

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MULTİPL SKLEROZLU HASTALARDA
Borrelia burgdorferi
ANTİKORLARININ ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

Nilay GÜÇLÜER
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof.Dr. İbrahim H. ÖZEROL

MALATYA-2014

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MULTİPL SKLEROZLU HASTALARDA
Borrelia burgdorferi
ANTİKORLARININ ARAŞTIRILMASI

NİLAY GÜÇLÜER

Danışman Öğretim Üyesi: Prof.Dr. İbrahim H. ÖZEROL

Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından
2011/169 proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA-2014

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı, Danışman

Prof. Dr. İbrahim Halil ÖZEROL
İnönü Üniversitesi



Üye

Prof. Dr. Mehmet Sait TEKEREKOĞLU
İnönü Üniversitesi



Üye

Prof. Dr. Elif ÖZEROL
İnönü Üniversitesi



Üye

Prof. Dr. Selma AY
İnönü Üniversitesi



Üye:

Prof. Dr. Hatice ÖZBİLGE
Erciyes Üniversitesi



ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu/...../ 20.... tarih ve 20.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir. .

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Enstitü Müdür V.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve Doktora eğitimim sürecinde danışmanlığımı üstlenen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve çalışmalarımda her türlü yardım ve kolaylığı gösteren tez hocam Sayın Prof.Dr. İbrahim H. ÖZEROL' a, akademik anlamda bilgilerinden faydalandığım ve anabilim dalına ilk geldiğim günden itibaren manevi olarak bir baba ilgi ve şefkati gösteren Sayın Prof. Dr. M.Sait TEKEREKOĞLU' na, tezim boyunca iyi niyetini esirgemeyen Tez izleme komitesi üyesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof.Dr. Elif ÖZEROL' a, tüm ders ve tez sürecimde bilgilerinden faydalandığım Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri saygıdeğer hocalarım Sayın Prof.Dr.Selma AY, Prof.Dr. Çiğdem KUZUCU, Doç.Dr. Barış OTLU ve Doç.Dr. Yusuf YAKUPOĞULLARI' na, projemizin gerçekleşmesinde yardımcı olan Nöroloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Cemal ÖZCAN'a ve asistanı Dr. Hamit ÇELİK' e, tezimin laboratuvar çalışmalarına yardımcı olan Düzen Laboratuvarı Mikrobiyoloji Laboratuvarı sorumlusu Uzman.Dr. Tutku TANYEL' e, laboratuvarında çalıştığım süre boyunca bilgisi ile olduğu kadar manevi anlamda da desteğini esirgemeyen Laboratuvar şefimiz Uzman Biyolog Neşe ALTINIŞIK' a ve tüm çalışma arkadaşlarıma,

Aynı zamanda maddi, manevi desteklerini eğitim hayatım boyunca hissettiğim, her zaman sıcak bir ortamda çalışmalarımı devam ettirmeme destek olan sevgili annem, babam ve ablama; aynı zamanda sevgili eşime teşekkür ederim.

ÖZET

Ixodes cinsi kene ve *Borrelia burgdorferi* varlığında gelişen Lyme hastalığı ülkemizde bildirim zorunlu hastalıklar arasında olmayıp, seroprevelansına yönelik çok az sayıda veri bulunmaktadır. Çalışmamızda benzer nörolojik semptomlar ile seyreden Lyme ile multipl skleroz (MS) hastalıklarının hekimler tarafından ayrımının yapılması gerektiğine dikkat çekmek amaçlandı.

Bu amaçla on dört aylık periyotta üniversitemiz hastanesi Nöroloji Anabilim Dalı MS polikliniğine başvuran 100 hastadan serum örneği alarak öncelikle ELISA yöntemi ile *B.burgdorferi* IgM ve IgG pozitifliğini saptadık. *B.burgdorferi* IgM pozitifliği 100 hastadan 8'inde (%8) saptanırken IgG antikoları 100 hastadan 2'sinde (%2) saptandı. Western blot yöntemi ile yapılan doğrulama testinde IgM pozitifliğinin 3 (%3) hastada olduğu IgG pozitifliğinin ise (%2) değişmediği görüldü. Yapılan istatistiksel analizlerde bağımsız değişkenler olan yaş, cinsiyet, meslek grubu, kene öyküsü, ECM varlığı, ağrı ve MS yılı sonuçları ile ELISA ile western blot sonuçları arasında istatistiksel açıdan elde edilen sonuçlarda anlamlı bir farklılığın oluşmadığı saptandı. Çalışmamızda IgM antikolarına ait ELISA testinde pozitif çıkan sonuçlar western blot yöntemi ile doğrulandığında 5 adet yanlış pozitiflik saptanmıştır. Fakat bu durum çalışmanın değişkenleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa yol açmamıştır ($p>0,05$). *B.burgdorferi* pozitif saptadığımız numunelerde sifiliz pozitifliğine rastlamadık.

B.burgdorferi IgG değişkenine göre 0-10 yıl ve 11 yıl ve üzerindeki sürelerde MS hastası olanlar arasında anlamlı farklılık bulundu ve p değeri 0.03 olarak hesaplandı. Sıra ortalamaları dikkate alındığında 0-10 yıldır MS hastası olanların *B.burgdorferi* IgG antikolarının daha yüksek olduğu görülmektedir. Western blot yöntemi ile ELISA yöntemi karşılaştırıldığında tüm elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$).

Sonuç olarak; tedavi edilebilir bir hastalık olan Lyme hastalığının nörolojik bulgular görülen hastalıklar düşünüldüğünde her ne kadar az sayıda hastada pozitif saptansa dahi klinisyen tarafından göz önünde bulundurulması gerektiği kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: *B.burgdorferi*, multipl skleroz, ELISA, western blot

ABSTRACT

INVESTIGATION OF *Borrelia burgdorferi* ANIBODIES IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS

Lyme disease develops in the presence of both Ixodes ticks and *B.burgdorferi*. In our country Lyme isn't among the notifiable diseases and very few data are available for seroprevalence. In our study we aimed to determine between Lyme and multiple sclerosis that have similar neurological symptoms by doctors was to draw attention to the need to differentiate.

For this purpose, in the fourteen-month period, serum samples from 100 MS patients who were under observation in the department of Neurology at the university hospital and first examined *B.burgdorferi* IgM and IgG positivity by ELISA method. *B.burgdorferi* IgM positivity in 8 of 100 patients (8%) and IgG in 2 of 100 patients (2%) were detected. Western blot confirmatory test performed with 3 of 8 IgM (3%) positive patients, while IgG positivity (2%) didn't change. Statistical analyzes based on arguments that are age, gender, occupation group, tick bite history, presence of ECM, pain and MS disease duration with the results by differences ELISA and western blot unchanged statistical result. In IgM ELISA result confirmed by western blot method and 5 false positive results found but statistically significant differences were not found ($p>0.05$). The samples that found positive screened for syphilis and any samples were positive for syphilis.

According to *B.burgdorferi* IgG variant; period of 0-10 years and 11 years above, there were no significant differences between the MS patients that were found as p values calculated 0.03. Considering as average of 0-10 years with MS, *B.burgdorferi* IgG antibodies is observed to be higher. Western blot and ELISA method comparison results didn't differ ($p>0.05$).

As a result; although small number of patients were positive a treatable Lyme disease, should be considered by clinicians that has given neurological findings, believe that.

Key Words: *B.burgdorferi*, multiple sclerosis, ELISA, western blot

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
TABLOLAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. LYME HASTALIĞININ TANIMI:.....	2
2.2. LYME HASTALIĞININ TARİHÇESİ:	2
2.3. <i>B.burgdorferi</i> TAKSONOMİSİ:	4
2.4. <i>B.burgdorferi</i> MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ:.....	6
2.5. LYME HASTALIĞININ PATOGENEZ ve PATOFİZYOLOJİSİ.....	8
2.6. VEKTÖRÜN İLETİMİ VE HAYVAN KONAKLARI.....	11
2.7. LYME EPİDEMİYOLOJİSİ:.....	13
2.8. <i>Borrelia burgdorferi</i> KLİNİK BULGULARI ve YAPTIĞI HASTALIKLAR:.....	15
2.9. <i>Borrelia burgdorferi</i> LABORATUVAR TANISI:	17
2.9.1. Mikrobiyolojik Tanı İçin Alınacak Örnekler:.....	18
2.9.2. Mikroskopik Yöntemler:	18
2.9.3. Kültür Yöntemleri:.....	18
2.9.4. Serolojik Yöntemler	21
2.9.5. ELISA	22
2.9.6. Moleküler Yöntemler.....	23

2.9.7. Western blot yöntemi.....	24
2.9.8. Analitik metodlar	25
2.9.9. Proteomikslerle ilgili geliştirilmekte olan metodlar:	25
2.9.10. Ksenodiyagnostik Metod:	25
2.10. <i>Borrelia burgdorferi</i> KORUNMA YOLLARI ve TEDAVİSİ:	25
2.11. MULTİPLE SKLEROZ:	31
2.12. MULTİPL SKLEROZA NEDEN OLABİLECEK İNFEKSİYÖZ ETKENLER:	32
2.13. LYME VE MS:	34
3.GEREÇ VE YÖNTEM	36
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	53
7. KAYNAKLAR	54
EKLER:.....	65
ÖZGEÇMİŞ	67
ETİK KURUL ONAYINA GEREK OLMADIĞINA DAİR BELGE.....	70

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ACA	: Acrodermatidis Chronica Atrophicans
ADEM	: Akut Disemine Ensefalomiyelit
BBK32	: Fibronektini Bağlayan Protein
Bgp	: Proteoglikanı Bağlayan Protein
BL	: Borrelial Lenfositoma
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
BSK	: Barbour-Stoenner- Kelly Besiyeri
CDC	: Centers for Disease Control and Infection
DbpA	: Dekorine Bağlanan Protein A
DbpB	: Dekorine Bağlanan Protein B
DEET	: N,n-dietilmetanotoluamid
ECM	: Eritema Chronicum Migrans
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FDA	: Food and Drug Administration
GalC	: Glikolipid Galaktoserebrosit
IFA	: Immunofloresans Assay
ILADS	: International Lyme and Associated Diseases Society
KKKA	: Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MS	: Multipl Skleroz
OspA	: Dış Yüzey Proteini A
P66	: İntegrini Bağlayan Protein
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PFGE	: Pulsed-Field Gel Electrophoresis
PncA	: Plazmidle Kodlanmış Nikotinamidaz

TMB/H₂O₂ : Kromojen/substrat

VI_sE : Değişken Majör Protein Benzeri Sekans

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	<i>Borrelia burgdorferi</i> gram boyama görüntüsü.....	6
Şekil 2.2.	<i>Ixodes scapularis</i> Cinsi Kenelerin Büyüklükleri	14
Şekil 2.3.	Lyme Hastalığının Dünyada Coğrafik Dağılımı	15
Şekil 2.4.	Eritema Kronikum Migrans Lezyonu	16
Şekil 3.1.	<i>Borrelia burgdorferi</i> İçin Spesifik ELISA Stripleri.....	37
Şekil 3.2.	<i>Borrelia burgdorferi</i> IgG ve IgM İmmünblot Yöntemi Gen Bölgeleri. .	38

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1.	Spiroketlerin Taksonomisi	5
Tablo 2.2.	Ülkemizdeki Kenelerin Dağılımı	12
Tablo 2.3.	Laboratuvar Tanı Yöntemleri	20
Tablo 2.4.	<i>Borrelia burgdorferi</i> Aşı Çalışmaları	30
Tablo 2.5.	MS ile ilişkili olduğu düşünülen çeşitli mikroorganizmalar.....	33
Tablo 4.1.	Bağımsız Değişkenler.	40
Tablo 4.2.	MS li Hastalarda <i>B.burgdorferi</i> IgM ve IgG Pozitifliğinin Cinsiyet Değişkenine İlişkin Bulguları.	41
Tablo 4.3.	MS li Hastalarda <i>B.burgdorferi</i> IgM ve IgG Pozitifliğinin Ağrı Varlığı Değişkenine İlişkin Bulguları.	41
Tablo 4.4.	MS li Hastalarda <i>B.burgdorferi</i> IgM ve IgG Pozitifliğinin Eritema Migrans Benzeri Lezyon Değişkenine İlişkin Bulguları.	42
Tablo 4.5.	MS li Hastalarda <i>B.burgdorferi</i> IgM ve IgG Pozitifliğinin Kene Isırığı Öyküsü Değişkenine İlişkin Bulguları.....	42
Tablo 4.6.	MS li Hastalarda <i>B.burgdorferi</i> IgM ve IgG Pozitifliğinin Meslek Değişkenine İlişkin Bulguları	43
Tablo 4.7.	MS li Hastalarda <i>B.burgdorferi</i> IgM ve IgG Pozitifliğinin MS Tanı Yılı Değişkenine İlişkin Bulguları.	43

1.GİRİŞ

Lyme hastalığı ilk olarak 1977 yılında küçük bir yerleşim alanı olan Lyme kasabasında tanımlanmış bir hastalıktır. Hastalık etkeni ise ilk olarak *Ixodes* cinsi kenelerden izole edilmiştir. Ülkemizde ise ilk olarak 1990'lı yıllarda tespit edilmiştir (1, 2, 3).

Lyme hastalığı etkeni *Borrelia burgdorferi* helikal 0.2-0.5 µm eninde, 3-20 µm boyunda 15-19 periplazmik flajellaya sahip mikroaerofil bir mikroorganizmadır. Üretilmesi için özel besiyerlerine gerek duyulur (1).

Lyme hastalığı ve MS birbirine benzer nörolojik semptomlarla seyreden iki farklı hastalıktır. Günümüzde MS için tam olarak iyileşmeyi sağlayan bir tedavi rejimi yoktur. Ancak tedavide MS li hastaların semptomlarını azaltıcı ağır tedavi rejimleri uygulanmaktadır. Lyme hastalığı ise *Borrelia* cinsi mikroorganizmalardan kaynaklı olduğu için çeşitli antibiyotiklerle kesin tedaviye ulaşılmaktadır. Multipl sklerozda kesin laboratuvar tanısı olmadığı, sıklıkla tanı klinik olarak konulduğu için ve *Borrelia* sık bir enfeksiyon olmadığı ve hekimler hastalarda şüphelenmediği için bu iki hastalığın ayrımı yapılamamaktadır dolayısıyla bu iki hastalık tanısız olarak birbiriyle karışabilmektedir.

Borrelia burgdorferi' ye bağlı gözlenen hastalıklar Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) yaygın olarak görülmekte olup bildirim zorunlu hastalıklar arasındadır. Bu enfeksiyonlar üzerinde çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Ülkemizde ise çalışmalar genellikle olgu sunumu ve serolojik çalışmalarla sınırlı kalmış ve ayrıca bildirim zorunlu hastalıklar arasına alınmamıştır. O nedenle bu çalışmada, multipl sklerozlu (Multiple sclerosis, MS) hastalarda *B.burgdorferi* antikörlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. LYME HASTALIĞININ TANIMI:

Lyme hastalığı, kuzey yarım kürede gözlenen ve kene ısırığına bağlı infeksiyonların büyük bir kısmından sorumlu olan *B.burgdorferi* sensu lato kompleksi spiroketlerin neden olduğu özellikle sifilize benzer multisistemik tutulumları olan ve geç komplikasyonları ile kronik inflamatuvar yanıtı yol açabilen zoonotik bir hastalıktır (4, 5).

İnfekte kenenin ısırması ile insana bulaşır ve tipik belirtileri ateş, baş ağrısı, yorgunluk ile erithema chronicum migrans (ECM) denilen karakteristik bir deri döküntüsüdür. Eğer tedavi edilmezse infeksiyon eklemler, kalp ve sinir sistemine yayılabilir. Lyme hastalığı fiziki muayene bulguları (örn; döküntü), keneye maruziyet, endemik bölgede yaşamak ya da o bölgelere seyahate dayalı olarak laboratuvar testleri ile koyulabilmekte ve çoğu hasta antibiyotik ile kısa sürede tedavi edilebilmektedir (6).

2.2.LYME HASTALIĞININ TARİHÇESİ:

Buchwald'ın 1883 yılında kene ısırığı sonrası yaygın idiyopatik deri atrofişi olarak adlandırdığı, 1902'de ise Herxheimer ve Hartman'ın "acrodermatidis chronica atrophicans" (ACA) olarak adlandırdığı olgular Lyme hastalığına ait bilinen ilk kayıtlardır (8). İsviçre'de Afzelius 1909 yılında, tanımladığı bir olguda 0,2-2 cm çaplı, yer değiştiren, ortası açık renkli, halka şeklinde bir lezyon olduğunu göstermiş ve *Ixodes ricinus* türü kene ısırıklarından sonra oluşan bu lezyonu erithema chronicum migrans (ECM) olarak adlandırılmıştır (9). 1921 yılında Lipschütz, Avusturya'da bu hastalığın vektörünün *Ixodes cinsi* keneler olduğunu belirtilmiştir (10).

1948'de Eritema migranslı hastaların cilt biyopsilerinde spiroketler gözlenmiştir. Holstram tarafından 1951 yılında bu hastalar penisilin ile tedavi edilmiştir. Yine aynı dönemde ECM'nin pek çok nörolojik sendrom ve menenjit ile birlikte olduğu gösterilmiştir. 1955'de Binder, 1978'de Asbrink ve arkadaşları ECM biyopsi preparatlarında bu hastalığa etken olan mikroorganizmanın bulaşabilir bir bakteri olduğunu göstermişlerdir (11).

Lyme hastalığı ilk olarak 1977 yılında, Kuzey Amerikadaki küçük bir yerleşim alanı olan Lyme kasabasında juvenil romatoid artrit olduğu düşünülen bir grup çocukta

Stere ve ark. tarafından tanımlandı (1). Steere ve ark. Lyme kasabasının bazı bölgelerinde ve mevsimsel olarak yaz ile erken sonbahar arasında sık olduğunu ayrıca bu hastalarda tipik deri lezyonları olduğunu tespit etmişlerdir. Hastalarda dizlerde asimetrik şişlik ve ağrı atakları gözlenmiştir. Artropod aracılığı ile bulaşan bu hastalığa Lyme artriti ismi verilmiştir(12). W.Burgdorfer ise 1982 yılında Kelly'nin *Borrelia besiyerinin* bir modifikasyonu olan Barbour-Stoenner-Kelly (BSK) besiyerini kullanarak şu anda kendi adı ile anılan bu mikroorganizmayı tanımlayıp Lyme hastalığına neden olan bu yeni bakteri türünü izole etmiştir (13).

Lyme hastalığı olan hastalardan alınan serum numunelerinde bu ajana karşı antikolar indirekt immunfloresan yöntemi ile gösterilmiş ve yeni keşfedilen spiroketin Lyme hastalığının etyolojisinde rol aldığı gösterilmiştir (2).

Borrelia burgdorferi izolasyonundan 10 yıl sonra ise 3 farklı genomik tür tespit edilmiştir. Daha sonra 1990'larda farklı bölgelerden 7 tür daha bu cinse katılırken son olarak 2010 yılına kadar 8 farklı tür daha belirlenmiş ve on sekiz tür tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bu on sekiz genomik türden *B.afzelii*, *B.burgdorferi* ve *B.garinii* Lyme hastalığından sorumlu türler olarak belirlenmiştir (5).

Amerika ve Avrupa'da en sık rastlanan vektör kaynaklı infeksiyon olan Lyme hastalığı, ilk olarak ülkemizde 1990 yılında Karadeniz ve Ege bölgelerinden Çakır ve ark. ile Köksal ve ark. tarafından bildirilmiştir. Hastalar fenoksimetil penisilin veya tetrasiklin ile tedavi edilerek iyileştirilmiştir (14). Türkiye'de 2003 yılında ilk kez saf kültür olarak ayırımının yapılması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada Trakya ve İstanbul çevresinden toplanan kenelerden *B.burgdorferi*'nin genotürleri moleküler yöntemlerle tespit edilip antijenik yapıları incelenmiş ve ülkemizde varlığı kesinleştirilmiştir (15).

Yakın tarihte ise İstanbul'dan serolojik tanıya ek olarak kültürde etkenin üretildiği 3 Lyme hastalığı olgusu bildirilmiştir. Bu olgulardan ikisi İstanbul'da yaşayan olgular iken diğer üçüncü olgu bu infeksiyonu ABD'nde iken kazanmış bir olgudur. Bu olgulardan birincisinde kanda, ikinci olguda beyin omurilik sıvısında (BOS), son olarak üçüncü olgu da ise ECM lezyonundan etken mikroorganizmanın ülkemizde ilk olarak üretimi gerçekleştirilmiştir (17).

2.3. *B.burgdorferi* TAKSONOMİSİ:

Borrelia cinsi Spirochaetales takımı içerisinde yer alır. Bu takım majör insan patojenlerini içerir. Tümü helikal yapıda, hareketli bakterilerdir. Çoğu spiroketin flagellası dış kılıf olarak adlandırılan, çok katmanlı bir dış membranla kaplıdır (1).

Spiroket türleri sifiliz ve Lyme hastalığı gibi çok sayıda önemli hastalığa sebep olmaktadır. Endoflagellaları dışında spiroketleri diğer ailelerden ayırt etmede herhangi bir moleküler ya da biyokimyasal özellik bulunmamaktadır. Bu amaçla çok sayıda filogenetik analiz yapılmıştır. Buna göre bu aile içerisinde 38 korunmuş bölge tespit edilmiştir. Bunlar içerisinde 16 bölgenin Spirochetales takımı içerisinde diğer cinslerden farklı olarak *Borrelia* cinsini diğer cinslerden ayırt etmede kullanılabileceği saptanmıştır (5).

