3), 490-516. doi:<https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.01698.x>
- Çakır, N., Akandere, Y., Hekim, N., & Kovancı, E. (1990). Yazıcı H. *The first case of Lyme disease in Turkey. Klinik Gelişim*, 4, 839-841.
- Çiçek, H. S. (2009). Kene. *Kocatepe Veterinary Journal*, 2(2), 61-64.
- Daikh, B. E., Emerson, F. E., Smith, R. P., Lucas, F. L., & McCarthy, C. A. (2013). Lyme Arthritis: A Comparison of Presentation, Synovial Fluid Analysis, and Treatment Course in Children and Adults. *Arthritis Care & Research*, 65(12), 1986-1990. doi:<https://doi.org/10.1002/acr.22086>
- Dantas-Torres, F. (2018). Species concepts: what about ticks? *Trends in parasitology*, 34(12), 1017-1026.
- Doğan, M. (2019). Tekirdağ Yöresinde Kene Tutunmuş Hastalarda Zoonotik Patojenlerin Araştırılması. *Klinik Journal/Klinik Dergisi*, 32(3).
- Dressler, F., Whalen, J. A., Reinhardt, B. N., & Steere, A. C. (1993). Western blotting in the serodiagnosis of Lyme disease. *Journal of Infectious Diseases*, 167(2), 392-400.
- Dumanlı, N., Altay, K., & Aydın, M. F. (2012). Türkiye’de sığır, koyun ve keçilerde belirlenen kene türleri.
- Durden, L. A., & Beati, L. (2013). Modern tick systematics. *Biology of ticks*, 1, 17-58.
- Estrada-Peña, A. (2015). Ticks as vectors: taxonomy, biology and ecology. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 34(1), 53-65. doi:10.20506/rst.34.1.2345
- Fahrer, H., Sauvain, M.-J., Zhioua, E., Van Hoecke, C., & Gern, L. (1998). Longterm survey (7 years) in a population at risk for Lyme borreliosis: what happens to the seropositive individuals? *European journal of epidemiology*, 14(2), 117-123.
- Fikrig, E., Feng, W., Aversa, J., Schoen, R. T., & Flavell, R. A. (1998). Differential expression of *Borrelia burgdorferi* genes during erythema migrans and Lyme arthritis. *The Journal of infectious diseases*, 178(4), 1198-1201.
- Fraser, C. M., Casjens, S., Huang, W. M., Sutton, G. G., Clayton, R., Lathigra, R., . . . Hickey, E. K. (1997). Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature*, 390(6660), 580-586.
- Gazyağcı, A. N., & Aydenizöz, M. (2010). Keneler ve Kenelerin Taşıdığı Bazı Önemli Hastalıklar. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 34(2), 131-136.
- Guiqing Wang, Alje P. van Dam, Ira Schwartz, and Jacob Dankert. (1999). Molecular Typing of *Borrelia burgdorferi* Ssensu Lato: Taxonomic, Epidemiological, and Clinical Implications.
- Gustafson, R., Svenungsson, B., Gardulf, A., Stiernstedt, G., & Forsgren, M. (1990). Prevalence of tick-borne encephalitis and Lyme borreliosis in a defined Swedish population. *Scandinavian journal of infectious diseases*, 22(3), 297-306.
- Güner, E. S., Hashimoto, N., Takada, N., Kaneda, K., Imai, Y., & Masuzawa, T. (2003). First isolation and characterization of *Borrelia burgdorferi* sensu lato strains from *Ixodes ricinus* ticks in Turkey. *Journal of medical microbiology*, 52(9), 807-813.
- Güner, E. S., Watanabe, M., Hashimoto, N., Kadosaka, T., Kawamura, Y., Ezaki, T., . . . Masuzawa, T. (2004). *Borrelia turcica* sp. nov., isolated from the hard tick *Hyalomma aegyptium* in Turkey. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 54(5), 1649-1652.
- Güneş, T. (2019). The investigation of seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* and *Rickettsia conorii* in people living in forest villages of Sinop. *Cumhuriyet Medical Journal*. doi:10.7197/cmj.vi.584608

- Güneş, T., Kaya, S., Poyraz, O., & Engin, A. (2007). The Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* Ticks in the Sinop Region of Turkey. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 31(3), 153-158.
- Güneş, T., Poyraz, O., Kaya, S., Gençer, L., & Alim, A. (2005). Investigation of vectors for *Borrelia burgdorferi* and Lyme seropositivity in Sivas region. *Mikrobiyoloji bulteni*, 39(4), 503-508.