“Pulsed field” jel elektroforezi (PFGE) ile *B.burgdorferi* sensu lato suşlarının genomik özellikleri araştırılmıştır. Buna göre esas olarak *B.burgdorferi* sensu lato kompleksinin 18 üyeden oluştuğu saptanmıştır. Bunlardan 8’i yakın tarihte (2010 yılında) bulunmuş olan türlerdir. Tüm *Borrelia* cinsi içerisinde sadece *B.afzelii*, *B.burgdorferi* ve *B.garinii*’nin lokalize, disemine ve kronik Lyme hastalığına sebep olduğu yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır (5). Tablo 2.1’de spiroket ailesinden hastalık yapan mikroorganizmalar etken, lokalizasyon ve yaptığı hastalık yönünden taksonomik olarak gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Spiroketlerin Taksonomisi (1,5)

Mikroorganizma	Coğrafi Lokalizasyon	Yaptığı Hastalık
Spirochaetales Takımı		
<i>Spirochaetaceae</i> Ailesi		
Genus III. <i>Treponema</i>		
<i>T. pallidum</i> ssp <i>pallidum</i>	Dünya genelinde	Venereal sifiliz
<i>T. pallidum</i> ssp <i>perteneu</i>	Tropikal Asya, Afrika, Güney ve Merkez Amerika	Yaws
<i>T. pallidum</i> ssp <i>epidemicum</i>	Africa, Güney Asya, Orta Doğu	Endemik-nonvenereal sifiliz
<i>T. carateum</i>	Merkez ve Güney Amerika	Pinta
<i>T. pallidum</i> – oral spiroket benzeri	Dünya genelinde	Nekrotizan gingivitis
Genus IV. <i>Borrelia</i>		
<i>Borrelia</i> spp.	Dünya genelinde	Kene kaynaklı relapsing fever
<i>Borrelia recurrentis</i>	Güney Amerika, Avrupa, Afrika, Asya	Bit kaynaklı relapsing fever
<i>Borrelia burgdorferi</i> Sensu Lato (<i>B. burgdorferi</i> , <i>B. afzelii</i> , <i>B. garinii</i>)	Kuzey Amerika, Avrupa	Lyme hastalığı
<i>Leptospiraceae</i> Ailesi		
Genus I. <i>Leptospira</i>		
<i>Leptospira interrogans</i>	Dünya genelinde	Leptospiroz

2.4. *B.burgdorferi* MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ:

Borrelia burgdorferi helikal diğer spiroketlere oranla daha büyük (0.2-0.5 μm eninde, 3-20 μm boyunda), periplazmik flajellaya sahip mikroaerofil bir mikroorganizmadır (1). Periplazmik silindir ve dış zarf arasında uzanan ve türe bağlı olarak sayısı değişen periplazmik flajella mikroorganizmanın dönerek hareket etmesini sağlamaktadır (4). Bakterinin dış yüzeyinde, "S" tabakası adı verilen mukopolisakkarit örtü görülür. Bu örtünün altında, 6-14 adet iç flajellanın bulunduğu periplazmik boşluğu çevreleyen üç katmanlı dış zar vardır. İç flajellalar, spiroketin yılan şeklinde kıvrılmasını ve burgu hareketi ile yer değiştirmesini sağlar (16).

B.burgdorferi hareketlidir ve taze hazırlanmış olan direkt preparatlarda bu hareketi gözlenebilir. Bu cinsin üyeleri zayıf Gram negatif boyanan spiroketlerdir (Şekil 2.1). Canlı mikroorganizmalar karanlık alan veya faz kontrast mikroskobu incelemelerinde gözlenebilir. Anilin boyalar (örn: Giemsa ve Wright boyası) ile boyandığı takdirde tekrarlayan ateşli hastalara ait periferik yaymalarda ışık mikroskobu ile bakteri kolaylıkla görülmektedir. Fakat Lyme hastalığı olanlarda yaymada görülmesi zordur (4).



Şekil 2.1. *Borrelia burgdorferi* gram boyama görüntüsü (1).

Preac-Mursic ve arkadaşları L form varyantı olan *B.burgdorferi*'nin sferoplast şeklini, Brorson ve arkadaşları ise *B.burgdorferi*'nin kist veya round cisimcik olarak adlandırılan yapılarını gösterdiler ve bu yapılar sayesinde spiroketin nasıl canlı kalabildiğini açıkladılar (18, 19).

B.burgdorferi tüm genomu sekanslanan ilk spiroketdir (20). Bu analizler *B.burgdorferi*'nin prokaryotlar arasında nadir olan bazı genetik yapılara sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu özellikleri sıralayacak olursak;

I. Bakteri içerisinde doğrusal bir kromozom ve çoklu linear ve sirküler plazmidler bulunur.

II. Tek bir 16S rRNA (*rrs*) ve sıralı şekilde tekrarlayan 23S (*rrl*) ve 5S (*rrf*) rRNA genlerinden oluşan eşsiz bir rRNA gen kümesi organizasyonu gözlenmiştir.

III. %4.9'u kromozomal ve %14.5'i plazmid genleri olmak üzere 150'den fazla lipoprotein kodlayan gene sahiptir. Günümüze kadar sekansı belirlenmiş diğer bakteriyel genomlar içerisinde bu oran anlamlı düzeyde daha yüksektir.

IV. Plazmid DNA'sının önemli bir kısmı evrimsel bozulmaya uğramıştır.

V. Plazmid genleri arasında DNA yeniden düzenleme potansiyeli olduğuna dair çok sayıda kanıt bulunmaktadır.

VI. Amino asitler, yağ asitleri, enzim kofaktörleri ve nükleotidlerin sentezi için gerekli enzimleri kodlayan genlerde eksiklik vardır.

Borrelia burgdorferi'nin trikarboksilik asit döngüsü enzimleri veya elektron transportu için gereken genlerinde de eksiklik mevcuttur. Bu defektler bu mikroorganizmanın parazitik doğasını açıklamaktadır (20, 21, 22).

Kromozomal genlerin % 6 kadarının motilite ve kemotaksiste rol aldığı tespit edilmiştir (23). Spiroketin flajellası diğer organizmaların aksine dış membranda gizlidir. Bu durum spiroketin flajellasını korur ve konak immün sistem tarafından algılanmasını önler. Ayrıca spiroketin falajella morfolojisi ve motilitesi diğer mikroorganizmaların hareket edemediği visköz sıvılarda hareket edebilmesini sağlar (22, 24, 25, 26, 27).

Lyme sebebi olan üç patojen *Borrelia* türü, konağın aktif immün cevabına rağmen insanları ve diğer memelileri infekte edebilmektedir. Farklı türlerde infeksiyon oluşturabilme yeteneği büyük olasılıkla mikroorganizma genomunun özel yapısından kaynaklanmaktadır. Bu özelliğin *Borrelia* genomu içerisinde bulunan çok sayıda

kodlanmış plazmidlerin birbiriyle yüksek oranda rekombinasyonu ile bağlantılı olduğunu düşündürmektedir. Bakteri kromozomu lineer DNA molekülü biçiminde olup bu durum başka herhangi bir bakteri türünde tespit edilmemiştir (22).

Borrelia plazmidleri dairesel ve doğrusal olarak 2 tiptir. Çok sayıda plazmid içermekle birlikte bu kadar çok sayıda plazmid içeren başka bir bakteri gözlenmemiştir. Daha ilginç olan ise, bu kadar çeşitlilik içinde *Borrelia* cinsinde herhangi bir plazmid diğeri ile %50'den az oranda benzerlik göstermektedir. Bu fenomen bakterinin farklı ortamlara adaptasyon sağlamasını ve bunun yanı sıra patojenitesinin kaynağını oluşturabilir. Omurgalı ve omurgasız geniş bir konak aralığının olmasında, esasen *Borrelia*'da bulunun çok sayıda plazmidlerce kodlanan faktörlerin etkisi olduğu tespit edilmiştir. Plazmidler azaldığında virülansın da azaldığı saptanmıştır (22).

2.5. LYME HASTALIĞININ PATOGENEZ ve PATOFİZYOLOJİSİ

Memelilerde *B.burgdorferi* kaynaklı infeksiyonun nedenini araştırmak için ilk olarak bakterinin seri pasajları yapılmış ve spesifik plazmidlerin kaybı ile enfektivite kaybı arasındaki korelasyon değerlendirilmiştir. *B.burgdorferi* analizi için moleküler ve genetik teknikler kullanılmaya başlanınca bakteriye ait genler; memeli hücrelerini infekte eden, inaktivasyon ve restorasyon genleri olarak üç grupta tanımlanmıştır. Bu genlerin ürünleri fizyolojik olanlar ve konak üzerinde hayatta kalmayı sağlayanlar olarak ayrılabilir. *B.burgdorferi* sınırlı bir biyosentetik aktiviteye sahip olduğundan diğer birçok bakterinin sentezleyebildiği nütrientler için konağa (veya kültür ortamına) ihtiyaç duyar. Plazmidle kodlanmış nikotinamidaz (PncA) gibi bazı enzimler bakterinin memeli konakta hayatta kalması için hayati önem taşır. *B.burgdorferi*'nin diğer bir sıra dışı özelliği ise intraselüler demir içermemesidir ve enzimler için kofaktör olarak demir kullanmaz dolayısıyla demirden fakir memeli ortamda hayatta kalması kolaylaşır (28, 29, 30, 31, 32, 33).

Dış yüzey proteini A (OspA) ve OspB kültürde bol miktarda eksprese edilir. OspA ayrıca kene midesinde de eksprese edilir ve spiroketin tutunmasını sağlar. İnfekte kene memelide beslenmeye başlayınca OspA represe olur ve OspC sentezi indüklenir (34). In vitro OspD eksikliği kenede bakteri kolonizasyonunda 3 kat düşüşe sebep olmaktadır. Fakat ikincil bir kan emilmesinde bu değişikliğe dair kanıtlar

gözlenmemektedir. Bu nedenle OspD'nin ikincil bir role sahip olduğu düşünülmektedir (35).

Bakterinin konakta canlı kalmasını sağlayan faktörler iki gruba ayrılabilir. Konakta kolonizasyon ve doğuştan gelen immüniteye direnç sağlayan OspC gibi erken enfeksiyona katılan faktörler ve diğeri ise değişken ana protein benzeri sekans (VIsE) gibi kazanılmış bağışıklıkta etkili olan faktörleri içerir (31, 36, 37). OspC ürününün memeli enfeksiyonunun erken aşamasında gerekli olduğu gösterilmiştir ve çelişkili bir veri olarak kene tarafından etkenin taşınmasında önemli olduğu ifade edilmiştir. OspC üretimi kenenin beslenmesi ile başlar (veya iğnenin inokülasyonundan hemen sonra) ve memeli enfeksiyonunun ilk birkaç haftası sonrasında sonlanır. Bakteriler bir konakta belirlendikten sonra, OspC üretimi devamlılık için gerekli değildir (36,38).

İnsan klinik izolatlarında OspC tipleri invaziv ve noninvaziv fenotipler ile ilişkilidir. Ancak benzer çalışmalar invaziv türler arasında önceki çalışmalara oranla daha fazla çeşitlilik olduğunu ortaya koymuştur. Bu OspC sekansının invazyon üzerinde herhangi bir nedensel etkisi var mı sorusunu akla getirmektedir. Çoğu çalışmada; izolatların ek genom komponentlerinin de farklı olmasından dolayı OspC'nin dışındaki değişkenlerin kontrolü mümkün olmamıştır. Son zamanlarda invaziv OspC tiplerinin plazminojene bağlandığı gösterilmiştir. Bu durumun memelilerde ve kenelerde enfeksiyonu kolaylaştırdığı öne sürülmektedir (39, 40, 41).

Alternatif yolun aktivasyonunu bloke ederek kendi komplementlerine karşı ataktan memeli hücrelerini koruyan komplement regülatör faktörleri H ve H benzeri proteinlerinin *B.burgdorferi* proteinlerine eklenmesi dikkat çekmektedir. Bakterilerin yüzeyinin H faktörü ile kaplanmış olması enfeksiyonu kolaylaştırır, bakteriyi opsonizasyon veya konak komplementleri ile fagositoza karşı korur (42).

VIsE persistan enfeksiyon için gerekli olan bir *B.burgdorferi* proteindir. Sentezi OspC üretimi durduğu zaman başlar. Fonksiyonu bilinmemekle birlikte bu lipoprotein varyasyon için özenli bir sistemi vardır. VIsE lokusundaki varyasyon persistans için gerekli görünmektedir. Çünkü konak adaptif immün yanıtı tarafından hedefleneceğinden, esansiyel fonksiyon olarak bakteri yüzeyinde bulunması gereklidir. *B.burgdorferi*' nin memelide canlı kalmasını sağlayan proteindir (43).

Borrelia burgdorferi proteinleri arasında ECM komponentlerini bağlayanlar; dekorine bağlanan DbpA ve DbpB; fibronektine bağlanan BBK32; proteoglikana

bağlanan Bgp ve integrine bağlanan P66 bulunur. Bu proteinler *B.burgdorferi*'nin konak dokusuna göçüne ve sirkülasyondaki spiroket antikorlarının erişemediği eklemler ile deride persistan olmasına yardım etmektedir. Bunun yanı sıra eğer enfektivitede defekt varsa DbpA'dan yoksun spiroketlerin olduğu genetik çalışmalar ile gösterilmiştir (43).

ABD'nde oluşturulan Lyme çalışma grubunun yaptığı in vitro çalışmalarda *B.burgdorferi*'nin biyofilm oluşturma özelliğine sahip olduğu da gösterilmiştir. Bu özelliğe bağlı olarak etken mikroorganizmaya karşı antimikrobiallerin etkisiz olabilmesi dikkat çekicidir (44). Ayrıca, kronik infeksiyonlarda biyofilm oluşumu önemli bir etkidir. Aderan özelliğe sahip, polisakkarit yapısındaki bu matriks bakteriyi konak savunmasından korur ve persistan infeksiyonların oluşumuna sebep olur. Biyofilm oluşumu için siklik di-GMP ekspresyonu gerekmekte ve *B.burgdorferi* bu regülatör molekülü sentezleyebilmektedir. Bu nedenle diğer biyofilm oluşturan bakteriler için de geçerli olmak üzere biyofilmi hedef alan antibiyotiklerin geliştirilmesi kronik ve persistan infeksiyonların önüne geçilmesi açısından önemlidir (45).

Borrelia burgdorferi konakçı insanla nasıl ilişkiye girdiği, savunma mekanizmalarından nasıl sıyrılıp hastalık yaptığı Lyme hastalığı patogenezi tartışmalarının ana konularını oluşturmaktadır (46). Spiroket subkütan dokuya girdikten sonra, muhtemelen nöronal dokularda çeşitli klinik belirtilerle orantılı olarak duyuşal ganglionlarda, muhtemelen de endotelial ya da glial hücrelerde lokalize olurlar. Subkütan dokuda persistan kalabilecekleri gibi uzun süre canlı kalabilmek için intraselüler lokasyona da ihtiyaç duyacaklardır (47).

Kenelerin beslenmedikleri dönemlerde, bağırsaklarında yaşayan spiroketler OspA sentez ederler. Kenelerin beslenmeye başlamaları ile OspA sentezi baskılanır, OspC ve diğer bazı proteinlerin sentezi artmaya başlar ve bu proteinler sayesinde spiroketler kenenin tükrük bezlerine yerleşir ve burada yaşamaya başlar. Kenenin beslenmesi esnasında tükrük ile memeli vücuduna giren spiroketler, hem hücresel hem de özellikle IFN- γ 'nın rol oynadığı hümoral immün cevaba rağmen yaşamlarını devam ettirebilirler. Memeli vücudunda immün yanıtı karşı koymada ise önemli virülans faktörleri OspC ve yüzey lipopolisakariti olan VısE önemli rol oynar. Bu bakterinin toksin üretimi yoktur ve konak bağışıklık sistemini atlattıktan sonra vücudun birçok

bölgesine yayılarak, büyük ölçüde konakta inflamatuvar yanıtı neden olarak doku hasarına yol açarlar. Ayrıca tükrük bezlerince salgılanan Salp 15 proteini OspC'ye bağlanır ve spiroketi konak immün cevabından korur. Sonuçta etkilenen tüm dokularda yer yer vasküler yapıların da etkilendiği lenfosit ve plazma hücre infiltrasyonu saptanır (48, 49).

2.6. VEKTÖRÜN İLETİMİ VE HAYVAN KONAKLARI

B.burgdorferi küçük memeliler, kertenkeleler ve kuşlar gibi geniş bir yelpaze oluşturacak şekilde vertebralı hayvanları infekte eder. *Ixodes* cinsi keneler insanlara enfeksiyonu bulaştıran tek doğal konaktır. Dünya çapında Lyme hastalığının coğrafik dağılımı *B.burgdorferi* için rezervuar konak komponentlerini ve kene vektörünü bir arada gerektirir. Hastalığın görüldüğü tüm ülke ve ülke içerisinde her bölge için farklı türde keneler etken olabilmektedir (43).

Türkiye'nin kene faunası 2 aile, 10 cins ve 32 türden oluşur. *Ixodidae* ailesinde 7 cins ve 28 tür bulunur. *Ixodes* türleri Türkiye'nin kuzey kısmında daha sık görülür. Lyme hastalığı *Ixodes* türü sert kenelerden ülkemizde özellikle *Ixodes ricinus* tarafından bulaştırılmaktadır (50,51). Bu tür ülkemizde birçok bölgede görülmekle birlikte çalışmayı gerçekleştirdiğimiz Malatya ilinin bulunduğu Doğu Anadolu Bölgesinde de görülmektedir (Tablo 2.2).

Keneler, genellikle larva döneminde rodentlerden beslenme sırasında spiroketleri kazanır. Nimf döneminde ise rezervuar rodentler dahil geniş bir yelpazeye dağılım gösterirler. Erişkin dönemdeki keneler, memeli vücudundan beslenir. Bakteri üremesi açısından, kene ve memeli konak birbirine zıt bir çevre oluşturmaktadır. Memeli vücut ısısı 37-39°C arasında değişirken kenenin sabit bir vücut sıcaklığı yoktur ve memeliden beslenirken bu durum değişir. Memeli kan pH'ı nötrdür ve kenenin bağırsağında daha basit bir ortam olması ile bu durum da aşılabilmektedir (43).

Tablo 2.2. Ülkemizdeki Kenelerin Dağılımı (50).

Kene türü	Coğrafi Bölge						
	Marmara	Ege	Akdeniz	Orta Anadolu	Karadeniz	Doğu Anadolu	Güneydoğu Anadolu
<i>Ixodes hexagonus</i>	×						
<i>Ixodes ricinus</i>	×	×	×		×	×	
<i>Boophilus kohlsi</i>							×
<i>Rhipicephalus annulatus</i>	×	×	×	×	×	×	×
<i>Rhipicephalus bursa</i>	×	×	×	×	×	×	×
<i>Rhicephalus sanguineus</i>	×	×	×	×	×	×	×
<i>Rhicephalus turanicus</i>	×	×	×	×	×	×	×
<i>Dermacentor marginatus</i>	×	×	×	×	×	×	×
<i>Dermacentor niveus</i>	×		×	×	×	×	
<i>Hyalomma aegyptium</i>	×	×	×	×	×	×	×
<i>Hyalomma a.anatolicum</i>	×	×	×	×	×	×	×
<i>Hyalomma a.excavatum</i>	×	×	×	×	×	×	×
<i>Hyalomma detrium</i>	×	×	×	×	×	×	×
<i>Hyalomma dromedarii</i>		×	×				
<i>Hyalomma marginatum</i>	×	×	×	×	×	×	×
<i>Haemaphysalis concinna</i>			×	×	×		
<i>Haemaphysalis inermis</i>	×			×	×	×	
<i>Haemaphysalis numidiana</i>	×			×			
<i>Haemaphysalis parva</i>	×	×	×	×	×	×	×
<i>Haemaphysalis punctata</i>	×	×	×	×	×	×	×
<i>Haemaphysalis sulcata</i>	×	×	×	×	×	×	×
<i>Amblyomma variegatum</i>		×					
<i>Argas persicus</i>	×	×	×	×	×	×	×
<i>Argas reflexus</i>	×	×		×		×	
<i>Ornithodoros lahorensis</i>		×	×	×	×	×	×
<i>Otobius megnini</i>						×	

2.7. LYME EPİDEMİYOLOJİSİ:

Lyme hastalığı, ABD’de şu anda artropod kaynaklı hastalıklar arasında en sık gözlenen infeksiyondur (1). Amerika Birleşik Devletleri’nde Centers for Disease Control and Prevention (CDC) tarafından 2012 yılında 200.000’den fazla vaka bildirilmiştir. Bu da 100.000 nüfus başına insidansın 7.0 vaka olduğunu gösterir. Lyme hastalığının prevalansı coğrafik olarak önemli ölçüde değişmektedir ve mevsimsel insidansa sahiptir. ABD’deki vakaların %93’ü daha çok yüksek endemik bölgelerden bildirilmiştir. Lyme hastalığı yaz aylarında pik yapar. ABD’de, Lyme hastalığı 1991’den beri ulusal ihbarı zorunlu hastalıklar arasında olup bu bölgelerdeki yıllık bildirilen vaka sayısının iki katına çıktığı tesbit edilmiştir. Lyme hastalığı gibi kene yolu ile bulaşan hastalıklar dinamiktir ve iklim değişikliklerinden hızlı etkilenir (1,6). Ülkemizde ise insidansa dayalı bir bilgi olmamakla birlikte %2- 35.9 arasında değişiklik gösteren seroepidemiolojiye dayalı veriler bulunmaktadır (50).

Borrelia burgdorferi infeksiyonları zoonozdur. İnfekte keneler, tarla faresi ve geyik gibi hayvanlara yüksek oranlarda tutunur. İnfekte kene dağılımında kuşlar da önemli role sahiptir. *Borrelia* türleri Amerika’da ağırlıklı olarak *Ixodes scapularis*, Avrupa’da ise *Ixodes ricinus* olmak üzere *Ixodes* cinsi keneler ile bulaşır (43).

Borrelia burgdorferi’nin keneden bulaşabilmesi için en az 24-48 saatlik bir temas gerekir. Çoğu erişkin hasta kene tarafından ısırıldığını hatırlamaz çünkü nimf keneler çok küçüktür ve kısa süre vücutta kalır. Ayrıca, beslendikten sonra çoğu zaman fark edilmeden düşebilirler. Deneysel veriler en az 24 saat kenenin vücutta kalması ile spiroketin etkin olarak bulaştığını göstermektedir. İlk 12 saatlik sürede kene deri üzerinde henüz düzlemsel konumdadır ve yavaş yavaş beslenmeye başlamıştır. Yirmi dört saatlik beslenme sonunda infekte kenelerin %5’i spiroketleri bulaştırmayı başarır. Kenenin posterioru uzamaya başlar. Sonraki 24 saatte artık kenenin posterioru tamamen şişmiştir ve bu evrede artık %50 dolayında infekte kene *Borrelia*’yı iletmiştir. İnfekte kenelerin vücutta kalış süresi 4 gün olduğunda ise artık hastalık etkeni %100 oranında bulaştırılmıştır ve kene genişleyebildiği kadar genişlemiş aynı zamanda opak bir görüntü almıştır. Hiperendemik alanlarda yapılan deri hücresi kültürlerinde kenenin vücutta yaklaşık 24 saatlik beslenmesinden sonra 48 hastanın ancak 2’sinde pozitif sonuç alınmıştır (54).

Bir kenenin kana tamamen doyduğunun derecesinin değerlendirilmesi mutlaka öznelidir. Bu tespiti daha objektif hale getirmek için skutal indeks oluşturulmuştur. Bu indeks nimf veya adult dişinin kan emerken vücudunun şişme gerçeğine dayanır, ancak sert skutum değişmeden kalır. İnfekte keneden bakterinin bulaşabilmesi için başka faktörler de gerekir. Spiroket tükrük bezlerinden orta bağırsağa geçmelidir ve OspA üretimi baskılanıp OspC üretimi artmalıdır (1).

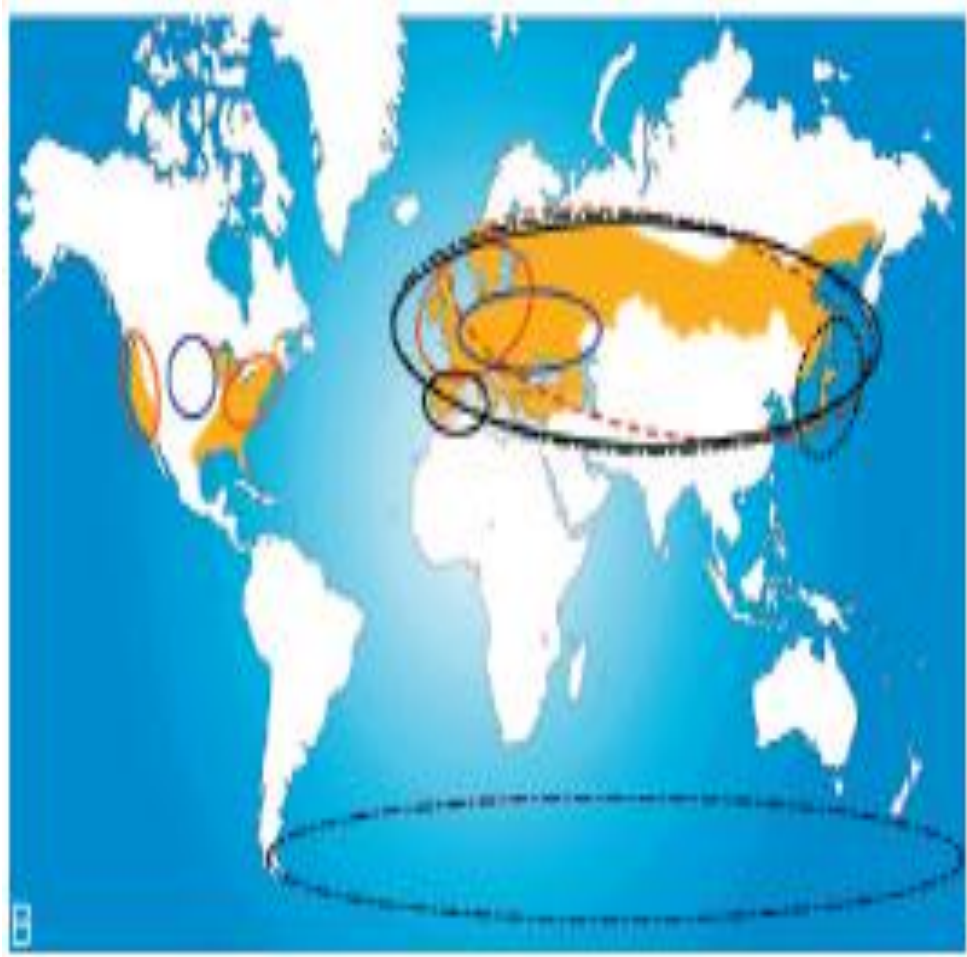


Şekil 2.2. *Ixodes scapularis* Cinsi Kenelerin Büyüklükleri (6).

ABD'nin diğer ülkelerle işbirliği içinde yürüttüğü bir çalışmada infeksiyonun coğrafik olarak, Kuzey yarıkürede özellikle eski Sovyet Cumhuriyetlerinde sık görüldüğü tesbit edilmiştir (Şekil 2.3). Ayrıca infeksiyonun dağılımı *Ixodes* cinsi kenelerin dağılımı ile de yakın ilişkilidir (1).

Endemik bölgelerde gerçekleştirilen dikkatli epidemiyolojik çalışmalarda sorunun büyüklüğü belgelenmiştir. New York, Fire Adasında yaz sakinlerinin %0.7-

1.2'sinde semptomatik hastalık geliştiği belirtilmiştir. Antikor titresi yaz başında ve sonunda ölçülen 129 kişinin 4'ünde antikor gelişirken bunlardan sadece 2 kişide semptomlar gözlenmiştir. İsviçre'de endemik bir bölgede yapılan çalışmada ise 2 yıllık periyotta 269 kene vakası görülmüş ve bunlardan 186'sında *Borrelia* antikorları pozitif olarak saptanmıştır (56).



Şekil 2.3. Lyme Hastalığının Dünyada Coğrafik Dağılımı (55).

2.8. *Borrelia burgdorferi* KLİNİK BULGULARI ve YAPTIĞI HASTALIKLAR:

Borrelia burgdorferi infeksiyonunun klinik bulguları değişkendir. Bu nedenle bu spiroket *T. pallidum*'dan sonra “büyük taklitçi” olarak isimlendirilen ikinci bakteridir. Sifilizde olduğu gibi bulgular üç evrede incelenmektedir (1). Lyme hastalarının yaklaşık %80'inde kütanöz bulgular gözlenmektedir. Erythema chronicum migrans (ECM), borrelial lenfositoma (BL) ve acrodermatidis chronica atrophicans (ACA) olmak üzere, her biri ayrı hastalık evresinde gelişen üç karakteristik

dermatoboreliyoza tablosu görülür. ECM ilk evrede gözlenirken subakut dönemde BL gözlenir. ACA ise geç dönem Lyme hastalığını temsil eder (1, 57, 58, 59).

Birinci evre; erken lokal infeksiyon evresi olarak da tanımlanır (50). Kene ısırıldıktan sonra klasik ECM lezyonlarının görüldüğü evredir. Başlangıçta küçük olan lezyon bir süre sonra genişler. Kene ısırmasından 3 ila 30 gün sonra özellikle ilk 7 gün içinde ECM ile birlikte grip benzeri bir tablo gelişir. ECM kenenin ısırıldığı bölgede spiroketlerin derideki migrasyonuna bağlı olarak gelişen bir lezyon olup; makul veya papül şeklinde başlayan lezyonlar ortalama 15 cm (3-60 cm. olabilir) çaplı oval veya dairesel bir lezyona dönüşür. Başlangıçta eritematoz olan lezyonun zamanla ortası soluklaşır ve “boğa gözü” denilen anüler bir döküntüye dönüşür. Lezyon sıcak fakat ağrısızdır. ECM patognomik bir lezyon olup birkaç gün, hafta veya ay içinde kendiliğinden kaybolduğu gibi, 14 aya kadar uzayan ECM lezyonları da bildirilmiştir. Lezyon kene ısırığına bağlı olarak herhangi bir bölgede oluşabilir (1, 22, 50).

Subfebril ateş, halsizlik, baş ağrısı, iştahsızlık, eklem ve kas ağrısı, lokal LAP bu dönemde görülen diğer belirtilerdir. Hastaların sadece %30’u kene ısırığı öyküsü verir (50).



Şekil 2.4. Eritema Kronikum Migrans Lezyonu (6).

İnfeksiyonun bu evresinde bakteri kültürü yapılabilir ve özellikle biyopsi materyalinden gümüşleme boyama yöntemi ile %40 oranında etken görülebilir (1).

İkinci evre - erken yaygın infeksiyon evresi; primer lezyondan bir süre sonra mikroorganizmanın yayılımı ile çok sayıda sekonder lezyon oluşur. Haftalar ve aylar sonra hastaların %10-15’inde nörolojik belirtiler ortaya çıkar. En sık Bell paralizi olmak üzere kranial sinir tutulumları gözlenir. Hastaların %5’inde lenfositik menenjit gelişir. Menenjit pürülan olabilir. Ayrıca meningoensefalit, kore,

meningoradikülopolinörit (Garin-Bujadoux-Bannwart sendromu) gelişebilir. Bazen, özellikle soğuğa maruz kalındığında ağrılı olan borrelial lenfositoma gelişebilir. Bu lezyon mavi-kırmızı, tümöre benzer bir deri lezyonudur. Bu dönemde mikroorganizmayı tanımlamak için kültür yerine, üç kat daha duyarlı olan polimera zincir reaksiyonu (PCR) yapılmalıdır. Tedavi görmeyen olguların %10'unda ECM'den 2-3 ay sonra atrioventriküler blokla birlikte myokardit gelişebilir ve genellikle kendiliğinden düzelir, nadiren pacemaker gerektirir. Bu dönemde geçici artrit veya artralji, LAP, hepatosplenik tutulum, konjunktivit, iridosiklit de görülebilir. Bu semptomlar kendiliğinden kaybolabilir veya kronik, tekrarlayıcı forma dönüşebilir (1,50).

Üçüncü evre; persistan infeksiyon evresidir. Primer infeksiyondan aylar, yıllar sonra yeterli tedavi almayan hastaların %50'sinde monoartrit veya oligoartrit gelişir ve %10-20'sinde kronikleşir. Geç komplikasyon olarak kronik meningoensefalit, uveit ve ACA gelişebilir. Bu dönemin patogenezinde otoimmün olayların etkin olduğu kabul edilir. Lyme hastalığında sinir sistemi tutulumu sonucunda bellek ve bilinç durumunda bozulmalar ortaya çıkar. Antibiyotik tedavisinin bulguları geriletmemesi, kronik inflamatuvar yanıt ve üçüncü evre patolojilerinden bakterinin izole edilememesi bu evrenin immünopatolojik bir sürecin sonucu olduğunu düşündürmektedir (50).

Sifilizde olduğu gibi anneden infanta geçebilir fakat kongenital etkileri henüz bilinmemektedir (1). Kongenital geçiş gözlemlendiği gibi kırmızı kan hücrelerinde yaklaşık 6 hafta canlı kalabildiği için, kan transfüzyonu ile geçiş de her ne kadar teorik olsa da mümkündür. İnsanlarda, henüz bildirilmiş bir vaka olmamasına karşın hayvan deneylerinde kan transfüzyonu ile geçişin mümkün olabileceği gösterilmiştir (60).

2.9. *Borrelia burgdorferi* LABORATUVAR TANISI:

Borrelia burgdorferi laboratuvar tanısında esas olarak 4 farklı yöntem bulunmaktadır (Tablo 2.3). Bunlar mikroskop bazlı yöntemler, *B.burgdorferi* spesifik proteinlerinin, nükleik asitlerinin tesbit edilmesi ve kültürdür. Bunlar içerisinde kültür; farklı türler arasında özellikle yapısal, moleküler, antijenik ve patojenik özelliklerin farkını gözlemek ve bu alanda araştırmalar yapma yönünden diğerleri arasında öne çıkmaktadır. Ayrıca son zamanlarda çok farklı testler geliştirilmiş olup bunlardan idrar antijen testleri, immünfloresan ve lenfosit transformasyon testi CDC tarafından

önerilmemektedir. Kenenin test edilmesi ise kenenin mikroorganizmayı içermesi halinde temas eden kişinin infekte olabileceği, kene testleri sonuçlanmadan hastada semptomların başlaması ve hasta test edilen keneden farklı bir kene ile infekte olmuşsa yanlış negatifliğe sebep olacağından önerilmemektedir (6,22).

2.9.1. Mikrobiyolojik Tanı İçin Alınacak Örnekler:

Kültür ve PCR için en çok önerilen örnek deri biyopsisidir. Genel olarak kötü sonuçlar sinoviyal sıvı PCR hariç, diğer vücut sıvılarından elde edilir. Antibiyotik profilaksisini belirlemek için idrar ve çıkarılan kenenin analizi tavsiye edilmez. Kenelerin incelenmesi sadece epidemiyolojik veya diğer bilimsel çalışmalar için yapılmalıdır. Antikor tayini için serum veya BOS incelenebilir. BOS incelemesi her zaman serum antikor analizi ile birlikte yapılmalıdır (61).

2.9.2. Mikroskopik Yöntemler:

Gram boyama; bakteri morfolojisini değiştirebildiği için tercih edilmemektedir. Karanlık alan ve faz kontrast mikroskopisi çok sayıda spiroket içeren örneklerde ve in vitro kültürde kullanılabilir. *B.burgdorferi*, doku örneklerinin Warthin-Starry gümüş boyama tekniği ile, kan ve BOS'un ise spesifik floresan boyama tekniği veya Giemsa ile boyanmasıyla görülebilir. Ancak doku örneklerinde spiroketlerin elastin doku veya prokollajen fibriller ile diğer artefaktlardan ayrılması zordur. Mikroskopi, tanı koymak için yeterli değildir, boyama sonucunda spiroketlerin görülmemesi tanıyı ekarte etmediği gibi görülmesi durumunda kültür, seroloji ve diğer yöntemlerle sonuç kesinleştirilmelidir. *Borrelia burgdorferi* için mikroskopik yöntemlerin sensitivite ve spesifitesi hastalığın her üç döneminde de düşüktür, bu nedenle tercih edilen bir yöntem değildir (16,50).

2.9.3. Kültür Yöntemleri:

Kenelerle bulaşan spiroketlerin üretildiği ilk besiyeri olan Kelly besiyerinin çok sayıda modifikasyonu vardır. Bu besiyerinin son versiyonları Barbour-Stoener-Kelly (BSK) II, BSK-H ve Preac-Mursic besiyerleridir. Bu besiyerleri düşük sayıda bakteri içeren örneklerin inokülümü halinde bile, spiroketin maksimum düzeyde ve daha kısa sürede üretilmesini sağlar. Sıvı ve yarı-katı besiyeri özelliğine sahiptirler.

Sıvı besiyerinde üretilen spiroketler zaman zaman üreme açısından en az 2-3 hafta sonunda karanlık alan ya da fluoresan mikroskopi ile değerlendirilmelidir. Belirlenen *B.burgdorferi* suşları spesifik monoklonal antikolar ve PCR ile doğrulanabilir. Katı besiyeri de tercih edilebilir ki avantajı mikroorganizmanın görülebilir koloni özelliklerini sağlamasıdır. Morfolojik olarak birbirinden farklı özelliğe sahip koloniler oluştururlar. Ayrıca kene ve insan hücre kültürlerinde de üretilmeleri mümkündür (1,22).

Kültür erken dönem Lyme hastalığında çok etkiliyken hastalığın ileri dönemlerinde nadiren kültür pozitifliği saptanabilmektedir. Lezyonlar büyük ve sayıca fazla olduğunda etkeni kültürde saptamak kolaylaşmaktadır. Sonrasında her ne kadar mikroskopik olarak boyama ile bakılabilese de esas olarak antiserumla spesifik olarak türün identifikasyonu önerilmektedir (1).

Borrelia burgdorferi 34-37°C sıcaklıkta mikroaerofil olarak ürer. Optimal sıcaklık üzerindeki ortamlarda üremesi azalır ya da inhibe olur. Bu durumda, bakterinin filamentöz form halinde gözlenmesi de sağlanır. Spiroketlerin 7-20 saat arasında değişen uzun bir jenerasyon süreleri vardır. Katı besiyerinde üretilirken mikroaerofil veya anaerob ortam tercih edilmelidir (62).

Kültür için tercih edilebilecek klinik örnekler, çeşitli doku ve vücut sıvıları, ECM deri lezyonu örneği, ACA deri lezyonunu biyopsisi, lenfositoma deri lezyonu biyopsisi, serebrospinal sıvı ve kandır. Eklem sıvılarında kültür pozitifliği çok nadirdir (4). Ayrıca kardiyak doku ve iristen de *B.burgdorferi* izole edilebildiği gösterilmiştir (22).

Tablo 2.3. Laboratuvar Tanı Yöntemleri (50).

Test türü	Avantajları	Dezavantajları
Boyama	Maliyeti düşük Kısa sürede sonuç verir	Sensitivitesi ve spesifitesi düşüktür. Pozitif sonuçların immün floresan yöntemle doğrulanması gerekir.
Kültür	Klinik olarak tanı koymakta güçlük çekilen durumlarda ve immün yetmezlikli olgulardan yapılan kültürlerde faydalı olabilir. Farklı subtipleri tanımlamada kullanılır.	Gerekli süre uzundur. Deri örnekleri için biyopsi materyaline gerek duyulur. Eklem sıvılarında çok düşük oranda pozitif sonuç verir.
PCR	Klinik olarak tanı koyulması zor durumlarda kullanılır. Özgüllüğü yüksektir.	PCR'da kros kontaminasyon veya kullanılan primerlerin selektif olmaması durumunda yalancı pozitiflik görülebilir. Deneyimli personel ve donanımlı laboratuvara gereksinim vardır. Maliyeti yüksektir. Erken dönemde yanlış negatif sonuç verebilir. Duyarlılığı düşüktür.
ELISA	Uygulaması kolaydır. Örnekler daha kolay elde edilir. Çok sayıda örnek aynı anda çalışılabilir. Duyarlılığı yüksektir.	Yalancı pozitiflik ve negatiflik verebilir. Çapraz reaksiyona bağlı pozitiflik alınabilir. Ticari kitlerde standardizasyon eksiklikleri olabilir.
IFA	Örnek elde etmek kolaydır.	Floresan mikroskop ile kalifiye elemana gerek duyulur.
WB	Özgüllüğü yüksektir.	Yoğun iş yükü gerektirir. Deneyimli personel gerektirir.

Acrodermatidis chronica atrophicans (ACA) deri lezyonlarında 10 yıldan uzun süre canlılığını devam ettirebilmektedir. ECM lezyonu olan hastalarda antibiyotik tedavisi sırasında ve sonrasında lezyondan mikroorganizmanın üretilme olasılığı çok düşmektedir. Kan kültürü yapılması planlanıyorsa en az 20-30 ml kan alınmasına özen

gösterilmelidir. Kültürde plazma kullanılırsa seruma göre daha yüksek oranda mikroorganizma üretimi sağlanmaktadır. Sitratlı kandan da kültür yapılabilir (1, 50).

Kültürün sensitivitesi bazı çalışmalarda PCR'dan yüksek bulunurken bazılarında düşük tespit edilmiştir. Bu anlamda sensitivitesi konusunda net bir şey söylemek mümkün değildir. Bunda PCR'da izlenen farklı primer seçimi, farklı hedef bölgesinin seçimi veya farklı protokoller etken olabileceği gibi kültürde izlenen yöntem farklılıkları ve alınan numune tipi, numune miktarı, numunenin saklanma koşulları da etken olabilmektedir (1,22)

Kültür; pahalı oluşu, negatif kültür sonucu verebilmek için yaklaşık 12 haftalık bekleme süresi gibi uzun bekleme süresi gerektirmesi, antibiyotik kullanan hastalarda yanlış negatif sonuç vermesi, biyopsi materyaline gerek duyulması ve genellikle besiyeri temininde sorun yaşanmasından dolayı rutin olarak uygulanmamaktadır. Bunun yanında tekniklerini geliştirmiş olan bazı laboratuvarlarda kültür sonrası mikroskopi yerine kısa sürede PCR yapılarak net bir sonuç almakta mümkün olmaktadır (22).

2.9.4. Serolojik Yöntemler

Lyme hastalığında en sık kullanılan mikrobiyolojik yöntem serolojidir. Centers for Disease Control and Prevention; serolojik testlerden elde edilen tek başına pozitif sonuçların Lyme tanısı için yeterli olmadığını aynı zamanda klinik tablonun varlığının da gerekli olduğunu bildirmiştir. Merkez bu amaçla iki basamaklı bir yol önermektedir. İlk basamakta Immunoflouresans Assay (IFA) ya da Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA) yöntemlerinden biri tercih edilir. Bu testler sensitivitesi yüksek olan testlerdir. Bu nedenle negatif çıkan sonuçlara ileri bir test önerilmemektedir. Ancak, klinik olarak hastalık tablosu gözleniyorsa konvelesan dönemde testin tekrarlanması önerilmektedir. Pozitif ya da sınırda bir sonuçla karşılaşıldığında bu sonuçların western blot tekniği ile IgG ve IgM antikorlarının her ikisine bakılarak doğrulanması gerekmektedir (6).