- Halperin, J. J. (2018). *Lyme Disease: An Evidence-Based Approach*: CABI.
- Hatchette, T., Davis, I., & Johnston, B. (2014). Clinical aspects of Lyme disease: Lyme disease: clinical diagnosis and treatment. *Canada Communicable Disease Report*, 40(11), 194.
- Hatipoglu, M., & Turhan, V. (2016). Lyme Disease. *Mediterranean Journal of Infection Microbes and Antimicrobials*, 5.
- Haugeberg, G., Hansen, I. J. W., Skarpaas, T., Noraas, S., & Kjelland, V. (2014). Lyme arthritis in Southern Norway-an endemic area for Lyme Borreliosis. *BMC Infectious Diseases*, 14(1), 1-6.
- Hengge, U. R., Tannapfel, A., Tying, S. K., Erbel, R., Arendt, G., & Ruzicka, T. (2003). Lyme borreliosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 3(8), 489-500.
- Hepner, S., Fingerle, V., Duscher, G. G., Felsberger, G., Marosevic, D., Rollins, R. E., . . . Margos, G. (2020). Population structure of *Borrelia turcica* from Greece and Turkey. *Infection, Genetics and Evolution*, 77, 104050.
- Hepner, S., Fingerle, V., Heylen, D., Marosevic, D., Ghaffari, K., Okeyo, M., . . . Margos, G. (2019). First investigations on serum resistance and sensitivity of *Borrelia turcica*. *Ticks and tick-borne diseases*, 10(5), 1157-1161.
- Hofhuis, A., Herremans, T., Notermans, D. W., Sprong, H., Fonville, M., van der Giessen, J. W., & van Pelt, W. (2013). A prospective study among patients presenting at the general practitioner with a tick bite or erythema migrans in The Netherlands. *PloS one*, 8(5), e64361.
- Huegli, D., Moret, J., Rais, O., Moosmann, Y., Erard, P., Malinverni, R., & Gern, L. (2011). Prospective study on the incidence of infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato after a tick bite in a highly endemic area of Switzerland. *Ticks and tick-borne diseases*, 2(3), 129-136.
- Hügli, D., Moret, J., Rais, O., Moosmann, Y., Erard, P., Malinverni, R., & Gern, L. (2009). Tick bites in a Lyme borreliosis highly endemic area in Switzerland. *International Journal of Medical Microbiology*, 299(2), 155-160.
- Iseri L, D. B. (2000). *Borrelia* ve Lyme Hastalığı.
- Johnson, B. J., Robbins, K. E., Bailey, R. E., Cao, B.-L., Sviat, S. L., Craven, R. B., . . . Dennis, D. T. (1996). Serodiagnosis of Lyme disease: accuracy of a two-step approach using a flagella-based ELISA and immunoblotting. *Journal of Infectious Diseases*, 174(2), 346-353.
- Jongejan, F., & Uilenberg, G. (2004). The global importance of ticks. *Parasitology*, 129(S1), S3-S14.
- Kalish, R. A., Kaplan, R. F., Taylor, E., Jones-Woodward, L., Workman, K., & Steere, A. C. (2001). Evaluation of study patients with Lyme disease, 10–20-year follow-up. *The Journal of infectious diseases*, 183(3), 453-460.
- Kalish, R. A., McHugh, G., Granquist, J., Shea, B., Ruthazer, R., & Steere, A. C. (2001). Persistence of Immunoglobulin M or Immunoglobulin G Antibody Responses to *Borrelia burgdorferi* 10–20 Years after Active Lyme Disease. *Clinical infectious diseases*, 33(6), 780-785. doi:10.1086/322669
- Kar, S., Yilmazer, N., Midilli, K., Ergin, S., & Gargılı, A. (2013). *Borrelia burgdorferi* sl and *Rickettsia* spp. in ticks collected from European part of Turkey. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*.
- Kaya, A. D., Parlak, A. H., Ozturk, C. E., & Behcet, M. (2008). Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* infection among forestry workers and farmers in Duzce, north-western Turkey. *The new microbiologica*, 31(2), 203.
- Kenyon, S. M., & Chan, S. L. (2021). A focused review on Lyme disease diagnostic testing: An update on serology algorithms, current ordering practices, and practical considerations for laboratory implementation of a new testing algorithm. *Clin Biochem*. doi:10.1016/j.clinbiochem.2021.12.001
- Keskin, A., Bursali, A., Snow, D. E., Dowd, S. E., & Tekin, S. (2017). Assessment of bacterial diversity in *Hyalomma aegyptium*, *H. marginatum* and *H. excavatum* ticks through tag-encoded pyrosequencing. *Experimental and Applied Acarology*, 73(3), 461-475.

- Koedel, U., Fingerle, V., & Pfister, H.-W. (2015). Lyme neuroborreliosis—epidemiology, diagnosis and management. *Nature Reviews Neurology*, 11(8), 446-456.
- Kostić, T., Momčilović, S., Perišić, Z. D., Apostolović, S. R., Cvetković, J., Jovanović, A., . . . Tasić-Otašević, S. (2017). Manifestations of Lyme carditis. *International Journal of Cardiology*, 232, 24-32. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.12.169>
- Köksal, İ., Saltoğlu, N., Bingül, T., & Öztürk, H. (1990). Bir Lyme hastalığı olgusu. *Ankem Derg*, 4, 284.
- Kugeler, K. J., Schwartz, A. M., Delorey, M. J., Mead, P. S., & Hinckley, A. F. (2021). Estimating the frequency of Lyme disease diagnoses, United States, 2010–2018. *Emerging Infectious Diseases*, 27(2), 616.
- Lane, R. S., Lennette, E. T., & Madigan, J. E. (1990). Interlaboratory and intralaboratory comparisons of indirect immunofluorescence assays for serodiagnosis of Lyme disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(8), 1774-1779. doi:doi:10.1128/jcm.28.8.1774-1779.1990
- Lantos, P. M., Rumbaugh, J., Bockenstedt, L. K., Falck-Ytter, Y. T., Agüero-Rosenfeld, M. E., Auwaerter, P. G., . . . Bowie, W. R. (2021). Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA), American Academy of Neurology (AAN), and American College of Rheumatology (ACR): 2020 guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of Lyme disease. *Clinical infectious diseases*, 72(1), e1-e48.
- LaRocca, T. J., Crowley, J. T., Cusack, B. J., Pathak, P., Benach, J., London, E., . . . Benach, J. L. (2010). Cholesterol Lipids of *Borrelia burgdorferi* Form Lipid Rafts and Are Required for the Bactericidal Activity of a Complement-Independent Antibody. *cell host microbe*, 8(4), 331-342. doi:10.1016/j.chom.2010.09.001
- Lawrenz, M., Hardham, J., Owens, R., Nowakowski, J., Steere, A., Wormser, G., & Norris, S. (1999). Human antibody responses to VlsE antigenic variation protein of *Borrelia burgdorferi*. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(12), 3997-4004.
- Liang, F. T., Steere, A. C., Marques, A. R., Johnson, B. J., Miller, J. N., & Philipp, M. T. (1999). Sensitive and specific serodiagnosis of Lyme disease by enzyme-linked immunosorbent assay with a peptide based on an immunodominant conserved region of *Borrelia burgdorferi* VlsE. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(12), 3990-3996.
- Lindsay, L., Bernat, K., & Dibernardo, A. (2014). Clinical aspects of Lyme disease: Laboratory diagnostics for Lyme disease. *Canada Communicable Disease Report*, 40(11), 209.
- Lipsker, D., & Jaulhac, B. (2009). *Lyme borreliosis: biological and clinical aspects* (Vol. 37): Karger Medical and Scientific Publishers.
- Ljøstad, U., Skogvoll, E., Eikeland, R., Midgard, R., Skarpaas, T., Berg, Å., & Mygland, Å. (2008). Oral doxycycline versus intravenous ceftriaxone for European Lyme neuroborreliosis: a multicentre, non-inferiority, double-blind, randomised trial. *The Lancet Neurology*, 7(8), 690-695.
- Maiwald, M., Oehme, R., March, O., Petney, T., Kimmig, P., Naser, K., . . . Doeberitz, M. V. K. (1998). Transmission risk of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from *Ixodes ricinus* ticks to humans in southwest Germany. *Epidemiology & Infection*, 121(1), 103-108.
- Maraspin, V., Nahtigal Klevišar, M., Ružić-Sabljić, E., Lusa, L., & Strle, F. (2016). Borrelial Lymphocytoma in Adult Patients. *Clinical infectious diseases*, 63(7), 914-921. doi:10.1093/cid/ciw417
- Marques, A. R. (2015). Lyme neuroborreliosis. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 21(6), 1729-1744.