Amerikan Food and Drug Administration (FDA) tarafından onay almış yaklaşık yetmiş farklı serolojik ticari kit mevcuttur. Yapılan birçok çalışmada, IFA yöntemi yerine ELISA yöntemlerinin daha tatmin edice sonuçlar verdiği

belirlenmektedir. İdrarda spiroket antijenlerini tespit edebilen ticari bir kit bulunmasına karşın bu konuda çok az bilgi bulunmaktadır (1).

Antikor yanıtı hastalıktan haftalar sonra gelişmektedir. OspA cevabı geç gelişir fakat özel tekniklerle kısa sürede az miktarda gelişmiş olan cevabı belirlemek mümkündür OspC proteinine veya diğer nonspesifik flagella antijenlerine karşı cevap daha erken görülmektedir. Spesifik IgM yanıtı infeksiyondan sonra yıllarca gözlenebilmektedir bu nedenle tek başına akut infeksiyonu göstermez (16, 64, 65).

Spinal sıvıda antikor varlığı nöroborelyozun tanısında kullanılmaktadır. BOS'da kandan daha yüksek oranda antikor titresinin olması teorik olarak infeksiyonun sinir sisteminde olduğunu gösterir. *B.burgdorferi* serolojik testlerinin yorumlanmasındaki güçlükten dolayı referans laboratuvarlarda çalışılması önerilmektedir (66). Lyme tanısı almış hastalarla yapılan bir çalışmada referans laboratuvarında yapılan testlerde %45 oranında yanlış pozitiflik saptandığı tespit edilmiştir ve sadece %16,3'ünde testlerin western blot tekniği ile confirmasyonu yapılmıştır (67,68).

Borrelia infeksiyonu düşünülen hastalarda genellikle diğer bazı infeksiyonlar ile çapraz reaksiyon gözlenmektedir. Özellikle pozitif çıkan serumlar treponemal antijenler yönünden VDRL testi ile birlikte değerlendirilmelidir. Spesifik treponemal antijenler ile çapraz reaksiyon gözlendiğinden Lyme pozitif hastalarda VDRL negatif beklenmektedir (69).

2.9.5. ELISA

ELISA antikor tespiti için en sık kullanılan yöntemdir. Ticari kitlerde purifiye antijen veya rekombinant antijen karışımları kullanılmaktadır. Son zamanlarda, VİSE'den elde edilmiş olan IR6, C6 peptid gibi sentetik peptid deriveleri antijen olarak kullanıma geçmiştir. Testlerin sensitivitesi ECM lezyonlarının oluşumu ile artmaktadır. Kardit ve nöroborelyozda ise sensitivite daha da artmaktadır (22).

Birinci kuşak ELISA ve IFA testleri *B.burgdorferi* B31 suşunun tamamının hücre lizatını antijen olarak kullanmaktadır. ELISA'nın IFA'ya göre sensitivitesi yüksektir ve daha az subjektiftir (70).

Tarama için en azından diğer bakterilerle (örn: treponema) çapraz reaksiyon vermeyen ikinci kuşak testler veya antijen olarak purifiye tam flagella kullanılmalıdır.

Antijen kaynağı olarak kullanılan suşlar IgM cevabının immüdominant antijeni olan OspC'yi ve IgG cevabını oluşturan major antijen olan DbpA'yı ifade etmelidir. Son zamanlarda VlsE lipoproteininin korunmuş 6 bölgesini baz alan bir C6 peptid ELISA geliştirilmiştir. Bu yöntem Amerika'da ve Avrupa'da ECM, ACA ve artritli hastaların elde edilen serumlarda başarıyla kullanılmaktadır ve duyarlılığı yüksektir. Bu yeni testin, yüksek duyarlılık ve özgüllüğü sayesinde yukarıda bahsedilen sorunlara ve iki basamaklı yaklaşıma çözüm olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte VlsE C6 bölgesi ilaveten tanısal duyarlılığı artırabilecek başka immüdominant epitoplara sahiptir. Bu epitopların heterojenitesi özellikle Avrupa'da göz önünde tutulmalıdır (50).

ELISA testinin tek başına duyarlılığı %89, özgüllüğü %72 olsa bile pozitif bir test sonucunda yalancı pozitif olma ihtimalinin daha yüksek olduğu unutulmamalıdır. Bununla birlikte negatif test sonuçları tanının dışlanması oldukça yararlıdır (50).

Erken Lyme hastalığı tanısında özellikle IgM tespiti önerilmektedir. Spesifik IgM titresi infeksiyondan sonraki yıllar içerisinde de görülebilmektedir. Bu nedenle IgM infeksiyonun akut dönemde olduğunu göstermek için kullanılmamalıdır. Bu amaçla serokonversiyon önerilmektedir (1).

2.9.6. Moleküler Yöntemler

Kültür ve ECM lezyonlarının gözlenmesi gibi morfolojik tanı yöntemlerine göre amplifikasyon teknikleri periferik kan ve eklem sıvılarında daha duyarlıdır. İdrar ve beyin-omurilik sıvısında (BOS) moleküler yöntemler yeterli özgüllük ve duyarlılığa sahip değildir. Semptomatik nörolojik hastalığa sahip kişilerde idrar PCR duyarlılığı BOS'dan daha fazladır. Amplifikasyon metodlarında her ne kadar yanlış pozitiflik ve diğer mikroorganizmalarla benzer sekans dizilerine sahip olmasından kaynaklı sorunlar olsa da merkezi sinir sisteminde antikorların varlığının yorumlama güçlüğünden dolayı bu yöntemler BOS sonuçlarının yorumlanmasında yardımcı olmaktadır. Bu amaçla PCR protokollerinin düzenlenmiş olması önem taşımaktadır (1).

Doku biyopsileri BSK besiyerinde bir ya da iki gece bekletildiğinde normal dokudan elde edilen ekstraksiyon ürününe göre besiyerinden daha yüksek oranda

DNA ekstraksiyonun gerçekleştirildiği tesbit edilmiştir. Bunun sebebi olarak deride PCR inhibitörlerinin olabilmesi gösterilmiştir (71).

PCR ile kantitatif ya da kalitatif sonuçlar alınabilir. Her ne kadar kalitatif sonuçlar yeterli olsa da günümüzde ticari olarak otomatize kantitatif PCR sistemlerinin olması bir avantaj sağlamaktadır. PCR yöntemleri deri biyopsisinde ve sinoviyal sıvıda yüksek duyarlılığa sahip olmasına rağmen plazma, serum veya BOS numunelerinde sensitivitesi düşük bulunmuştur (72).

2.9.7. Western blot yöntemi

Pozitif serolojik testler için kriterlerin iyileştirilmesine yönelik çalışılan kitler yönünden çalışmalar devam etmektedir. Ancak, bu sonuçların referans veya deneyimli laboratuvarlarca immünblotlama yöntemi ile doğrulanması gerektiği gerçeği henüz değişmemiştir (1).

Antikor tespitinde diğer bir yöntem WB yöntemidir. Doğrulama testi olduğu için yüksek spesifiteye (en az %95) sahip olmalıdır. Eğer tüm hücre lizatı antijen olarak kullanılacaksa, tanı bantları monoklonal antikorlar ile tanımlanmalıdır. Rekombinant antijenler durumunda söz konusu bantların tanımlanması çok daha kolaydır. Rekombinant antijenlerin kullanılmasının birçok avantajı vardır. Bu avantajlar; spesifik antijenin seçilebilmesi, farklı suşlardan elde edilen homolog antijenlerin kombine halde kullanılabilmesi, internal flagellin fragmanları gibi daha yüksek spesifite ile kesilmiş antijenler dizayn edilebilir ve esas olarak in vivo eksprese edilen DpbA ve VIsE gibi antijenlerin kullanılabilmesidir. Ticari rekombinant antijen immünblotlar geleneksel olanlara göre daha iyi standardize edilmiştir. Erken dönem nöroborelyozlu 36 hastada yapılan bir çalışmada VIsE ve DbpA antijenlerinin kullanılması sensitiviteyi %52,7'den %86,12'ye yükseltmiştir fakat spesifite değişmemiştir (73,74).

İmmünblot antikor bağlanma paternleri antijen olarak kullanılan suşa göre değişiklik gösterebilir. Bu nedenle farklı *Borrelia* genotürleri blotlamada antijen olarak kullanıldığında eşit spesifite ve sensitivite için farklı yorumlama kuralları gereklidir (75).

2.9.8. Analitik metodlar

Lyme; en erken belirtisi olan ECM lezyonları dahi yaklaşık 3 haftada görülen bir hastalıktır. Tedavi erken dönemde başlandığı takdirde iyi sonuçlar vermektedir. Tanıya yönelik tıbbi ve laboratuvar olanaklı çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Lyme’ da peroksidasyon basamağı devreye girip oksidatif stres meydana geldiğinde çeşitli peroksidasyon ürünleri oluşmaktadır. Bu komponentlerin hızlı tanısı ensefalik sıvı, idrar veya plazmada yapılabilir. Spektrofotometre ve kromatografi gibi analitik yöntemler bu biyomarkırların tespitini sağlamaktadır (76).

2.9.9. Proteomikslerle ilgili geliştirilmekte olan metodlar:

Lyme hastalığı tanısına yönelik yeni yöntemler proteomiksleri içermektedir. Spiroketin genetik yapısı bilindiğinden, hastaların serumunda bulunan çok sayıda proteinin antijenik özellikleri in vitro test edilebilir. Bu protein yapılarına bağlı olarak çok sayıda yeni test geliştirilebilir. Proteomiks bazlı geliştirilen testlerin henüz klinik çalışmaları yapılmadığı için geniş klinik validasyondan sonra piyasada olacağı tahmin edilmektedir (77).

2.9.10. Ksenodiyagnostik Metod:

Hastalık etkeni olan bir mikroorganizmanın uygun bir eklem bacaklı aracılığıyla etkene duyarlı bir laboratuvar hayvanına aktarılması yöntemi ksenodiyagnoz olarak tanımlanmaktadır. *Borrelia burgdorferi* hayvan çalışmalarında antibiyotik tedavisi sonrasında da hastalığın devam edebildiği gösterilmiş ve doğal kene vektörü kullanılarak ksenodiyagnostik yöntem dahil çeşitli yöntemlerle infeksiyonun tespit edilmesi gerektiği öngörülmüştür. İlk olarak 2014 yılına ait verilerde insanlarda *B.burgdorferi* infeksiyonunun *I. scapularis* larvaları kullanılarak güvenli tanısı yapılmıştır. Ksenodiyagnoz sonrası hastalarda kaşıntı dışında herhangi bir yan etki görülmediği belirtilmiştir (78).

2.10. *Borrelia burgdorferi* KORUNMA YOLLARI ve TEDAVİSİ:

İnfeksiyon hastalıkları ile mücadelede en iyi yol korunmadır. Kene kaynaklı infeksiyonlarda da dikkat edilmesi gereken nokta atropod vektöre maruziyetin önlenmesi için gerekenin yapılmasıdır. Bu amaçla her ne kadar ormanlık arazilerin

önemli olduğu düşünülse de asıl bulaş çoğunlukla insanların kendi yaşadığı çevreden ve evlerinin bahçesinden kaynaklanmaktadır (1).

International Lyme and Associated Diseases Society (ILADS); Rodentler, geyikler ve kuşlar ile yayıldığı için kesin rakamlarla insidansı saptanamayan Lyme hastalığının sanıldığı gibi nadir bir hastalık olmadığını belirtmişlerdir. ILADS'a göre kene ısırığı fark edilmemekte ve Lyme hastalığına yönelik laboratuvar testlerinin yapılması klinisyen tarafından atlanmaktadır. Aslında tedavi edilebilir erken fark edilmediği zaman persistan infeksiyonlar gelişmektedir. Bu nedenle kene kaynaklı infeksiyonlarda farkındalık çok önemlidir (45).

Yaygın bir kanı olan ve CDC tarafından da önerilen uzun kıyafetler ve böcek kovucularla korunmanın sağlanabileceği yönündeki bilgi, kontrollü çalışmalarla denenmiş ve bu yolun çok etkili olmadığı gösterilmiştir. N,n-dietilmetanotoluamid (DEET) içeren böcek ve kene kovucular cilde uygulandığında koruyuculuk sağlar fakat her 1-2 saatte tekrarlamayı gerektirir. Çocuklarda DEET'e bağlı sık olmamak ve etiketlerine uygun kullanıldığı takdirde riskin azalması ile birlikte bazı nörolojik komplikasyonlar rapor edilmiştir. DEET konsantrasyonu %30'dan fazla olması gereksizdir ve yan etkileri artırır. Permetrin adlı bir sprey kıyafetlere uygulamak için bulunmaktadır ve temas halinde keneyi öldürdüğünden çok etkilidir (1, 6, 79).

İnce uçlu bir penset yardımı ile mümkün olan en kısa sürede kenenin istemli olarak çıkarılması önerilmektedir. Kene çıkarılırken hortum parçasının vücutta kalmaması, spiroketin kenenin tükrük bezlerinde bulunmasından dolayı önemlidir. Kenenin kibrit ile yakılmaya çalışılması, üzerine oje ve benzeri yanıcı maddeler dökülmesi kenenin kusma refleksini devreye soktuğu için kesinlikle önerilmemektedir. Kene çıkarıldıktan sonra çevresi antiseptik bir madde ile temizlenmelidir (1,6).

İkincil bir korunma yolu aşıdır. Aşılama popülasyonda infeksiyonun gelişmesini önleme anlamına geldiği için önemlidir. Genel olarak kullanılan aşılarda infeksiyon hastalıklarının bulaşının önlenmesi ve yaşam boyu bağışıklığın sağlanması amacıyla tasarlanmaktadır. Tarihsel olarak, *B.burgdorferi* gibi infeksiyöz ajanlara karşı aşılarda öncelikle canlı atenüe spiroketle ya da spiroketin antijenlerine karşı koruyucu antikolarla geliştirilmektedir. Yeni geliştirilen aşılarda ise multipl *Borrelia*

antijenlerine, kene antijenlerine veya her iki antijen kombinasyonuna göre tasarlanması düşünülmektedir (80,81).

Her ne kadar kişiden kişiye bulaşı söz konusu olmasa da geniş bir coğrafik dağılım gösteren vektörler aracılığıyla bulaşan bir hastalık olması açısından büyük risk taşımaktadır. İlk olarak 1990larda bir aşı lisans almış ve insanlarda kullanılmışsa da ancak 4 yıl uygulama alanı bulmuştur. *B.burgdorferi* infeksiyon süresince antijen ekspresyonunu değiştirerek antikor cevabından kaçmaktadır ve bu nedenle etkili immün hafıza hücreleri gelişmemektedir. Bu nedenlerle geliştirilen aşuların ömrü çok uzun olmamaktadır. Bu aşuların yan etkilerinin olması, çocuklara uygulanması yönünde lisansının olmaması ve maliyet-etkinlik oranının düşük olmasından dolayı üretici firma tarafından üretimi durdurulmuştur (82).

Son on yılda, kenelerde beslenme ve iletimin bozulmasını sağlayan birkaç kene komponenti belirlenmiş ve aşılarda kullanılma potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir. *Ixodes scapularis* genomunun sekanslanması bu ilerlemeye büyük ölçüde katkıda bulunmuş ve Lyme hastalığına karşı etkili bir aşı geliştirmek için ortak çaba gösterilmeye başlanmıştır. Kene tabanlı bir aşı aynı zamanda diğer kene kaynaklı patojenlerin bulaşının engellenmesine de yararlı olabilecektir. Kene alanında RNA interferans teknolojisi yani mRNA düzeyinde gen ekspresyonunun durdurulması yönteminin kullanılması öncelikle *Ixodes* cinsi kenelerin genlerinin kenenin beslenme ve patojenin iletimi basamağında anlaşılması ile kene antijenlerine karşı aşı geliştirilmesi yönünden yardımcı olacaktır. Birkaç tükürük proteini; nimf ve adult formların beslenme potansiyellerini bloke etmeyi sağlamaları yönünden test edilmiştir. Fakat zor bir yöntemdir. Çünkü kene tarafından konak immün sistem yanıtını etkisiz hale getirmek amacıyla çok sayıda molekül kodlanmakta ve sentezlenmektedir, bu nedenle tek molekül hedefleyen aşular genellikle başarısız olmaktadır. Son hayvan deneyleri; *B.burgdorferi* infeksiyonunda Salp 15 ve OspA kombinasyonunun tek başına sağladıkları yarardan daha iyi bir koruma sağladığını göstermiştir (83, 84, 85, 86).

Borrelia burgdorferi infeksiyonundan aşılama ile korunmak açısından primer rezervuarların aşılması da önemlidir. Bu tür aşılarda, tüm spiroketlerde ortak bulunan OspA antijeninin kullanılması ile etkin aşular hazırlanabilecektir. Bu anlamda Rabies virüse karşı aşılama öncül olmuştur. OspA immünizasyon sağlayan kuvvetli

bir antijendir. Bu antijenin inhibe edilmesi ile henüz tükürük bezinden salgının iletilmesi sırasında borreliasidal antikolar spiroketleri yok edecektir (87).

Çok sayıda *B.burgdorferi* antijenik altbirimlerinin aşı potansiyelleri araştırılmış ve çoğu etkili bulunmuştur. Bunlar Tablo 2.4'de özetlenmiştir (88). Ayrıca, henüz immünojen fonksiyonları açıklanamayan ve halen çalışma aşamasında olan 3 ayrı bölge belirlenmiştir. Bunlardan ilki (BB0323), kene ve konak arasındaki taşınmadan sorumlu bir bölgedir. İkincisi (RevA) fibronektine bağlanma bölgesidir. Üçüncüsü (ACGal) ile ilgili herhangi bir net bilgi bulunmamaktadır. Fakat bu 3 fonksiyonel bölge üzerinde de çeşitli aşı grupları tarafından çalışmalar devam etmektedir. Daha farklı bir aşı seçeneği ise kenenin beslenmesi üzerine etkili olan proteinler yönünden düşünülmüştür. Salp 15 *Borrelia* antijenlerine karşı koruma etkisine sahipken, Salp25D proteini kene ısırığı bölgesinde reaktif oksijen türlerini detoksifiye eder (49).

Kene ısırmasından sonra antibiyotik profilaksisi tartışmalıdır. Bazı analizlerde profilaktik tedavi edilmeyen kişilerde Lyme hastalığının gelişme oranının 0.01'den az olduğu saptanmıştır (1). Bunun yanında kenenin vücutta uzun süre kalması ve endemik bölgede olmak risk faktörlerini arttırmaktadır. Endemik bir bölgede bulunulmuyorsa kene ısırması sonrası profilaksi özellikle kene 48 saatten az vücutta kalmışsa kesinlikle önerilmemektedir (89). Ayrıca *B.burgdorferi*'nin 41 kDa flagella antijenlerine karşı oluşmuş olan antikoların kalp kası ve sinir hücrelerine karşı çapraz reaksiyon göstermesi, otoimmünite teorilerini destekler. Hastalığın bir ve ikinci evresinde tedavi uygulanmaması, otoimmün patolojinin ilerlemesine neden olarak gösterilmektedir (90).

Endemik bölgelerde *I. scapularis* tarafından ısırılma sonrasında 72 saat içinde verilen tek doz doksisisiklinin plasebo ile karşılaştırıldığında %87 oranında etkili olduğu tespit edilmiştir (1). Bunun yanında özellikle kenenin *B.burgdorferi* yönünden taranması eğer böyle bir imkan yok ise döküntü veya diğer klinik özellikler görüldükten sonra tek doz doksisisiklinin amprik olarak başlanması tavsiye edilmektedir (91).

Erithema chronicum migrans (ECM) lezyonları görülüp tanı doğrulandıktan sonra verilen doksisisiklin, amoksisilin veya sefuroksim ile etkili tedavi sağlanabilmektedir. Genellikle 2-4 haftalık tedavi süresi yeterli olmaktadır (92).

Gebelerde Lyme hastalığı gözleendiğinde antibiyotik tedavisinin fetusda hayatı tehdit eden yan etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Gebelerde ve gebe olmayan yetişkinlerde tedavide bir farklılığa gerek olmasa da doksisisiklin gibi fetal gelişimi etkileyen antibiyotiklerden kaçınılmalıdır. Tipik bir Lyme hastalığına sahip gebede 500 mg oral amoksisilinin günde 3 kez olmak üzere 2-3 hafta boyunca kullanılması önerilmektedir. Ayrıca emziren annelerde Lyme hastalığının bebeğe geçişine dair de bir bulgu yoktur (6).

Klinik olarak Lyme hastalığı için çocuklarda da tedaviye yönelik denemeler yapılmıştır. Çoğu sonuçlar yetişkinlerle benzer olmakla birlikte 8 yaşından küçük çocukların dişlerde oluşabilecek renklerden dolayı doksisisiklin ile tedavi edilmemesi gerekmektedir (79).

B.burgdorferi kist formunda da bulunabildiği için özellikle kist formu için tek geçerli antibiyotik metranidazol ve deriveleridir. Diğer antimikrobiyal ajanlar negatif etkilidir ya da çelişkili tedavi sonuçları vermiştir (19).

Tablo 2.4. *Borrelia burgdorferi* Aşı Çalışmaları (88).

<i>B.burgdorferi</i> antijeni	Koruma mekanizması	Nasıl test edildi	Sonuç
OspA	Antikor aracılı, transfer bloke edici	Enjeksiyon, doku nakli ve keneden iletim ile farelerde, kene iletimi ile maymunlarda meydana gelen değişimler	Etkili, antikor titresinde artış
OspB	Antikor aracılı Bakterisidal antikorları ortaya çıkartır	Enjeksiyona karşı aktif ve pasif koruma	Suşa bağlı etki, Bazı suşlarda OspB proteinine bağlı olarak
OspC	Antikor aracılı, konakta	Farelerde enjeksiyon ve kene iletimine karşı	Etkili, ancak çok az türler arası koruma il, uzun vadeli (anamnestik) yanıt ortaya çıkarmada başarısız
DbpA	Antikor aracılı, konakta	Farelerde enjeksiyon ve kene iletimine karşı	Enjeksiyona karşı etkili fakat kenelerden iletme karşı başarısız
Bbk32(p35)	Antikor aracılı, kenede	Enjeksiyon ve keneye karşı pasif immünizasyon	Enjeksiyona karşı DbpA ve OspC kombinasyonu ile etkili, tek başına etkili değil

2.11. MULTİPLE SKLEROZ:

Multipl skleroz 150 yıl önce tanımlanmış, merkezi sinir sisteminin akut inflamatuvar demiyelizan bir hastalığıdır. Pek çok hekim tarafından Multipl skleroz, kısaca MS olarak adlandırılmaktadır. Multifokal sklerotik plak oluşturmasından dolayı hastalık bu isimle tanımlanmaktadır. MS; sıklığı, kronikliği ve genç erişkinleri etkileme eğilimi dolayısı ile en önemli hastalıklardan biridir. Dünya genelinde 1.5 milyon insan, sadece Avrupa'da ise 400 bin kişi MS'den etkilenmektedir (93,94).

Multipl skleroz nadir görülen bir hastalık değildir. Yeryüzünde milyonlarca kişiyi etkilemektedir.. Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde yapılan epidemiyolojik bir çalışma bu hastalığın görülme sıklığının 24/100.000 olduğunu göstermektedir. Türkiye'de ise sıklığının 1/2500 olduğu tahmin edilmektedir (95).

Multipl skleroz (MS) genellikle genç yetişkinlerde rastlanan uzun dönemli, genetik olarak duyarlı bireylerin bağışıklık sisteminin merkezi sinir sistemine saldırdığı enflamatuvar demiyelinizan bir merkezi sinir sistemi hastalığıdır. Kişilerin tüm yaşamını etkileyen öngörülemez bir durumdur. Epidemiyolojik çalışmalar MS' de çevresel faktörlerin de etkili olduğunu göstermiştir. Kuzey bölgelerde sıcak bölgelere oranla 10 kat daha yoğun bir coğrafik dağılıma sahiptir. Bir MS hastasında vücudun kendi bağışıklık sistemi, beyin ve omurilik sinirlerinin çevresindeki koruyucu miyelin tabakasına zarar vermektedir. Bu, beyin ile omurilik arasında iletilen mesajları bozmaktadır. Bu nedenle vücudun farklı kısımları etkilenebilmekte ve çok sayıda MS semptomuna sebep olmaktadır (96,97, 98).

Multipl skleroz esas olarak tanısı klinik olarak koyulan bir hastalıktır. Manyetik rezonans görüntüleme (MRG), nörofizyolojik testler ve BOS incelemesi tanıya ulaşmada önemli katkılar sağlamaktadır. Ancak kesin tanı koymayı sağlayacak herhangi bir laboratuvar bulgusu bulunmamaktadır. Pek çok defa non-MS idiyopatik demiyelizan hastalıklar, spesifik ve infeksiyöz enflamatuvar hastalıklar veya non-enflamatuvar demiyelizan hastalıklardan MS'i ayırt etmek zordur. Her ne kadar semptomların azaltılması ve tedavi için yeni seçenekler sunulsa da henüz MS'de iyileştirici bir tedavi söz konusu değildir (99,100, 101).

MS semptomları, hastaların yaklaşık olarak yarısından fazlasında 20-40 yaş arasında başlar. Başlangıç yaşı benzersiz bir dağılım izler ve tepe 20-30 yaşlar arasında görülür; nadiren 10 yaş öncesi ve 60 yaş sonrası görülür (93,102).

2.12. MULTİPL SKLEROZA NEDEN OLABİLECEK İNFEKSİYÖZ ETKENLER:

İlk olarak 1884 yılında Pierre Marie, infeksiyon MS'in nedeninin infeksiyon olduğunu kuvvetle savundu. Bulaşıcı tek bir infeksiyonun ya da kombine etkenlerin MS'e neden olduğunu o dönemlerde savunmuştur. Yaklaşık bir yüzyıl sonra, merak uyandıracak şekilde çok fakat şüpheli mikroorganizmalarla ilgili immünolojik ve virolojik kanıtları zayıf olan çok sayıda yayınlar yapılmıştır (103).

Son zamanlarda yapılan seroepidemiolojik araştırmalarda MS hastalığında bulaşıcı patojenlerin tespitinin BOS, kan ve dokudaki antikorların saptanması ile yapılmasını önermektedir. Popülasyon düzeyinde laboratuvar belirteçlerini çalışmak kolay değildir. Çünkü bazı ajanlar tarafından infeksiyon tanımlanabilir klinik hastalığa yol açmaz (Human Herpes virus 6, *Chlamydia pneumoniae* gibi), ya da infeksiyon çocukluk çağında daha sık görülebilir ve güvenilebilir bir raporlama sistemi ve bu döneme ait ilişkili bir çalışma bulunmamaktadır (104).

Epidemiolojik ve serolojik çalışmalarda özellikle Epstein-Barr virüs (EBV) ile MS arasında bir yakınlık gözlenir. Hemşireler arasında yapılan bir çalışmada, infeksiyöz mononükleoz öyküsü olan hemşirelerde MS riskinin orta düzeyde olduğu görülmüştür. Diğer viral hastalıklar ile MS arasında çeşitli ilişki düzeyleri bulunsa da en anlamlı sonuçlar EBV ile elde edilmiştir (105,106).

Tablo 2.5. MS ile ilişkili olduğu düşünülen çeşitli mikroorganizmalar (104).

Virüs	MS ile ilişki için kanıt
Herpes virüsler	
VZV	MS li hastalar tarafından hayatın erken döneminde kazanılmış Reaktivasyonu MS alevlenmesi ile ilişkili Viral DNA kandan ve BOS'dan izole edilmiş BOS'da virionlar EM ile gözlenmiş
HHV-6	Kan, BOS ve beyin dokusundan izole edilmiştir Antiviral antikorların kan ve BOS'da varlığı Artan viral yüke bağlı olarak MS alevlenmesi Miyelin antijenleri ile virüs spesifik T hücreleri arasında çapraz reaktivite
EBV	MS li çocuklarda ve yetişkinlerde yakın-mutlak seropozitiflik İnfeziyöz mononükleoz öyküsü olan kişilerde artan MS riski Virüs reaktivasyonu erken MS' de hastalık aktivitesi ile bağlantılı MS başlangıcından önce artan EBNA-1 spesifik antikorlar Miyelin antijenleri ile klonal çoğalan EBNA-1 spesifik T hücrelerinde çapraz reaktivite MS'li kişilerin beyin dokusunda EBV ile infekte B hücrelerinin zenginleşmesi
Retrovirüsler	
HERV-W (MSRV)	MS'li hastaların kan ve BOS'undan izole edilmiştir Süperantijenik aktiviteye sahip proteinleri kodlar MS duyarlı bölgeler olarak tanımlanan kromozom bölgeleri Virionlar farelerde akut nörolojik belirtileri tetiklemektedir
Diğer ajanlar	
Torque Teno virüsler	MS'li hastaların BOS'nda klonal olarak çoğalan T hücrelerinin viral motifleri tanınması

2.13. LYME VE MS:

Çok az sayıda infeksiyöz hastalık MS’i taklit etmektedir. Bunlardan en bilineni Lyme hastalığıdır. Benzer semptomlar görülen MS ile ayırt edilmesi gerekmektedir. Lyme hastalığında en belirgin nörolojik bulgular hastalığın ikinci ve üçüncü evresinde görülmektedir. Tipik olarak beyin MR’ında gadolinyumun enjeksiyonundan sonra leptomeningial, kraniyal veya periferik sinir kökünde artış gözlenmektedir. Ak madde lezyonları Lyme hastalığında nadir görülür fakat görüldüğü takdirde MS’i düşündürmektedir. Bu amaçla serebrospinal sıvıda pleositoz tespitinden sonra pozitif serolojik testler ve bunun western blot yöntemi ile kesinleştirilmesi MS tanısından uzaklaşmak için gereklidir (47).

MS’in hastalarda ve ailelerinde oluşturduğu yıkıcı etkisinin yanında, hastaların en verimli yıllarını bu hastalıkla savaşmakla geçirmeleri de toplum için büyük bir kayıptır ve herhangi iyileştirici bir tedavi MS için henüz mevcut değildir (106). MS’li hastalar için en duyarlı inceleme beyin MRG’sidir ve beyin tomografisinden çok daha yararlıdır. Klinik olarak kesin MS’li hastaların %85-95’inin beyin MRG’sinde patolojik bulgu saptanmaktadır. Fakat MS lezyonlarının MRG görünümüleri sadece bu hastalığa spesifik değildir. Küçük damar infarktlarında, Lyme hastalığında, tropikal spastik paraparezi/ HTLV-1 eşlik eden miyelopati (TSP/HAM), sarkoidoz, sistemik lupus eritematozus, Sjögren sendromu, mitokondriyal sitopatiler, vaskülitler, akut disemine ensefalomyelit (ADEM) ve normal yaşlanmanın sonucunda da bu görüntüler görülebilmektedir. Özellikle bu durumlarda infeksiyon hastalıklarından Lyme hastalığının ayırıcı tanısının yapılması gereklidir (96).

Multipl sklerozlu hastalardan alınan serebrospinal sıvı rhesus maymunlarına verilmiş ve birkaç ay sonra bu hayvanlarda *B.burgdorferi* antikorları olduğu gösterilmiştir. Ayrıca MS’li hastalarda *B.burgdorferi* için kullanılan bir antibiyotik olan minosiklinin MS hastalarının semptomlarını hafiflettiği gösterilmiştir (106).

Dünya genelinde özellikle Amerika ve Avrupa gibi *B.burgdorferi*’nin endemik olduğu bölgelerde MS ile *B.burgdorferi* prevalansı arasında bir paralellik görülmektedir. *B.burgdorferi* ile infekte kene ısırığı öyküsü olan kişilerin hayatlarının ilerleyen evresinde MS ile karşı karşıya kaldığı görülmektedir. MS ile *B.burgdorferi* infeksiyonunun bazı bölgelerde mevsimsel olarak benzer zamanlarda pik yapması

ilginçtir ve bu şekilde bir korelasyon başka bir infeksiyon ile MS arasında gözlenmemiştir (106).

Lyme nöroborelyozu, *B.burgdorferi*' nin neden olduğu sinsi infeksiyöz nörolojik bir hastalıktır. Nöroborelyozda enflamatuar reaksiyonun çok geniş spektrumunda bazı nörolojik hastalıklarla ilişkili olarak görülebildiği kabul edilmektedir. Bu hastalıklar Alzheimer hastalığında amiloid birikimi, MS, otizm ve nöropsikiyatrik hastalıklardır. Nöroborelyoz için spesifik bir görüntüleme bulgusu yoktur (107).

Moleküler taklit teorisine göre MS, immün sistemin yanlışlıkla yapısal olarak yabancı epitoplara benzeyen miyelin kılıf antijenlerine saldırmasıyla başlar. Glikolipid galaktoserebrosit (GalC) merkezi sinir sisteminde miyelinin majör komponentidir. Miyelinde lipidler %70-85 arasında bulunur. Glikolipidlerin MS'e neden olan otoantijenler olarak araştırılması gerektiği belirtilmektedir. GalC *B.burgdorferi* glikolipid antijeni BbGL-2'ye yapısal olarak benzerlik göstermektedir. Prensip olarak bu mikroorganizma miyelin kılıf üzerinde otoimmün saldırıya sebep olabilir. Anti-GalC antikoru demiyelinasyona sebep olmaktadır. GalC' nin, natural killer T hücre ligandı α -galaktosilseramid ile de yapısal olarak benzediği tespit edilmiştir. MS gelişiminde GalC'nin rolünün araştırılması gerekmektedir (108).

Bazı durumlarda nöroborelyoz, MS gibi yanlış teşhis edilebilir. *B.burgdorferi* tarafından MS'in doğrudan provoke edildiği düşünülmesi de patojenik süreç hastalığı ağırlaştırmaktadır. Karussis ve arkadaşları her iki hastalığın patolojik sürecinin benzerlik gösterdiğini belirtmişlerdir. Öyleki, lenfositik sistem aktive olmakta, matriks metalloproteinazlarının aktivasyonu, indükleyici miyelin temel proteini ve nöronal proteinleri de içeren antikoru ve otoantikoru üretiminin indüklenmesi bunlar arasında sayılabilmektedir. Geç dönem nöroborelyozda MSS demiyelinizan tutulumu MS'e benzer olarak gelişebilmektedir (109,110).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Nöroloji anabilim Dalı Multipl skleroz (MS) polikliniğine başvuran, MS tanısı almış 100 hasta, Haziran 2011-Ağustos 2012 tarihleri arasında 14 aylık sürede, tespit edilip bilgileri dahilinde çalışmaya alındı. Çalışmaya alınma kriterleri olarak 18 yaşından küçük olmama ve kesin MS tanısı alma kriteri kabul edildi. Hasta rıza ve anket formları hastalar tarafından dolduruldu.

Gönüllü olan hastalardan 10 ml kan örneği alındı. Santrifüj edilen kanların serumları ayrıldı. Serumlar -70°C’de saklandı.

ELİSA ve immunblot yöntemleri ticari olarak hazır kitlerle (Euroimmun, Medizinische Labordiagnostika AG) ile çalışıldı. IgG antikorları Anti-Borrelia plus VIsE ELISA IgG, IgM antikorları ise Anti-Borrelia ELISA IgM kitleri ile, immünblotlama yöntemi ise Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT kiti ile çalışıldı

ELISA test kiti serum veya plazmada *Borrelia* antijenlerine karşı insan IgG/IgM antikorlarını semikantitatif veya kantitatif tespit eden in vitro bir yöntemdir. Test kiti *Borrelia* antijeni kaplı mikrotitre 12 adet strip içermektedir. Kit içerisinde negatif/pozitif kontroller ve kalibratörlerle birlikte, tüm standart solüsyonlar hazır olarak bulunmaktadır.

Reaksiyonun birinci adımında 1:101 dilüe edilmiş olan hasta serumları antijen ile kaplı kuyucuklarda inkübe edildi. Kullandığımız ticari kit, antijen olarak *B.burgdorferi* sensu stricto ekstraktı, *B.garinii* ve *B.afzelii* tüm antijeni, *B.burgdorferi* sensu stricto rekombinant VIsE içermekteydi. Pozitif numunelerde spesifik IgG/IgM antikorları antijenlere bağlanmaktadır. Bağlanmış olan antikorları tespit etmek için ikinci inkübasyon alkalen fosfataz enzimi işaretli anti-insan IgG (tavşandan elde edilmiştir) ile yapıldı, IgM için ise keçiden elde edilmiş anti-insan IgG antikorları kullanılmaktadır ve renk reaksiyonunun gelişmesi üçüncü basamakta kromojen/substrat (TMB/H₂O₂) solüsyonu ile sağlandı. Renk yoğunluğu arttıkça ölçülen antikor titresinin yoğunluğunun arttığı tespit edilmektedir. Yapılan optik ölçümler ile belirlenen aralıklarda antikorların varlığı tespit edildi.

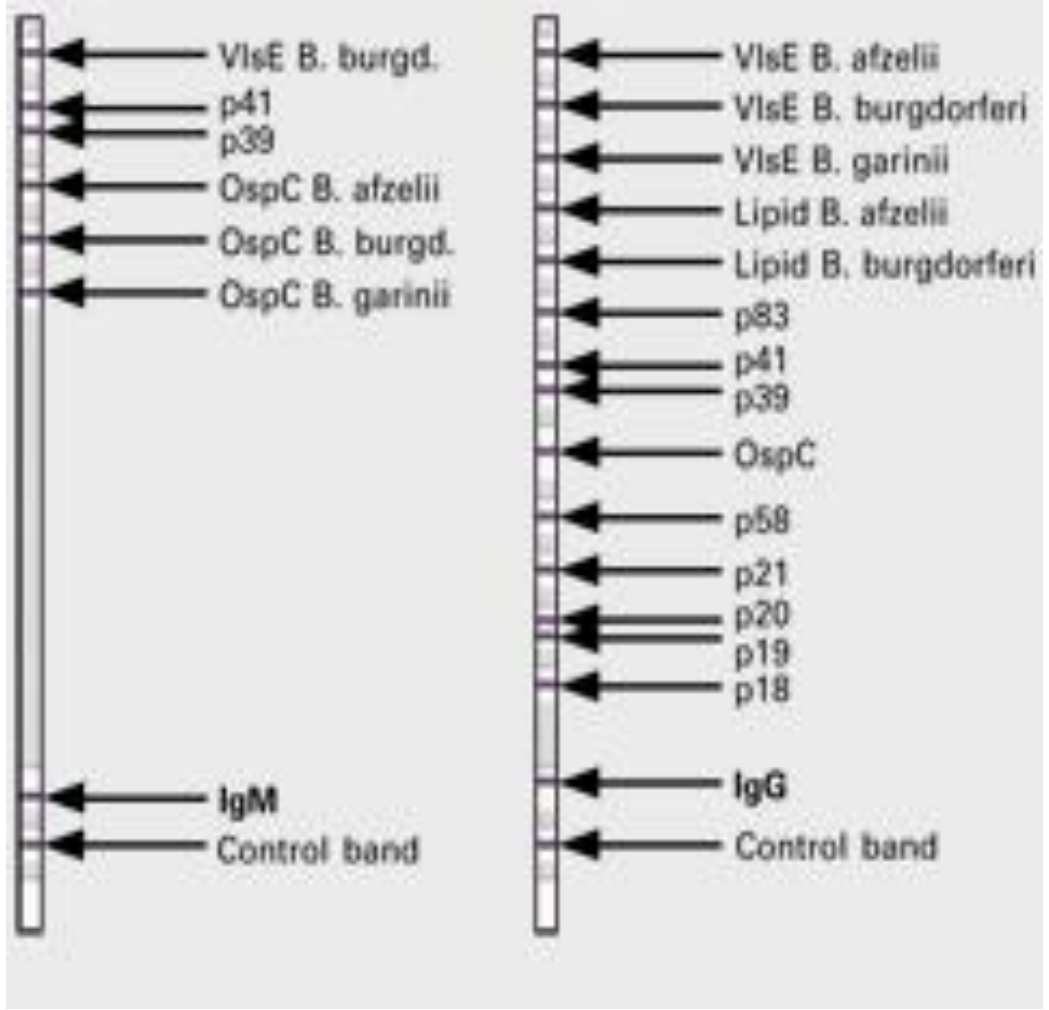


Şekil 3.1.*Borrelia burgdorferi* İçin Spesifik ELISA Stripleri

İmmunblotlama yönteminde Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT (Euroimmun, Medizinische Labordiagnostika AG) test kiti kullanılmıştır. Serum yada plazmada *Borrelia* antijenlerine karşı insan IgG/IgM sınıfı antikorlarını saptamak için kullanılan kalitatif in vitro bir yöntemdir. Toplam analiz süresi 105 dakikadır. Tüm inkübasyon oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Antijen bantlarının pozisyonları nettir. Tüm test striplerinde kontrol bantları bulunmaktadır. Pozitif ve negatif sonuçlar kolaylıkla birbirinden ayırt edilmektedir. Antijen bantlarının yoğunluğu antikor titresinin yoğunluğu ile korelasyon göstermektedir. Kullanılan antijenler oldukça saf olarak affinite kromatografisi ile elde edilmektedir.

Test kiti purifiye antijen kaplı stripler içermektedir. Reaksiyonun birinci basamağında 1:51 dilüe edilmiş olan hasta serumları immunblot striplerinde inkübe edildi. Pozitif numunelerde spesifik IgG antikorları uygun antijenik bölgeye bağlanmaktadır. Bağlanmış olan antikorları tespit etmek için enzim işaretli anti-insan IgG/IgM ile ikinci kez inkübasyon yapıldı ve renk reaksiyonu gözlemlendi. IgG sınıfı antikorların tespiti için kullanılan antijenler p18, p19, p20, p21, p58, OspC (p25), p39, p83, p41, LBb, LBa, VIsE Bg, VIsE Bb ve VIsE Ba'dır. IgM sınıfı antikorların tespiti için kullanılan antijenler ise nativ OspC Bg, Bb ve Ba, p39, p41 ve VIsE Bb'dir.

Sonuç olarak pozitif bulunan numuneler sifiliz yönünden de incelendi. İlk olarak anti Sifiliz testi (Veneral Disease Research Laboratory, Laboquick, Türkiye) kullanıldı. VDRL anti-sifiliz kaset testi ile insan serum ya da plazmasında *T. pallidum* antikorunun immün kromatografik yöntemle kalitatif olarak hesaplanması sağlandı. Şüpheli sonuçlarda TPHA yöntemi (*T.pallidum* Hemagglütinasyon testi, Omega Diagnostic, İngiltere) ile sonuçlar tekrar değerlendirildi.



Şekil 3.2. *Borrelia burgdorferi* IgG ve IgM İmmünblot Yöntemi Gen Bölgeleri.

4. BULGULAR

Çalışmamıza dahil olan 100 MS'li hastanın yaşları 18-59 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 34 ± 12 idi. Hasta popülasyonunun %74'ü kadın, %26'sı erkek hastalardan oluşmaktadır. Çalışmayan hasta popülasyonu %80 olarak tespit edildi. Kene ile temas, hastalar tarafından genel olarak hatırlanmamaktaydı. Kene ile kesin teması olduğu konusunda net cevabı olan sadece 2 hasta vardı. Hastalardan 95'i kene ile herhangi bir teması olmadığını söylerken, 3 hasta hatırlamamaktaydı. Eritema kronikum migrans benzeri lezyon varlığı %8 oranında görüldü. Eklem ağrılarının hastaların %64'ünde mevcut olduğu saptandı.