- Mead, P., Petersen, J., & Hinckley, A. (2019). Updated CDC recommendation for serologic diagnosis of Lyme disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 68(32), 703-703.
- Mullen, G. R., & Durden, L. A. (2009). *Medical and veterinary entomology*: Academic press.
- Mülleger, R. R. (2004). Dermatological manifestations of Lyme borreliosis. *European Journal of Dermatology*, 14(5), 296-309.
- Nadelman, R. B., Nowakowski, J., Fish, D., Falco, R. C., Freeman, K., McKenna, D., . . . Dennis, D. T. (2001). Prophylaxis with single-dose doxycycline for the prevention of Lyme disease after an *Ixodes scapularis* tick bite. *New England Journal of Medicine*, 345(2), 79-84.

- Nahimana, I., Gern, L., Blanc, D., Praz, G., Francioli, P., & Peter, O. (2004). Risk of *Borrelia burgdorferi* infection in western Switzerland following a tick bite. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 23(8), 603-608.
- O'Connell, S. (2014). Lyme borreliosis. *Medicine*, 42(1), 14-17.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2013.10.010>
- Oksi, J., Nikoskelainen, J., Hiekkänen, H., Lauhio, A., Peltomaa, M., Pitkäranta, A., . . . Seppälä, I. (2007). Duration of antibiotic treatment in disseminated Lyme borreliosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled, multicenter clinical study. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 26(8), 571-581.
- Organization, W. H., & UNICEF. (2017). Global vector control response 2017-2030.
- Özeren, G. S., Kaya, G., & Önlü, Y. (2012). Hatay Yöresinde Kene Kaynaklı Lyme Borelyozu Seroprevalansı/Seroprevalence of Tick-Borne Lyme Borreliosis in Hatay. *KLİMİK Dergisi*, 25(2), 58.
- Pachner, A. R., & Steiner, I. (2007). Lyme neuroborreliosis: infection, immunity, and inflammation. *The Lancet Neurology*, 6(6), 544-552.
- Padula, S. J., Dias, F., Sampieri, A., Craven, R. B., & Ryan, R. W. (1994). Use of recombinant OspC from *Borrelia burgdorferi* for serodiagnosis of early Lyme disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(7), 1733-1738.
- Panczuk, A., Koziol-Montewka, M., & Tokarska-Rodak, M. (2014). Exposure to ticks and seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* among a healthy young population living in the area of southern Podlasie, Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 21(3).
- Parola, P., & Raoult, D. (2001). Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clinical infectious diseases*, 32(6), 897-928.
- Perronne, C. (2014). Lyme and associated tick-borne diseases: global challenges in the context of a public health threat. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 4, 74.
- Pfister, H.-W., & Rupprecht, T. A. (2006). Clinical aspects of neuroborreliosis and post-Lyme disease syndrome in adult patients. *International Journal of Medical Microbiology*, 296, 11-16.
- Polat, E., Turhan, V., Aslan, M., Müsellim, B., Onem, Y., & Ertuğrul, B. (2010). First report of three culture confirmed human Lyme cases in Turkey. *Mikrobiyoloji bulteni*, 44(1), 133-139.
- Pritt, B. S., Respicio-Kingry, L. B., Sloan, L. M., Schrieffer, M. E., Replogle, A. J., Bjork, J., . . . Neitzel, D. F. (2016). *Borrelia mayonii* sp. nov., a member of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex, detected in patients and ticks in the upper midwestern United States. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(11), 4878.
- Rad, A. Y., & Hekimler, K. (2007). Seroepidemiologic Study On Lyme Borreliosis In Isparta Region In Turkey.pdf.
- Rauer, S., Kastenbauer, S., Fingerle, V., Hunfeld, K.-P., Huppertz, H.-I., & Dersch, R. (2018). Lyme neuroborreliosis. *Deutsches Ärzteblatt International*, 115(45), 751.
- Rizzoli, A., Hauffe, H. C., Carpi, G., Vourc'h, G., Neteler, M., & Rosa, R. (2011). Lyme borreliosis in Europe. *Eurosurveillance*, 16(27), 19906.
- Robertson, J., Gray, J., & Stewart, P. (2000). Tick bite and Lyme borreliosis risk at a recreational site in England. *European journal of epidemiology*, 16(7), 647-652.