Hastalık teşhisinin konulması yönünden hastalar 0-10 ve 11 yıl üzeri hastalık teşhisi almış olmaları yönünden ikiye ayrıldı. Araştırmanın bağımsız değişkenleri yaş, cinsiyet, meslek grubu, kene öyküsü, ECM varlığı, ağrı ve MS yılı idi. Bu değişkenlere ait genel özellikler Tablo 4.1' de gösterilmiştir.

İstatistiksel analizler SPSS v.16.0 programı ile yapıldı. Çalışmamıza ait bulguların yaş ve cinsiyet değişkenine göre dağılımın normallik varsayımının incelenmesi sonucunda Kolmogorov-Smirnow testine göre normal dağılım gösterdiği ve Kruskal-Wallis testine göre gruplar arası anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır ($p > 0.05$).

Tablo 4.1. Bağımsız Değişkenler.

Değişkenler	Seçenekler	n	%
Yaş	18-28	26	11
	29-38	36	36
	39-48	27	27
	49 yaş ve üzeri	11	11
Cinsiyet	Kadın	74	74
	Erkek	26	26
Meslek	Çalışmayan	80	80
	Çalışan	13	13
	Öğrenci	7	7
Kene Öyküsü	Yok	95	95
	Hatırlamıyor	3	3
	Var	2	2
Eritema Kronikum Migrans Benzeri Lezyon	Yok	92	92
	Var	8	8
Eklem Ağrısı Varlığı	Var	64	64
	Yok	23	23
	Belirtilmemiş	13	13
MS Yılı	0-10 Yıl	92	92
	11 yıl ve üzeri	8	8

Tablo 4.2. MS li Hastalarda *B.burgdorferi* IgM ve IgG Pozitifliğinin Cinsiyet Değişkenine İlişkin Bulguları.

Değişkenler	Cinsiyet	N	U	p
<i>B.burgdorferi</i> IgM	Kadın	74	866,5	0.22
	Erkek	26		
	Toplam	100		
<i>B.burgdorferi</i> IgG	Kadın	74	937,5	0.42
	Erkek	26		
	Toplam	100		

Katılımcılara ait, Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 4.2’de verilmiştir. Gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

Tablo 4.3. MS li Hastalarda *B.burgdorferi* IgM ve IgG Pozitifliğinin Ağrı Varlığı Değişkenine İlişkin Bulguları.

Değişkenler	Ağrı varlığı	N	sd	χ^2	P
<i>B.burgdorferi</i> IgM	Var	2	2	1,18	0,55
	Yok	95			
	Belirtilmemiş	3			
<i>B.burgdorferi</i> IgG	Var	2	2	1,14	0.56
	Yok	95			
	Belirtilmemiş	3			

Katılımcılara ait, Kruskal-Wallis testi sonuçları Tablo 4.3’de verilmiştir. Gruplar arası anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$)

Tablo 4.4. MS li Hastalarda *B.burgdorferi* IgM ve IgG Pozitifliğinin Eritema Migrans Benzeri Lezyon Değişkenine İlişkin Bulguları.

Değişkenler	Eritema Migrans benzeri lezyon	n	U	p
<i>B.burgdorferi</i> IgM	Var	8	328,50	0.41
	Yok	92		
<i>B.burgdorferi</i> IgG	Var	2	328,50	
	Yok	92		

Katılımcılara ait, Kruskal-Wallis testi sonuçları Tablo 4.4' de verilmiştir. Gruplar arası anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$)

Tablo 4.5. MS li Hastalarda *B.burgdorferi* IgM ve IgG Pozitifliğinin Kene Isırığı Öyküsü Değişkenine İlişkin Bulguları.

Değişkenler	Kene Öyküsü	n	χ^2	p
<i>B.burgdorferi</i> IgM	Var	2	0,91	0.63
	Yok	95		
	Hatırlamıyor	3		
<i>B.burgdorferi</i> IgG	Var	2	0,1	0.94
	Yok	95		
	Hatırlamıyor	3		

Katılımcılara ait, Kruskal-Wallis testi sonuçları Tablo 4.5' de verilmiştir. Gruplar arası anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$)

Tablo 4.6. MS li Hastalarda *B.burgdorferi* IgM ve IgG Pozitifliğinin Meslek Değişkenine İlişkin Bulguları

Değişkenler	Meslek	n	χ^2	p
<i>B.burgdorferi</i> IgM	Çalışan	13	1,31	0.518
	Çalışmayan	80		
	Öğrenci	7		
<i>B.burgdorferi</i> IgG	Çalışan	13	2,56	0.27
	Çalışmayan	80		
	Öğrenci	7		

Katılımcılara ait, Kruskal-Wallis testi sonuçları Tablo 4.6' da verilmiştir. Gruplar arası anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$)

Tablo 4.7. MS li Hastalarda *B.burgdorferi* IgM ve IgG Pozitifliğinin MS Tanı Yılı Değişkenine İlişkin Bulguları.

Değişkenler	MS tanı yılı	n	U	p
<i>B.burgdorferi</i> IgM	0-10 yıl	92	308	0.219
	11 yıl ve üzeri	8		
<i>B.burgdorferi</i> IgG	0-10 yıl	92	326,5	0.03
	11 yıl ve üzeri	8		

Borrelia burgdorferi IgG değişkenine göre 0-10 yıl ve 11 yıl ve üzerindeki sürelerde MS hastası olanlar arasında anlamlı farklılık bulundu ve p değeri 0.03 olarak hesaplandı. Sıra ortalamaları dikkate alındığında 0-10 yıldır MS hastası olanların *B.burgdorferi* IgG antikorlarının daha yüksek olduğu görülmektedir. Western blot yöntemi ile ELISA yöntemi karşılaştırıldığında tüm elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$).

Çalışmamızda IgM antikorlarına ait ELISA testinde pozitif çıkan sonuçlar western blot yöntemi ile doğrulandığında 5 adet yanlış pozitiflik saptanmıştır. Fakat

bu durum çalışmanın değişkenleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa yol açmamıştır ($p>0,05$).

Borrelia burgdorferi pozitif saptadığımız numunelerde sifiliz pozitifliğine rastlanmadı.

5. TARTIŞMA

Lyme hastalığı, son yıllarda çalışmaların yoğunlaştığı ve aynı zamanda ülkemiz dışında çoğu ülkede bildirim zorunlu hastalıklar arasında bulunan önemli bir hastalıktır. Lyme hastalığının erken tedavi edildiği sürece ılımlı ve sekel bırakmayan bir hastalık olduğu görülmektedir. Kene türünün ve rezervuarlarının endemik olduğu ve hasta hikayesinde kene teması olduğu durumlarda hastalığın ilerlemeden saptanması ve ileri bulgular gözlenmeden tedavi edilerek nörolojik, romatolojik ve kardiyak semptomların önüne geçilebileceği bilinmektedir.

Bu tez çalışmasında, MS'li hastaların kanında MS ile nörolojik bulguları benzer olan Lyme hastalığı etkeni *B.burgdorferi* antikorları araştırılarak MS'li hastalarda Lyme hastalığına dikkat çekmek amaçlanmıştır. Bu amaçla hastaların kanında ELISA yöntemi ile *B.burgdorferi* IgM ve IgG antikorları araştırılıp doğrulama testi olarak WB kullanılmıştır.

Ülkemizde Lyme seropozitifliği üzerine çalışmalar olsa da, MS'li hastalarda *B.burgdorferi* antikorlarının araştırıldığı tek bir çalışma bulunmaktadır. Tetik ve ark.'nın yaptığı bu çalışmada MS'li hastalarda *B.burgdorferi* arasında anlamlı bir ilişki olmadığı belirtilmiştir. Araştırmacılar 44 hastanın yer alması ve pozitif bulunan 2 hastanın doğrulama testi ile değerlendirilmemiş olmasını çalışmanın kısıtlılığı olarak belirtmişlerdir (93). Literatürde ülkemizde bu alanda yapılmış başka bir çalışma bulunmamaktadır.

Lyme hastalığının, ülkemizde bildirim zorunlu hastalıklar listesinde yer almaması ve klinik olarak başka hastalıklarla karıştırılabilmesi nedeniyle prevalansı net olarak bilinmemektedir. Ülkemizde yapılmış sınırlı sayıdaki çalışmalarda Lyme hastalığı etkeni olan *Borrelia burgdorferi* seropozitifliği, risk grubunda olan kişilerde (köyde yaşayan veya hayvancılıkla uğraşanlarda *B.burgdorferi* antikor pozitifliği) Ankara'da %6, Trabzon'da %6.6 Antalya'da %22.1-35.9, Denizli'de %18.9 ve İzmir'de %7.8 olarak bildirilmiştir (111). Sağlıklı kişilerde Isparta'da yapılan bir çalışmada kene ısırığı öyküsü olanlarda %17, olmayanlarda %2 oranında seropozitiflik saptanmıştır (112). Kıbrıs'ta sağlıklı kişilerde antikor pozitifliği %2.2-17.6 olarak bulunmuştur (50). Fakat yapılan bu çalışmalarda doğrulama testleri yapılmamıştır.

Yurt dışında bu alanda yapılmış çalışmaların çoğunlukla ABD'de yapıldığı görülmektedir. CDC tarafından açıklanan raporlara göre ABD' de her yıl yaklaşık

30.000 olgu artışının olduğu, rapor edilmiş olan kene kaynaklı infeksiyonların başında Lyme hastalığı geldiği bildirilmiştir. CDC 2013 yılı verilerinde 1990'lı yıllara göre 12 kat artış görülmüştür. Bu olguların çoğunluğu kuzey bölgeleri içermektedir ki %96'sı kuzeyde bulunan 13 bölgede gözlenmiştir (6).

İrlanda da kan donörlerinde yapılan bir çalışmada rezervuarın endemik olarak bulunduğu bölgelerde %8.7 seropozitiflik saptanırken, kene ve kenelerin rezervuarının az veya hiç bulunmadığı bölgelerde seropozitiflik saptanamamıştır (113). İsviçrede kan donörlerinde yapılan ve asıl amacın *Rickettsia* türlerini saptamak olan bir çalışmada, 236 kişiden 136'sında seropozitiflik saptanmış (114). Bu çalışmalarda her ne kadar hayvan modellerinde transfüzyonla geçişin mümkün olduğu gösterilse de kan transfüzyonu açısından bu kanlarda taraması yapılan çoğu hastalık kadar Lyme hastalığının da sık görüldüğü gösterilmiştir (60, 115).

Epidemiyolojik çalışmalar MS ile çevresel faktörlerin ilişkili olduğunu göstermektedir. Kuzey bölgelerde sıcak bölgelere oranla 10 kat daha yoğun olarak görülen coğrafik dağılıma sahiptir (94, 95, 96). Bu durumda Lyme hastalığı ile MS arasında benzer coğrafik dağılım olduğunu göstermektedir. Her ne kadar bölgemizde bu iki hastalığın karışabildiğine dair kesin kanıtlar olmasada ülkemizde kene türlerinin daha yaygın olduğu bölgelerde hastalığın akılda bulunması gerekir.

Staffort ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada ise 1989-1996 yılları arasında aralarında Old Lyme ve Lyme kasabalarının da bulunduğu 12 farklı yerleşkede *I. scapularis* türüne ait 3866 kene toplanmıştır. Hektar başına düşen kene sayısı en çok 1996'da en az ise 1993 yılında görülmüştür. CDC raporlarında ABD'deki Lyme hastalığı vaka sayısı 1996'da 1993'e göre yaklaşık 2 kat fazladır, bu durumda kene varlığının hastalığın sıklığını etkilediğini kanıtlar nitelikte olduğunu göstermektedir (116).

Düzce'de Kaya ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada 153 orman işçisi ve 196 çiftçi olmak üzere 349 kişide Lyme seropozitifliği araştırılmış, %10.9 ELISA, %1.1 Western blot pozitifliği saptanmıştır (117). Çalışmada hastaların nörolojik, kardiyolojik, romatolojik ve dermatolojik bulguları olsa da bunlara istatistiksel verilerde yer verilmemiştir.

Yapılan çalışmalardan da elde edilen sonuçlar göstermektedir ki Lyme hastalığı için bölgelerde spiroketin bulaşmasını sağlayan kenelerin besleneceği

rezervuarların olması, kenelerin *Ixodes* türüne ait olması ve insan gibi duyarlı konağının bulunması gerekmektedir. Bu amaçla sadece bu alanla ilgili çalışanlar değil park ve bahçeler gibi rekreasyon alanları da kene ve buna bağlı olarak Lyme hastalığı yönünden büyük riske sahiptir (118).

Norveç, Kuzey Avrupa'nın en kuzey kısmını oluşturan İskandinav Yarımadası'nın, en kuzeyinde bulunan ülkedir (119). Bu ülkede çok sık MS ile karşılaşmakta olup, Vest-Agder bölgesinde hastalığın daha yaygın olduğu tespit edilmiştir. Buradaki MS'li hastalarla *B.burgdorferi* varlığına ilişkin 10 yılı kapsayan 295 MS'li hastanın dahil edildiği retrospektif bir çalışmada, MS'li hastalarda Lyme hastalığı anlamlı bulunmamıştır (120). MS'li hastaların özellikle Vest-Agder bölgesinde olması da ayrıca dikkat çekicidir. Çünkü bu bölgede diğer yerlerden farklı olarak ormancılıkla geçim sağlanmaktadır. MS'li hastalarda Lyme pozitifliğinin anlamlı düzeyde bulunmamasının nedeni çalışmanın retrospektif olup 295 kişiden 179 hastaya ait antikor verilerine ulaşılmış olması olabilir.

Coğrafik dağılım ile ilgili olarak Aeschlimann ve arkadaşları İsviçre'de yaptıkları bir çalışmada artan rakım ile insidansda azalma gözlendiğini bulmuşlardır. Buna bağlı olarak 600 m yüksekliğe kadar *Ixodes* türlerinin en sık, 1000-1500 metrelerde nadir olduğu 1500 metrelerde ise bulunmadığı tespit edilmiştir. Sivas ilinde Güneş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 1300 metre rakıma sahip olan Sivas ilinde *Ixodes* cinsi keneye rastlanmamasının bir nedeni de rakıma bağlanmıştır (116). Bizim çalışmamızı gerçekleştirdiğimiz Malatya ilinin rakımı ise 977 metredir. Bulduğumuz sonuçlar coğrafik olarak *Ixodes* türü keneler yönünden Malatya ilinin kısmende olsa uygun koşullara sahip olduğunu göstermektedir. MS ve Lyme hastalığı arasında coğrafik dağılımda benzerlik olduğu görülmektedir.

Çalışmada kullandığımız kitlerin diğer markalar ile karşılaştırıldığı bir çalışmada diğer bazı testlerin IgM performansı Avrupa'da tavsiye edilen değerlerin altında bulunmuştur. Kullandığımız kitin ELISA ve blotlama yöntemleri karşılaştırıldığında ise sadece IgM'de 1 yanlış pozitiflik saptanmıştır ve kitlerin özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek olarak saptanmıştır. Yine aynı çalışmada ELISA ve blotlama yöntemlerinin birbirini tamamlayıcı nitelikte olduğu gözlenmiştir (121). Ülkemizde yapılmış olan yine benzer olarak kullandığımız kitlerdeki antijenik bölgelerin in house olarak kullanıldığı bir çalışmada ise 17 hastadan sadece 3'ünde

blotlama yöntemi ile doğrulama sağlanamamıştır (122). Çalışmamızda ise IgM antikörlerine ait ELISA testinde pozitif çıkan sonuçlar western blot yöntemi ile doğrulandığında 5 adet yanlış pozitiflik saptanmıştır. Fakat bu durum çalışmada anlamlı bir farklılığa yol açmamıştır ($p>0,05$). VDRL ile negatif bulduğumuz bu serumlardaki yanlış pozitifliğin sebebi başka çapraz reaksiyonlardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Son zamanlarda ülkemizde Lyme hastalığından daha çok Kırım-Kongo kanamalı ateşi (KKKA) olgularındaki artış nedeniyle kene ısırığına maruz kalan kişiler daha dikkatli takip edilmekte ve bu tip hastalar KKKA'nın endemik olduğu bölgelerden büyük merkezlere yönlendirilmektedir. Bulut ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptığı bir çalışmada, kene ısırığı olan ve KKKA ön tanısı ile yaşları sırasıyla 32, 67, 25 ve 51 yaşında olan 4 kadın olgu Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesine çeşitli illerden (sırasıyla; Tosya, Çankırı, Kastamonu, Karabük) sevk edilmişler. Ancak Lyme hastalığı tanısı bu merkezde koyulmuştur. Olguların gönderildikleri bölgeler KKKA yönünden yüksek riskli bölgeler arasında bulunmaktadır. KKKA yönünden yapılan incelemede, PCR ve IgM testleri ile negatif sonuç alınmıştır. Olguların hepsinde eritema migrans ile uyumlu lezyonların tespit edilmesi nedeniyle Lyme hastalığı tanısı esas olarak klinik bulgular ile koyulmuştur. Serolojik tanının desteklenmesinde Western blot yöntemi uygulanamamış olmasına rağmen olguların serumlarında ELISA ile *B.burgdorferi* total antikor pozitifliği saptanmıştır. CDC kriterlerine göre olgulara Lyme hastalığı tanısı koyulmuş ve hepsi antibiyotik tedavisi (sefuroksim aksetil veya sulbaktam-ampisilin veya amoksisilin-klavulanik asit) ile iyileşmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada ülkemizde son yıllarda artropodlarla bulaşan infeksiyon insidansının arttığı da göz önüne alınarak, kene ısırığı olan olgularda sadece KKKA değil, Lyme hastalığının da akılda bulundurulması, klinik ve laboratuvar bulguları ışığında ayırıcı tanısının yapılması ve gelişebilecek ciddi komplikasyonların önlenmesi için tedaviye erken başlanmasının gerekli olduğu kanısına varılmıştır (123).

Chmielewska-Badora ve arkadaşları 26 MS'li hastanın 10'unda *B.burgdorferi* seropozitiflik saptarken, diğer nörolojik rahatsızlığı bulunan 743 kişinin 149'unda ($p=0.042$) seropozitiflik saptanmıştır (109). Karussis ve ark.'nın yaptığı ve tek bir vakanın incelendiği bir çalışmada ise beş yıl boyunca ağır MS tedavisi almış olan bir hastada ELISA ile *B.burgdorferi* antikörleri negatif tespit edilmiş, beşinci yıl sonunda

hastanın artık iş göremez hala geldiği saptanmış, çeşitli viral ajanlar ve *B.burgdorferi* yönünden ikinci defa fakat farklı olarak referans laboratuara analizleri yaptırılmış, bu testler sonucunda hastanın WB ile yapılan laboratuvar tetkikleri sonucu nöroborelyoz olduğu tespit edilmiş ve yapılan bir yıllık tedavi sonucunda hasta fonksiyonlarında %59 iyileşme tespit edildiği gözlenmiştir (110). Bu vakada MS'li hastalarda Lyme hastalığının göz ardı edilmemesi gerektiğini ve tedavi edildiği takdirde hastalığın iyileşme gösterdiğini kanıtlar niteliktedir. Ayrıca testlerin belli aralıklarla ve referans laboratuvarlar tarafından dikkatli bir şekilde yapılması gerektiği de görülmektedir.

Çalışmamızda 10 yılı aşkın süredir ECM lezyonu taşıyan MS'li hastalarda *Borrelia* IgG değerlerinde ve aynı zamanda WB yönteminde anlamlı bir ilişki ($p < 0.05$) saptandı. Sonuçlar, tedavi edilmemiş hatta fark edilmemiş olan Lyme hastalığı olgularında, Lyme hastalığının MS' i taklit edebileceğini gösterir nitelikte olmakla birlikte ileri çalışmalar bu hastalar tedavi edildiği takdirde nörolojik bulguların azaldığını veya değişmediğini gözlemlemek şeklinde olmalıdır.

B.burgdorferi MS'e neden oluyor mu? veya kan-beyin bariyerinde oluşturduğu hasara bağlı olarak bu hastalarda artan bir duyarlılık mı söz konusudur? MS araştırmalarında bu sorular hala gizemini korumaktadır. Çeşitli patojenler MS ile ilişkili olabilir fakat bu enfeksiyonlar MS'i başlatır veya devam ettirir dememiz henüz mümkün değildir. Bu kesinlikle MS ile ilişkili olduğu düşünülen tüm enfeksiyöz patojenler için de geçerlidir (104).

Borrelia burgdorferi enfeksiyonu (Lyme hastalığı) olan kişilerde aylar hatta yıllar sonra kronik ensefalopati, polinöropati, ya da daha az sıklıkla lökoensefalopati gelişebilmektedir. Bu kronik nörolojik anormallikler genellikle antibiyotik tedavisi ile düzelmektedir (124) bu nedenle hastalığın erken veya geç dönemlerinde fark edilip tedavi edilmesi bu enfeksiyon hastalığında önemlidir.

Bu çalışmalar bizlere farklı yönlerden çeşitli mesajlar vermesi yanında artropod kaynaklı enfeksiyonlardan biri olan Lyme hastalığı şüphesinde izlenmesi gereken yolu da göstermektedir. Bunlardan ilki, ülkemizde sık görülmeyen hastalıklara çeşitli sağlık kuruluşlarında rastlanabileceği, bu nedenle çok sık karşılaşılan bir hastalık olmasa da, tanı koydurucu özelliklerinin hekimler tarafından bilinmesinin gerekliliğidir. Bir diğeri, özgül olarak Lyme hastalığının tanımlanması ile ilgilidir. Lyme hastalığı ile ilişkili bulgular görüldüğünde ve sağlık

kuruluşunda özgül testler bulunmadığı durumda, hastanın bu bulgular ile bir diğer basamaktaki kuruluşa yönlendirilmesi tedavi sürecine katkı sağlayacaktır. Ayrıca, geniş hasta spektrumuna sahip her basamaktaki acil servislerde hekimlerin hastayı dinledikten sonra - ülkemizde özellikle mevsimsel olarak- Lyme hastalığı gibi artropod kaynaklı bir enfeksiyon açısından şüphe varsa fizik muayeneyi detaylı olarak yapmaları gerekmektedir.

Lyme hastalığı kenelerin rezervuar olduğu zoonotik bir enfeksiyondur. Bu nedenle *Ixodes* cinsi kenelerin epidemiyolojik olarak insidansının yüksek olduğu bölgelerde, keneler ve kenelerin konağı olan hayvanlar yönünden ayrıntılı olarak araştırılmalı, buna bağlı olarak öncelikle bu hayvanlardaki *B.burgdorferi* prevalansı belirlenip çalışmalar bu rezervuarların yoğun olduğu bölgelerde hızlandırılmalı ve insanlardaki prevalans ve buna bağlı olarak da diğer hastalıklara katkısı incelenmelidir. Ayrıca korunma yolları konusunda halk bilinçlendirilmeli ve kene ısırığı olaylarını önlemeye yönelik çalışmalar yapılması gerektiği kanısındayız. Bu amaçla ülkemizde multidisipliner olarak gruplar oluşturulmalı ve diğer ülkelerde olduğu gibi yoğun çalışmalar yapılmalıdır.

Polonyada 1997-2000 yılları arasında 769 nöroloji hastası ile yapılan seroepidemiolojik bir çalışmada ELISA yöntemiyle *B.burgdorferi* antikorları araştırılmıştır. MS'li hastalarda *Borrelia* seropozitifliği %38.5 iken diğer nörolojik hastalığı olanlarda yaklaşık 2 kat daha az olmak üzere %19.4 bulunmuş ve nörolojik hastalığı olan kişilerden özellikle MS olanlarda MS ve *Borrelia* enfeksiyonunun birlikte görülme sıklığının daha fazla olduğu yönünde bildirim yapılmıştır (123). Başka bir çalışmada endemik olarak *B.burgdorferi* görülen bir bölgede yaşayan muhtemel MS olarak kabul edilen 11 hastanın 2'sinde *B.burgdorferi* antikorları pozitifken, kesin MS tanısı almış 89 hastadan 1'inde pozitiflik saptanmıştır. Bu çalışmada MS'de *B.burgdorferi* enfeksiyonunun nadir olduğu ve MS ayırıcı tanısında Lyme hastalığının önemli bir rolü olmadığı rapor edilmiştir (124). Buna karşılık başka bir çalışmada ise kesin MS tanısı almış olan 55 hastada Lyme araştırılmış ve sadece 3 hastada seropozitiflik saptanmıştır ve MS gibi etiyolojisi bilinmeyen hastalıkların ayırıcı tanısında, Lyme hastalığının göz önünde tutulmasının önemli olduğu sonucuna varılmıştır (126). Baranova ve ark.'larının Rusya'da 100 MS'li hastada yaptığı çalışmada ise 19 hastada MS ve Lyme bulguları birlikte görülmüş ve sonuç olarak tanı,

tedavi, klinik özellikler incelenerek bu hastaların değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varmışlardır (127).

Cassarino ve arkadaşlarının, yaptıkları araştırmada ise, 1995 yılında ECM, eklem ağrıları ve titremesi olan, çeşitli klinisyenler tarafından klinik olarak parkinson tanısı konulmuş, 63 yaşındaki bir erkeğin, 1999 yılında serum ve serebrospinal sıvısında ELISA ve PCR ile *B.burgdorferi* antikoru pozitif bulunmuştur. Hastalığın kısa sürede ilerlemesi sonucunda hasta kaybedilmiştir. *B.burgdorferi* antikoru pozitif olan bu hastanın otopsisinde, literatürde ilk kez olmak üzere, Lyme hastalığına bağlı parkinson ve merkezi sinir sistemi dejenerasyonu rapor edilmiştir (128). MS dışında diğer nörolojik hastalıklarda da yapılacak laboratuvar testleri ile Lyme hastalığının dışlanması gerekmektedir.

Mansouri ve arkadaşlarının MS' de risk değerlerini araştırdığı bir çalışmada kadınların erkeklere oranla 3/1 oranında MS'le daha sık karşılaştığı ve yaş ortalamasının 32 olduğu tespit edilmiştir (129). Yaptığımız çalışmada benzer olarak %76 oranında MS'li kadın hasta bulunduğu, yaş ortalamasının ise 34 olduğu görülmektedir.

Nöroborelyoza sadece insanlar ve primatların duyarlı olduğu belirlenmiştir. *B.burgdorferi* ile infekte edilen beş rhesus maymununda periferik nöropati geliştiği tespit edilmiş ve postmortem analizlerinde sinir kılıfı fibrozu ve fokal demiyelinizasyon görüldüğü belirtilmiştir. Lyme hastalığı beyinde ak maddeyi infekte etmektedir (130). MS'de benzer olarak ak maddenin nöroinflamatuvar bir hastalığı olmakla birlikte, fokal enflamasyon ve demiyelinizasyon, aksonal dejenerasyon görülmektedir (47, 93). Patolojik süreç her iki hastalıkta da benzerlik göstermektedir. Lenfositik sistem aktive olmakta, matriks metalloproteinaz ve otoantikor üretimi indüklenmekte ve hastalığın geç döneminde MS'e benzer olarak santral sinir sisteminde demiyelinizasyon olduğu görülmüştür (109). Bu patolojik veriler Lyme hastalığı ile MS bulgularının benzer olduğunu ve klinik bulgularla birbirini taklit edebileceğini açıklar niteliktedir.

Hytönen ve arkadaşlarının Lyme nöroborelyozu ve bunun dışında viral, sifilize ve MS'e bağlı nöroinflamatuvar hastalıkları araştırdığı bir çalışmada BOS CXCL13 ve neopterin seviyelerinin Lyme nöroborelyozu olmayan kişilerde daha az seviyede olduğunu tespit etmişlerdir. Hastaların uygun ilaç tedavisi ile iyileşme sağladığı tespit

edilmiştir (131). Bu çalışma MS ile Lyme ayrımının yapılmasının sağlanabileceği önemli bir laboratuvar bulgusu olduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Lyme hastalığı erken tedavi edildiği sürece ılımlı ve sekel bırakmayan bir hastalıktır. Kene türünün ve rezervuarlarının endemik olduğu ve hasta hikayesinde kene teması olduğu durumlarda ilerlemeden saptanması ve ileri bulgular gözlenmeden tedavi edilmesi gereken bir hastalık olduğundan spesifik bulgular bulunduğu her ne kadar yüksek seroprevalansa sahip olmasa da klinisyen tarafından düşünülmesi gerekmektedir.

Ülkemizin coğrafi koşullarının özellikle mevsimsel özelliklere bağlı olarak artropod kaynaklı infeksiyonların insidansını artırdığı ve başta Kırım Kongo Kanamalı Ateşi (KKA) olmak üzere artropodlarla bulaşan infeksiyonların insidansının arttığı da göz önüne alınarak, kene ısırığı olan olgularda her ne kadar henüz KKA gibi bildirim zorunlu hastalıklar arasında bulunmasa da Lyme hastalığının da akıllarda olması gerektiği ve bu nedenle çalışmamızdan da elde ettiğimiz sonuçlarla da edindiğimiz kanıya dayanarak ileride gelişebilecek ciddi komplikasyonların önlenmesi için tedaviye başlanması gerektiği göz ardı edilmemelidir. Bunun yanı sıra Lyme hastalığı için vektör konumunda olan kene türleri ve bu kenelerin konak olarak bulunduğu hayvanlar ile ilgili olarak yapılacak çalışmalar da hastalığın ülkemizdeki durumu epidemiyolojik açıdan daha net olarak belirlenecektir. Genel olarak ülkemizde insidansda görülen düşüklüğün bir diğer sebebi hastalığın ülkemizde sık görülmemesinden çok bildirim zorunlu olmayan bir hastalık olmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

MS'li hastalarda prevelansın belirlenmesi gerektiğini ve ciddiyeti göstermeye çalışmakta ileriki çalışmalarda özellikle ileri derecede endemik bölgelerde, sadece MS'li hastalarda değil nörolojik bulguların yanında dermatolojik, kardiyolojik ve romatolojik bulgular veren Lyme hastalığının bu tür bulgularla seyreden hastalıklarda da akılda olması gerektiği ve oluşan resmin sadece kısmen görüldüğü bölgesel çalışmalar değil bir sürveyans sistemi ile bu hastalıklardaki gerçek rakamların görülmesi gerektiği kanısındayız. Bu çalışmanın sonucu MS ile uzun süre tedavi edilmeyen *B. burgdorferi* infeksiyonlu hastalarda Lyme hastalığının MS'i taklit edebileceği bulgusunu taşımaktadır.

7. KAYNAKLAR

- 1) Jr Winn, W., Allen, S, Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P., Woods, G. (2006).Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. (6.bs).USA: Lippincott Williams&Wilkins.
- 2) Burgdorfer, W., Barbour, AG. , Hayes, SF., Benach, JL., Grunwaldt, E., Davis, JP. (1982). Lyme disease-a tick-borne spirochetosis? *Science*, 216, 1317-1319.
- 3) Bulut, C., Koçak, Tufan, Z., Altun, Ş., Altinel, E., Kınıklı, S., Pekcan, Demiröz, A. (2009). An overlooked disease of tick bites: Lyme disease. *Mikrobiyol Bul*, 43,487-492.
- 4) Murray, PR., Rosenthal KS., Pfaller M. (2008). Medical Microbiology.(8.bs.) USA : MOSBY Elsevier.
- 5) Stanek, G., Reiter, M. The expanding Lyme Borrelia complex: clinical significance of genomic species? (2011)*Clin Microbiol Infect*,17,487–493.
- 6) <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/lyme/ldhumandisease diagnosis.htm>
- 7) Bushwald, A. Ein Fall von diffuser idiopathischer Haut-Athrophie. *Arch Dermatol Syph*. 1883,10,553.
- 8) Herxheimer, K., Hartmann, K. Über Acrodermatitis chronica athrophicans. *Arch Dermatol Syph*. 1902,61,57.
- 9) Gargılı A. (2008). Lyme Hastalığı Etken ve Epidemiyoloji. *II. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu*, Kene Kaynaklı Enfeksiyonlar , 27-28 Kasım 2008, Ankara, (s.89-92).
- 10) Doğancı, L., Baylan, O. (2002). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Ankara, Nobel Kitabevi.
- 11) İşeri, L., Durmaz, B. (2000). Borrelia ve Lyme hastalığı. *Turgut Özal Tıp Dergisi*, 7, 286-292.
- 12) 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*, 20,7–17.
- 13) Kuschak, T. (2007). The laboratory diagnosis of Lyme borreliosis: Guidelines from the Canadian Public Health Laboratory Network. *Can J Infect Dis Med Microbio*,18,145-148.

- 14) Çakır, N., Akandere, Y., Hekim, N., Kovancı, E., Yazıcı, H. (1990). Türkiye’de iki Lyme olgusu. *Klinik Geliş Derg*,4 ,839.
- 15) Köksal, İ., Salıoğlu, N., Bingül, T., Öztürk, H. (1990). Bir Lyme hastalığı olgusu. *Ankem Dergisi*,4, 284.
- 16) Şen, E. (2006). Lyme hastalığının mikrobiyolojik tanısı. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg*, 36, 49-54.
- 17) Polat, E.,Turhan, V.,Aslan, M., Müsellim, B., Önem, Y., Ertuğrul, B. (2010).Türkiye’ de ilk kez etkenleri kültürde üretilen üç insan lyme hastalığı olgusu. *Mikrobiyol Bul*, 44,133-139.
- 18) Preac, M.V, Wanner, G., Reinhardt, S., Busch, U., Marget, W.(1996). Formation and cultivation of *B.burgdorferi* spheroplast-L form variant. *Inf*, 24,218-226
- 19) Brorson, Q., Brorson, SH. (1997).Transformation of cystic forms of *B.burgdorferi* to normal mobile spirochetes. *Inf.*,25,240-246.
- 20) Fraser, C. M., Casjens, S., Huang, W. M., Sutton G.G., Clayton, R., Lathigra R., White, O., Ketchum, K. A., Dodson, R., Hickey, E. K., Gwinn, M., Dougherty, B., Tomb, J. F., Fleischmann, R.D., Richardson, D., Peterson, J., Kerlavage, A. R., Quackenbush, J., Salzberg, S., Hanson, M., Vugt, R. Van., Palmer, N., Adams, M. D., Gocayne, J., Venter, J. C.(1997). Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature*,390,580–586.
- 21) Casjens, S., Palmer, N., Vugt, R. Van., Mun, H. W., Stevenson, B., Rosa, P., Lathigra, R., Sutton, G., Peterson, J., Dodson, R. J., Haft, D., Hickey, E., Gwinn, M., White, O., Fraser, M. (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*. *Mol. Microbiol.* 35,490–516.
- 22) Agüero-Rosenfeld, M.E., Wang, G., Schwartz, I.,Wormser, G.P. (2005).Diagnosis of Lyme Borreliosis. *Clinical Microbiology Reviews*,18, 484–509.
- 23) Fraser, C.M., Casjens, S., Huang, W.M. (1997).Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature*,390,580–586.
- 24) Kaiser, G.E., Doetsch, R.N. (1975)Enhanced translational motion of *Leptospira* in viscous environments. *Nature*, 255,656–657.

- 25) Greenberg, E.P., Canale-Parola, E. (1977). Motility of flagellated bacteria in viscous environments. *J Bacteriol*, 132,356–358.
- 26) Berg, H.C, Turner, L. (1979). Movement of microorganisms in viscous environments. *Nature*, 278, 349–351.
- 27) Kimsey, R.B, Spielman A. (1990). Motility of Lyme disease spirochetes in fluids as viscous as the extracellular matrix. *J Infect Dis*, 162,1205–1208.
- 28) Johnson, R.C., Marek, N., Kodner, C. (1984). Infection of Syrian hamsters with Lyme disease spirochetes. *J Clin Microbiol*,20,1099–1101.
- 29) Schwan, T.G., Burgdorfer, W., Garon, C.F. (1988).Changes in infectivity and plasmid profile of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, as a result of *in vitro* cultivation. *Infect Immun*,56,1831–1836.
- 30) Labandeira-Rey, M., Skare, J.T. (2001). Decreased infectivity in *Borrelia burgdorferi* strain B31 is associated with loss of linear plasmid 25 or 28-1. *Infect Immun*,69, 446–455.
- 31) Purser, J.E., Lawrenz, M.B., Caimano, MJ. (2003). A plasmid-encoded nicotinamidase (PncA) is essential for infectivity of *Borrelia burgdorferi* in a mammalian host. *Mol Microbiol*, 48,753–764.
- 32) Posey, J.E., Gherardini, F.C. (2000). Lack of a role for iron in the Lyme disease pathogen. *Science*, 288 , 1651–1653.
- 33) Botkin, D.J., Abbott, A., Stewart, P.E. (2006). Identification of potential virulence determinants by *HimarI* transposition of infectious *Borrelia burgdorferi* B31. *Infect Immun*,74, 6690– 6699.
- 34) Warren, R., Heymann, M.D., Dana, L.,Ellis M.D. (2012). *B.burgdorferi* Infections in The United States. *J Clin Aesthet Dermatol.*,5,18-28
- 35) Li, X., Neelakanta, G., Liu, X. (2007). Role of outer surface protein D in the *B.burgdorferi* life cycle. *Infect Immun.*,75, 4237-44.
- 36) Tilly, K., Krum, J.G, Bestor, A. (2006). *Borrelia burgdorferi* OspC protein required exclusively in a crucial early stage of mammalian infection. *Infect Immun* .74, 554–3564.
- 37) Bankhead, T., Chaconas, G. (2007). The role of VlsE antigenic variation in the Lyme disease spirochete: persistence through a mechanism that differs from other pathogens. *Mol Microbiol*, 65, 1547–1558.

- 38) Pal, U., Yang, X., Chen, M. (2004). OspC facilitates *Borrelia burgdorferi* invasion of *Ixodes scapularis* salivary glands. *J Clin Invest.* 113,220–230.
- 39) Seinost, G., Dykhuizen, D.E., Dattwyler, R.J. (1999). Four clones of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto cause invasive infection in humans. *Infect Immun*,67,3518–3524.
- 40) Hu, L.T., Perides, G., Noring, R. (1995). Binding of human plasminogen to *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun*, 63,3491–3496.
- 41) Coleman, J.L., Gebbia, J.A., Piesman, J. (1997). Plasminogen is required for efficient dissemination of *B.burgdorferi* in ticks and for enhancement of spirochetemia in mice. *Cell*,89,1111–1119.
- 42) Woodman, M.E., Cooley, A.E., Miller, J.C. (2007). *Borrelia burgdorferi* binding of host complement regulator factor H is not required for efficient mammalian infection. *Infect Immun*,75, 3131– 3139.
- 43) Tilly, K., Rosa, P.A., Stewart, P.E. (2008). Biology of Infection with *Borrelia burgdorferi*. *Infect Dis Clin North Am.* 22, 217–234.
- 44) Sapi, E., Bastian, S.L., Mpoy, C.M., Scott, S., Rattella, A., Pabbati, N., Poruri, A., Burugu, D., Teophilus, P.A.S., Pham, T.C., Datar, A., Dhaliwal, N.K., MacDonald, A., Rossi, M.J., Sinha, S.K., Luecke, D.F. (2012). Characterization of biofilm formation by *B.burgdorferi* in vitro. *PloS ONE*,7, 1-11.
- 45) Stricker, R.B., Johnson, L., (2011). Lyme disease: the next decade. *Inf. and Drug Resistance*,4,1-9.
- 46) Tekbıyık, S. (2005). İnsanlarda ve hayvanlarda *B.burgdorferi* infeksiyonunun ELISA yöntemiyle tanısı. Yüksek Lisans Tezi. Aydın, Adnan Menderes Üniversitesi.
- 47) Tardieu, M., Deiva, K. (2013). Rare inflammatory diseases of the white matter and mimics of Multiple sclerosis and related disorders. *Neuropediatrics*,44,302-308.
- 48) Yemişen, M., Mete, B., Balkan, İ.İ. (2012). Lyme disease. *Journal of Experimental and Clinical Medicine.* 29, 169-174.
- 49) Schuijt, T.J., Hovius, J.W., Poll, V.D. (2011). Lyme borreliosis vaccination: the facts, the challenge, the future. *Trends in Parasitology.* 27,40-47.

- 50) Özkurt Z. (2007). Türkiye’de *Borrelia burgdorferi* İnfeksiyonları ve Tanı İlkeleri. Klimik XIII. Türk klinik mikrobiyoloji ve infeksiyon hastalıkları kongresi. 109-118.
- 51) Aydın, L., Bakirci, S. (2007). Geographical distribution of ticks in Turkey. *Parasitol Res.*, 101,163–166.
- 52) Levinson, W. Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. (2008). Çeviri editörü Tuncay özgünen. (9.bs). Güneş Tıp Kitapevleri.
- 53) Fraser, C.M., Casjens, S., Huang, W.M., Sutton, G.G, Clayton, R., Lathigra, R., White, O., Ketchum, K.A., Dodson, R., Hickey, E.K., Gwinn, M., Dougherty, B., Tomb, J.F., Fleischmann, R.D., Richardson, D., Peterson, J., Kerlavage, A.R., Quackenbush, J., Salzberg, S., Hanson, M., Vugt, R., Palmer, N., Adams, M.D., Gocayne, J., Weidman, J., Utterback, T., Watthey, L., McDonald, L., Artiach, P., Bowman, C., Garland, S., Fuji, C., Cotton, M.D., Horst, K., Roberts, K., Hatch, B., Smith, H.O., Venter, J.C. (1997). Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature*, 390, 580-586.
- 54) Berger, B.W.,Johnson, R.C., Kodner, C., Coleman, L., Brook, S. (1995). Cultivation of *B.burgdorferi* from human tick bite sites: a guide to the risk of infection. *J Am Acad Dermatol*,32,184- 187.
- 55) Hildenbrand, P., Craven, D.E., Jones, R., Nemeskal, P. (2009). Lyme Neuroborreliosis: Manifestations of a Rapidly Emerging Zoonosis. *AJNR Am J Neuroradiol*,30,1079–87.
- 56) Huegli, D.,Moret, J. (2011). Prospective study on the incidence of infection by *B.burgdorferi* sensu lato after a tick bite in a highly endemic area of Switzerland. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2, 129-136.
- 57) Stechenberg, B.W. (1988). Lyme disease: the latest great imitator. *Pediatr Infect Dis J*,7, 402- 409.(Abstract)
- 58) Mullegger, R.R. (2004). Dermatological manifestations of Lyme borreliosis. *Eur J Dermatol.*,1485,296-309.
- 59) Dandache, P.,Nadelman, R.B. (2008). Erythema migran. *Infect Dis Clin North Am.* , 22, 235-260.