- Russell, A. L. R., Dryden, M. S., Pinto, A. A., & Lovett, J. K. (2018). Lyme disease: diagnosis and management. *Practical Neurology*, 18(6), 455-464.
- Ryberg, B. (1984). Bannwarth's syndrome (lymphocytic meningoradiculitis) in Sweden. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 57(4), 499.
- Schoen, R. T. (2020). Lyme disease: diagnosis and treatment. *Current Opinion in Rheumatology*, 32(3), 247-254. doi:10.1097/bor.0000000000000698
- Schwartz, A. M., Hinckley, A. F., Mead, P. S., Hook, S. A., & Kugeler, K. J. (2017). Surveillance for lyme disease—United States, 2008–2015. *MMWR Surveillance Summaries*, 66(22), 1.
- Seinost, G., Dykhuizen, D. E., Dattwyler, R. J., Golde, W. T., Dunn, J. J., Wang, I.-N., . . . Luft, B. J. (1999). Four clones of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto cause invasive infection in humans. *Infection and immunity*, 67(7), 3518-3524.
- Sen, E., Uchishima, Y., Okamoto, Y., Fukui, T., Kadosaka, T., Ohashi, N., & Masuzawa, T. (2011). Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes*

- ricinus ticks from Istanbul metropolitan area and rural Trakya (Thrace) region of north-western Turkey. *Ticks and tick-borne diseases*, 2(2), 94-98.
- Shapiro, E. D. (2014). *Borrelia burgdorferi* (Lyme disease). *Pediatrics in review*, 35(12), 500-509.
- Shapiro, E. D. (2014). Clinical practice. Lyme disease. *N Engl J Med*, 370(18), 1724-1731. doi:10.1056/NEJMcp1314325
- Sırmatel, F., Polat, E., & Türkoğlu, Ş. A. (2015). Bilinmeyen Klinik Yönleri ile Lyme Hastalığı: Yedi Olgunun Gözden Geçirilmesi. *Mediterranean Journal of Infection Microbes and Antimicrobials*.
- Sonenshine, D. E., & Roe, R. M. (2013). Ticks, people, and animals. *Biology of Ticks Volume 1*, 1, 1.
- Sood, S. K. (2015). Lyme disease in children. *Infectious Disease Clinics*, 29(2), 281-294.
- Stanek, G., & Strle, F. (2018). Lyme borreliosis—from tick bite to diagnosis and treatment. *FEMS microbiology reviews*, 42(3), 233-258. doi:10.1093/femsre/ufx047
- Stanek, G., Wormser, G. P., Gray, J., & Strle, F. (2012). Lyme borreliosis. *The Lancet*, 379(9814), 461-473.
- Steere, A. C. (2017). Lyme Borreliosis. In D. L. Kasper & A. S. Fauci (Eds.), *Harrison's Infectious Diseases* (3rd ed., pp. 682-687). New York: McGraw-Hill Education.
- Steere, A. C., Coburn, J., & Glickstein, L. (2004). The emergence of Lyme disease. *The Journal of clinical investigation*, 113(8), 1093-1101.
- Steere, A. C., Levin, R. E., Molloy, P. J., Kalish, R. A., Abraham Iii, J. H., Liu, N. Y., & Schmid, C. H. (1994). Treatment of Lyme arthritis. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 37(6), 878-888.
- Steere, A. C., Malawista, S. E., Snyderman, D. R., Shope, R. E., Andiman, W. A., Ross, M. R., & Steele, F. M. (1977). An epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three Connecticut communities. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 20(1), 7-17.
- Steere, A. C., Schoen, R. T., & Taylor, E. (1987). The clinical evolution of Lyme arthritis. *Annals of internal medicine*, 107(5), 725-731.
- Steere, A. C., Sikand, V. K., Schoen, R. T., & Nowakowski, J. (2003). Asymptomatic Infection with *Borrelia burgdorferi*. *Clinical infectious diseases*, 37(4), 528-532. doi:10.1086/376914
- Steere, A. C., Strle, F., Wormser, G. P., Hu, L. T., Branda, J. A., Hovius, J. W., . . . Mead, P. S. (2016). Lyme borreliosis. *Nature reviews Disease primers*, 2(1), 1-19.
- Strle, F., Nelson, J. A., Ruzic-Sabljic, E., Cimperman, J., Maraspin, V., Lotric-Furlan, S., . . . Picken, R. N. (1996). European Lyme borreliosis: 231 culture-confirmed cases involving patients with erythema migrans. *Clinical infectious diseases*, 23(1), 61-65.
- Strle, F., & Stanek, G. (2009). Clinical manifestations and diagnosis of Lyme borreliosis *Lyme Borreliosis* (Vol. 37, pp. 51-110): Karger Publishers.
- Strle, F., Stupica, D., Bogovič, P., Visintainer, P., & Wormser, G. P. (2018). Is the risk of early neurologic Lyme borreliosis reduced by preferentially treating patients with erythema migrans with doxycycline? *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 91(2), 156-160.
- Summer, G., & Rupprecht, T. (2019). Neurologic manifestations of Lyme borreliosis. *Revue Neurologique*, 175(7-8), 417-419.
- Sykes, R. A., & Makiello, P. (2016). An estimate of Lyme borreliosis incidence in Western Europe†. *Journal of Public Health*, 39(1), 74-81. doi:10.1093/pubmed/fdw017
- Tanır, G., Özgelen, Ş., & Tuygun, N. (2008). Kenelerin Biyolojik Özellikleri, Kene İle Bulaşan Hastalıklar ve Türkiye'deki Epidemiyolojik Veriler. *Journal of Pediatric Infection/Cocuk Enfeksiyon Dergisi*, 2(3).
- Trevisan, G., Bonin, S., & Ruscio, M. (2020). A practical approach to the diagnosis of Lyme borreliosis: from clinical heterogeneity to laboratory methods. *Frontiers in medicine*, 265.
- Turan, C., & Hacımustafaoğlu, M. (2020). Kene Isırığı. doi:10.5578/ced.202033
- Uyanık, M. H., Yazgi, H., & Ayyıldız, A. (2009). ERZURUM YÖRESİNDE LYME SEROPOZİTİFLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, 23(2), 69-72.
- Van der Hammen, L. (1983). Notes on the comparative morphology of ticks (Anactinotrichida: Ixodida). *Zool Meded*, 57, 209-242.

- Wilhelmsson, P., Fryland, L., Lindblom, P., Sjöwall, J., Ahlm, C., Berglund, J., . . . Nordberg, M. (2016). A prospective study on the incidence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection after a tick bite in Sweden and on the Åland Islands, Finland (2008–2009). *Ticks and tick-borne diseases*, 7(1), 71-79.
- Wilhelmsson, P., Lindblom, P., Fryland, L., Nyman, D., Jaenson, T. G., Forsberg, P., & Lindgren, P.-E. (2013). Ixodes ricinus ticks removed from humans in Northern Europe: seasonal pattern of infestation, attachment sites and duration of feeding. *Parasites & vectors*, 6(1), 1-11.
- Wilske, B., Fingerle, V., Herzer, P., Hofmann, A., Lehnert, G., Peters, H., . . . Weber, K. (1993). Recombinant immunoblot in the serodiagnosis of Lyme borreliosis. *Medical microbiology and immunology*, 182(5), 255-270.
- Wilske, B., Fingerle, V., & Schulte-Spechtel, U. (2007). Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 49(1), 13-21. doi:10.1111/j.1574-695X.2006.00139.x
- Wojciechowska-Koszko, I., Maczynska, I., Szych, Z., & Giedrys-Kalemba, S. (2011). Serodiagnosis of borreliosis: indirect immunofluorescence assay, enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblotting. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 59(1), 69-77. doi:10.1007/s00005-010-0111-0
- Wormser, G., Nadelman, R., Nowakowski, J., & Schwartz, I. (2001). Asymptomatic *Borrelia burgdorferi* infection. *Medical hypotheses*, 57(4), 435-438.
- Wormser, G. P., Dattwyler, R. J., Shapiro, E. D., Halperin, J. J., Steere, A. C., Klempner, M. S., . . . Nadelman, R. B. (2006). The Clinical Assessment, Treatment, and Prevention of Lyme Disease, Human Granulocytic Anaplasmosis, and Babesiosis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases*, 43(9), 1089-1134. doi:10.1086/508667
- Wormser, G. P., McKenna, D., Carlin, J., Nadelman, R. B., Cavaliere, L. F., Holmgren, D., . . . Nowakowski, J. (2005). Brief communication: hematogenous dissemination in early Lyme disease. *Annals of internal medicine*, 142(9), 751-755.
- Yeung, C., & Baranchuk, A. (2019). Diagnosis and treatment of Lyme carditis: JACC review topic of the week. *Journal of the American College of Cardiology*, 73(6), 717-726.