- 60) Gabitzsch, E.S., Piesman, J., Dolan, M.C., Sykes, C.M., Zeidner, N.S. (2006). Transfer of *Borrelia burgdorferi* s.s infection via blood transfusion in a murine model. *J Parasitol.* ,92,869-870.
- 61) Wilske, B., Fingerle, V., Schulte-Spechtel, U. (2007). Microbiological and serological diagnosis of Lymeborreliosis.*FEMS Immunol Med Microbiol.* ,49,13-21.
- 62) Barbour, A. G.(1984). Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes.*Yale J. Biol. Med.*, 57, 521–525.
- 63) 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. *JID.*, 183,453-460.
- 64) Magnarelli, L.A., Flavell, R.A., Padula, S.J., Anderson, J.F., Fikrig, E. (1996). Use of recombinant antigens of *Borrelia burgdorferi* in serologic test for diagnosis of Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol.*, 34, 237-240.
- 65) Schutzer, S.E., Coyle, P.K., Dunn, J.J., Luft, B.J., Brunner, M. (1994). Early and spesific antibody response to OspA in Lyme Disease. *J Clin Invest.*, 94,454-457.
- 66) Zbinden, R., Goldenberger, D., Lucchini, G.M., Altwegg, M. (1994). Comparision of two methods for detecting intrathecal synthesis of *Borrelia burgdorferi*-specific antibodies and PCR for diagnosis of Lyme neuroborreliosis. *J Clin Microbiol.*,32, 1795- 1798.
- 67) Cutler, S.J., Wright, D.J. (1994). Predictive value of serology in diagnosing Lyme borreliosis. *J Clin Pathol.*, 47,344-349.
- 68) Steere, A.C., Taylor, E., McHugh, G.L., Logigian, E.L. (1993). The overdiagnosis of Lyme disease. *JAMA.*,269, 1812- 1816.
- 69) Seppala, I.J.T., Kroneld, R., Schauman, K., Forsen, K.O., Lassenius, R. (1994). Diagnosis of Lyme borreliosis: non-specific serological reactions with *Borrelia burgdorferi* sonicate antigen caused by IgG₂ antibodies. *JMM.*, 40,293-302.
- 70) Ledue, T.B., Collins, M.F., Young, J., Schriefer, M.E. (2008). Evaluation of the recombinant VIsE-based liaison chemiluminescence immunoassay for detection of *B.burgdorferi* and diagnosis of Lyme disease. *Clin Vaccine Immunol.*,12,1796-1804.

- 71) Liang, F.T., Alvarez, A.L., Gu, Y., Nowling, J.M., Ramamoorthy, R., Philipp, M.T. (1999). An immunodominant conserved region within the variable domain of VlsE, the variable surface antigen of *Borrelia burgdorferi*. *J. Immunol.* 163, 5566–5573.
- 72) Dumler, J. S. (2001). Molecular diagnosis of Lyme disease: Review and meta-analysis. *Mol. Diagn.*, 6, 1–11.
- 73) Ljqtstad, U., Mygland, A.(2013). Chronic Lyme; diagnostic and therapeutic challenges. *Acta Neurol Scand.*,127, 38-47.
- 74) Wilske, B., Fingerle, V., Schulte-Spechtel, U. (2007). Microbiological and serological diagnosis of Lymeborreliosis.*FEMS Immunol Med Microbiol.*,49,13-21.
- 75) Wilske, B., Fingerle, V., Schulte-Spechtel, U. (2007). Microbiological and serological diagnosis of Lymeborreliosis.FEMS Immunol Med Microbiol., 49,13-21.
- 76) Ligor M, Olszowy P, Buszewski B. (2012). Application of medical and analytical methods in Lyme borreliosis monitoring. *Anal Bioanal Chem.*. 402, 2233-2248.
- 77) Barbour, A.G, ,Jasinkas, A., Kayala, M.A. (2008). A genome-wide proteome array reveals a limited set of immunogenes in natural infections of human and white-footed mice with *B.burgdorferi*. *Infect.Immun.*;76, 3374-3389.
- 78) Margues, A., Telford, S.R 3rd, Turk, S.P., Chung, E., Williams, C., Dardick, K. (2014). Xenodiagnosis to detect *Borrelia burgdorferi* infection: A First-in-Human Study. *Clin Infect Dis.*, 58,937-945.
- 79) Murray, T.S., Shapiro, E.D. (2010). Lyme disease.*Clin Lab Med.*,30,311-328.
- 80) Plotkin, S.A., Plotkin S.L The development of vaccines:how the past led to the future. *Nat. Rev. Microbiol.* 9, 889-893.
- 81) Schuijt, T.J, Hovius J.W, Poll V.D. (2011).Lyme borreliosis vaccination: the facts, the challenge, the future.*Trends in Parasitology.*,27,40-47.
- 82) Plotkin, S.A. (2011). Correcting a public health fiasco: The need for a new vaccine against Lyme disease.*Clin.Infect Dis.*, 52, 271-275.
- 83) Embers, M.E. ,Narasimhan, S. (2013). Vaccination against Lyme disease: past, present, future. *Cellular and infection Microbiology review article.*,3,1-15.

- 84) Niin, E., Laine, M. Guiot, A.L., Demerson, J.M., Cliquet, F. (2008). Rabies in Estonia: situation before and after the first campaign so for al vaccination of wild life with SAG2 vaccine bait. *Vaccine*. 26, 3556-3565.
- 85) Hovius, J.W., Levi M, Fikrig, E. Salivating for knowledge: potential pharmacological agents in tick saliva. *PLoS Med*.5, 202-208.
- 86) Pariz,i L.F., Githaka, N.W., Logullo, C., Konnai, S., Masuda, A., Ohashi, K. (2012). The quest for a universal vaccine against ticks: cross-immunity sights. *Vet.J.*,194, 158-165.
- 87) Sterner, R.T., Meltzer, M.I., Shwiff, S.A., Slate, D. (2009). Tactics and economics of wild life oral rabies vaccination, Canada and the United States.*Emerg. Infect.Dis.*,15,1176-1184.
- 88) Embers, M.E.,Narasimhan, S. (2013). Vaccination against Lyme disease: past, present, and future.*Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*.,3,1-15.
- 89) Piesman, J., Mather, T.N., Sinsky, R.J. (1987). Duration of tick attachment and *Borrelia burgdorferi* transmission.*J Clin Mic.*, 25: 557-558.
- 90) Buchstein, S.R., Gardner, P. Lyme Disease. (1991). *Infect Dis Clin N Am.*,5,103.
- 91) Nadelman, R.B., Nowakowski, J.,Fish, D. Prophylaxis with single dose doxycycline fort he prevention of Lyme disease after an Ixodes scapularis tick bite. (2001). *N Engl J Med.*,345, 79-84.
- 92) Nadelman RB, Luger SW, Frank E. Comparision cefuroxime axetil and doxycycline in the treatment of early Lyme disease. *Ann Intern Med*. 1992; 117: 273-280.
- 93) Tetik, Koşan, T. (2011). Multipl Skleroz Hastalarının Serum Ve/Veya Bos'larında Ebv, Cmv, VzV, Hsv-1, Hsv-2, Hhv-6b Ve Borrelia Burgdorferi'ye Ait Antikorların Ve/Veya Nükleik Asitlerin Araştırılması. Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Manisa.
- 94) Kakalacheva, K., Münz, C., Lünemann, J.D. (2011). Viral triggers of multiple sclerosis.Molecular basis of disease. *Biochemica et Biophysica Acta.*,1812,132-140.
- 95) www.itfnoroloji.org/MS/MS.htm
- 96) www.mssociety.org.uk

- 97) Garnieri, E., Casetta, I., Tola, M.R., Ferrante, P. Multiple sclerosis: infectious hypothesis. *Neurol Sci*, 22, 179-185.
- 98) Rosati, G. (2001). The prevalence of multiple sclerosis in the world :an update. *Neurol Sci* , 22, 117-139.
- 99) Tunalı, G. (2004.) Multipl sklerozda tanı kriterleri. *Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi*, 2, 205-209.
- 100) Brinar, V.V., Haber, M. (2010). Rare infections mimicking MS. *Clin Neurol Neurosurg.*, 112, 625-628.
- 101) Fritzsche, M. (2005). Chronic Lyme borreliosis at the root of multiple sclerosis- is a cure with antibiotics attainable?. *Med Hypotheses*, 64, 438-448.
- 102) Rowland, P.L., (2008) Multiple Skleroz. Merritt's Neurology. 11. bs .Güneş kitabevi, Ankara.
- 103) Kakalacheva, K., Münz, C., Lünemann, J.D. (2011). Viral triggers of multiple sclerosis. Molecular basis of disease. *Biochemica et Biophysica Acta.*, 1812, 132-140.
- 104) Wolfson, C., Talbot, P. (2002). Bacterial infection as a cause of multiple sclerosis. *The Lancet.*, 360, 352.
- 105) Hernan, M.A., Zhang, S.M., Lipworth, L., Olek, M.J., Ascherio, A. (2001). Multiple sclerosis and age at infection with common viruses. *Epidemiology*, 12, 301-306.
- 106) Fritzsche, M. (2005). Chronic Lyme borreliosis at the root of multiple sclerosis- is a cure with antibiotics attainable?. *Medical Hypotheses.*, 64, 438-448.
- 107) Hildenbrand, P., Craven, D.E., Jones, R., Nemeskal, P. (2009). Lyme neuroborreliosis: manifestations of a rapidly emerging zoonosis. *J Neuroradiol.*, 30, 1079- 1087.
- 108) Blewett, M.M. (2008). Hypothesized role of galactocerebroside and NKT cells in the etiology of multiple sclerosis. *Med hypotheses.*, 70, 826-830.
- 109) Chmielewska-Badora, J., Cisak, E, Dutkiewicz, J. (2007). Lyme borreliosis and multiple sclerosis: any connection? A seroepidemic study. *Ann Agric Environ Med.*, 7, 141-143.

- 110) Karussis, D., Weiner, H.L., Abramsky, O. (1999). Multiple sclerosis vs Lyme disease: a case presentation to a discussant and review of the literature. *Mult Scler.*, 5, 395-402.
- 111) Uyanık M. H, Yazgı H, Ayyıldız A. (2009). Seropositivitiy Of Lyme Disease In Erzurum Province, Turkey. *Turkish Journal of Infection.*,23: 69-72.
- 112) Güneş T, Poyraz Ö, Kaya S, Gençer L, Alim A. (2005). Sivas Yöresinde *Borrelia Burgdorferi* Vektörlerinin Ve Lyme Seropozitifliğinin Araştırılması, *Mikrobiyol Bült*, 39: 503-508.
- 113) Robertson, J.N., Gray, J.S., McDonald, S., Johnson, H. (1998). Seroprevalence of *B.burgdorferi* sensu lato infection in blood donors and park rangers in relation to local habitat. *Zentralbl Bakteriolog.* 288, 293-301.
- 114) Elfving, K., Lindblom, A., Nilsson, K. (2008). Seroprevalence of Rickettsia spp. infection among tick-bitten patients and blood donors in Sweden. *Scand J Infect Dis.*, 40,74-77.
- 115) Gabitzsch, E.S., Piesman, J., Dolan, M.C., Sykes, C.M., Zeidner, N.S. (2006). Transfer of *Borrelia burgdorferi* s.s infection via blood transfusion in a murine model. *J Parasitol.* 92; 869-870.
- 116) Güneş, T. (2002). Yöremizde Risk Gruplarında Lyme Seropozitifliğinin ve Kenelerde *B.burgdorferi* Taşıyıcılığının Araştırılması. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Sivas.
- 117) Kaya, A.D., Parlak, A.H., Öztürk, C.E., Behçet, M. (2008). Seroprevalence of *B.burgdorferi* infection among forestry workers and farmers in Düzce, North-western Turkey. *New Microbiologica.*,31,203-209.
- 118) Beajuan, D.J.M.A., Bults, M., Steenbergen, J.E.V., Voeten, H.A.C.M. (2013). Study on public perceptions and protective behaviors regarding Lyme disease among the general public in the Netherlands: implications for prevention programs. *BMC Public Health.*, 13, 225-236.
- 119) www.tr.wikipedia.org/wiki/Norveç
- 120) Vatne, A., Mygland, A., Ljøstad, U. (2011). Multiple sclerosis in Vest-Agder country, Norway. *Acta Neurol Scand*,123, 396–399.
- 121) Busson, L., Reynders, M., Wijngaert, S.V., Dahma, H.,Decolvenaer, M., Vasseur, L. ,Vandenberg, O. (2012). Evaluation of commercial screening tests

- and blot assays for the diagnosis of Lyme borreliosis. *Diagnostic microbiology and immunology*, 73, 246-251.
- 122) Aslan, Başbulut, E., Gözalan, A., Sönmez, C., Çöplü, N., Körhasan, B., Esen, B., Akın, L., Ertek, M. (2012). Seroprevalence of *B.burgdorferi* and tick-borne encephalitis virus in a rural area of Samsun, Turkey. *Mikrobiyol Bul.*, 46, 247-256.
- 123) Bulut, C., Koçak, Tufan Z., Altun, Ş. (2009). An Overlooked Disease Of Tick Bites: Lyme Disease. *Mikrobiyol Bul*, 43, 487-492.
- 124) Logigian, E.L, Kaplan, R.F., Steere, A.C. (1990). Chronic neurologic manifestations of Lyme disease. *NEngl J Med.*, 323, 1438-1444.
- 125) Coyle, P.K.(1989). *Borrelia burgdorferi* antibodies in multiple sclerosis patients. *Neurology*. 39, 760-1.
- 126) Garcia-Monco, J.C., Miro-Jornet, J., Fernandez, Villar, B. (1990). Multiple sclerosis or lyme disease? a diagnostic problem of exclusion. *Med Clin*. 94, 685-8.
- 127) Baranova, N.S., Spirin, N.N., Fadeeva O.A., Shipova E.G., Stepanov I.O.(2012) Lyme disease in patients with multiple sclerosis: clinical, diagnostic and therapeutic features. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.*, 112, 64-68.
- 128) Cassarino, D.S, Quezado, M.M, Ghatak, N.R, Duray, P.H. (2003). Lyme-Associated Parkinsonism, A Neuropathologic Case Study and Review of the Literature. *Arch Pathol Lab Med.*, 127, 1204-1206.
- 129) Mansouri B., Mansouri B., Asadollahi S., Heidari K., Fakhri M., Assarzaghan F., Nazari M., Divani A. (2014). Risk factors for increased multiple sclerosis susceptibility in the Iranian population. *J Clin Neurosci.*, DOI: 10.1016/j.jocn.2014.04.020.
- 130) Mandell GL., Bennett JE., Dolin R. (2000). Principles and Practise of Infectious Diseases. (5. Bs) USA: Churchill Livingstone.
- 131) Hytönen J., Kortela E., Waris M., Puustinen J., Salo J., Oksi J. (2014). CXCL13 and neopterin concentrations in cerebrospinal fluid of patients with Lyme neuroborreliosis and other diseases that cause neuroinflammation. *J Neuroinflammation*. doi: 10.1186/1742-2094-11-103.

EKLER:**Hasta (Veli/vasi) RIZA ve ANKET FORMU:**

Aşağıda imzası bulunan ben, MS'li hastalarda *Borrelia burgdorferi* araştırılan tıbbi uygulamayla yapılması planlanan klinik çalışma hakkında Nilay GÜÇLÜER'den tam olarak bilgi aldığımı beyan ederim. Bu tıbbi çalışmanın etik açısından Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nun kurallarına uygun olarak incelendiğini ve insanlara uygulanmasının sakıncalı olmayacağı bana anlatıldı. Ayrıca bana bu çalışmanın tıbbi olarak geçerli olduğu ve en son bilimsel yöntemlere uygun olarak yapılacağı bildirildi. Bunun açık bir çalışma olduğu bana anlatıldı. Son 4 haftadır herhangi bir çalışmada yer almadım. Bana verilen bu veriler temelinde, istediğim herhangi bir zaman, hiçbir sakınca olmadan, çalışmadan çekilebileceğimi teyid ediyorum.

Hasta no:

Hastanın adı, soyadı/imzası:

Doğum tarihi:

(Gerekli veya zorunlu durumlarda)Hastanın veli/vasisinin Adı, soyadı / imzası:

Tarih :

ANKET:

Cinsiyet:

Meslek:

Kene ısırığı öyküsü:

Eritema migrans benzeri döküntü varlığı:

Gezici kas ve eklem ağrısı varlığı:

MS tanısı kaç yıl önce aldı:

ÖZGEÇMİŞ

1. GENEL

SOYADI, ADI: Nilay GÜÇLÜER		DOĞUM TARİHİ: 18/04/1981
YAZIŞMA ADRESİ Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi 38039 Melikgazi, KAYSERİ		
Tel: +90 352 4380486	e-mail: nilaygucluer@erciyes.edu.tr	
Faks: +90 352 4379169		
Dahili No: 28127		
Cep Tel: 0532- 4702553		

2. EĞİTİM

Öğrenim Dönemi	Derece	Üniversite	Öğrenim Alanı
2008-....	Doktora	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Ens.	Tıbbi Mikrobiyoloji
2005 -2007	Bilim Uzmanı Y.Lisans	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Ens.	Tıbbi Mikrobiyoloji
2000 -2004	Biyolog	Ege Ün. Fen Fakültesi Biyoloji	Biyoloji

3. MESLEKTE DENEYİM

Görev Dönemi	Görev Türü	Kuruluş
2013-.....	Öğr . Gör.	Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
2005-2013	Biyolog	İnönü Ün. Turgut Özal Tıp Merkezi

4. YAYINLAR

YAZAR(LAR)	MAKALENİN/ BİLDİRİ BAŞLIĞI	DERGİ/ TOPLANTI ADI	CİLT/SAYI/ SAYFA	TARİH
Ş.Dilem Doğan, Didem Gedik, Nilay İldız	Synthesis of New N-Heteroaryl Substituted Thiazole-N'-Aryl Urea Derivates and Investigation of Their Antimicrobial Activities	2nd International BAU Drug Design Congress	Poster No:16	17 - 19 Nisan 2014
Nilay İldız, Ufuk İnce, Rukiye As	Ticari Olarak Temin Edilen Çeşitli Bitki Uçucu Yağlarının Antibakteriyel Etkinliklerinin Ve Penisilin Üzerine Sinerjistik/ Antagonistik Etkisinin Belirlenmesi	21.Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı	Poster no:99	28 Mayıs - 1 Haziran 2014
Mehmet Sait Tekerekoğlu, Yusuf Yakupoğulları, Barış Otlu, Yücel Duman, Nilay Güçlüer	Bacteria found on banks' automated teller machines (ATMs)	African Journal of Microbiology Research	7(16), 1619-1621	2013
Mansur, Ahmet; Ay, Selma; Otlu, Barış; Güçlüer, Nilay; Ersoy, Yasemin	Investigation of Metallo Beta- lactamase Production in Carbapenem Resistant Pseudomonas aeruginosa Isolates. (English).	Journal of Turgut Ozal Medical Center	20 (3), 237-242.	2013
Yücel Duman, Yusuf Yakupoğulları, Mehmet Sait Tekerekoğlu, Nilay Güçlüer, Barış Otlu	Bir üniversite hastanesi laboratuvarında beyin omurilik sıvısı'nda izole edilen mikroorganizmaların üç yıllık geriye dönük analizi	Dicle Tıp Dergisi / Dicle Medical Journal	39 (1): 70-74	2012
Soysal Handan, Türköz Yusuf,Ekinci Nihat,Doğan Zümrüt,Kamışlı Özden,Güçlüer Nilay	Phenytoin regulates brain development in the offspring of epileptic rats by increasing the level of brain derived neurotrophic factor	Cellular and Moleculer Physiology	Poster no:143	2011
Yücel Duman, Nilay Güçlüer, Ayfer Serindağ, Mehmet Sait Tekerekoğlu	<i>Escherichia coli</i> Suşlarında Antimikrobiyal Duyarlılık ve Genişlemiş Spektrumlu-Beta Laktamaz (GSBL) Varlığı.	Fırat Tıp Dergisi	15, 4, 197- 200	2010
Mehmet Refik Bayraktar, İbrahim Halil Ozerol, Nilay Gucluer, Onder Celik.	Prevalence and antibiotic susceptibility of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in pregnant women. (Yüksek Lisans Tez)	Int J Infect Dis.	14(2):90- 5	2010
Gülây Yetkin, Selma Ay, Özkan Yetkin, Neşe Taştekin, Nilay Güçlüer	The Effect of Smoking on the Carriage of Potential Pathogens in Nasopharynx.	Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal)	32(1): 009- 014	2010
Gülây Yetkin, Selma Ay, Üner Kayabaş, Ender Gedik, Nilay Güçlüer, Ahmet Çalışkan.	A Pneumonia Case Caused By <i>Cedecea lapagei</i>	Mikrobiyol Bul.	42(4): 681- 4	2008

Yetkin G, Kuzucu C, Güçlüer N.	Distribution of bacteria isolated from urine cultures in Malatya University Hospital laboratory	Mikrobiyol Bul.	40(4): 445 -6	2006
-----------------------------------	---	-----------------	------------------	------

5. ÇALIŞMA ALANLARI

Besiyeri hazırlama ve sterilizasyon ,

Ekim teknikleri,

Kan Kültür Teknikleri ve Cihazları,

Serolojik yöntemler ,ELISA ,

Antibiyogram hazırlama ve yorumlama ,

Mantar kültürü , tanımlama ve antifungal,

Anaerob kültürler,

Moleküler yöntemler

6.DİĞER

- 1) XXI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Düzenleme Kurulu Üyesi,28/05-01/06/2014, Ürgüp
- 2) XI. Türk Eczacılık Tarihi Toplantısı Düzenleme Kurulu Üyesi,25-28/05/2014, Kayseri
- 3) Biyoakademi Uygulamalı Real Time PCR Kursu Katılım Belgesi, 6-7/02/2014, ODTÜ
- 4) IV. Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji Kursu Katılım Belgesi, Malatya
- 5) VI. Tüberkuloz Sempozyumu Katılım Belgesi, Malatya
- 6) Bilgisayar İşletmenliği Sertifikası
- 7) Akreditasyon sertifikaları
- 8) Abbott Makro-ELISA cihazları eğitim sertifikası
- 9) Becton-Dickinson seroloji cihazı eğitim sertifikası

ETİK KURUL RAPORUNA GEREK OLMADIĞINA DAİR BELGE

13 Nisan 2013 tarih ve 28617 sayı ile Resmi gazetede yayınlanan ‘‘Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik’’in Birinci Bölüm 2. Maddesi (Retrospektif çalışmalar bu yönetmeliğin kapsamı dışındadır.) gereğince çalışmamızın Retrospektif olması sebebiyle Etik Kurul kararı alınmamıştır.