

TC
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

738358

YÖREMİZDE RİSK GRUPLARINDA LYME SEROPOZİTİFLİĞİNİN
VE
KENELERDE BORRELIA BURGDORFERI TAŞIYICILIĞININ
ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

Turabi GÜNEŞ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ
Prof. Dr. Ömer POYRAZ

SİVAS
TEMMUZ-2002



Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 5/1/1984 tarih ve 84/1 nolu kararıyla kabul edilen tez yazma yönergesine göre hazırlanmıştır

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında konu seçimi de dahil olmak üzere her aşamada bana yardımcı olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ömer Poyraz'a, kene tiplendirme yöntemlerini öğrenmemde büyük katkıları olan Ankara Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Zafer Karaer'e ve Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Lutfiye Genç'er'e, kene toplama aşamasında bana destek olan Tarım İl Müdürlüğü Veteriner Teknisyeni Sayın Çetin Çelik'e, istatistiksel değerlendirmelerde yardımını esirgemeyen Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Ziyet Çınar'a, hem kan alma işleminde yardımcı olan hem de çalışmam sırasında manevî yönden destek olan sevgili eşime, çalışmama katkısı olan tüm arkadaşlarıma, eğitimimde bana emeği geçen bütün hocalarıma ve maddi yönden büyük katkı sağlayan Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

• GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
• GENEL BİLGİLER.....	3
1.1 Borrelia burgdorferi.....	3
1.2 Vektör keneler.....	9
1.3 Lyme hastalığı.....	21
• GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
1.1 Vektör kenelerin araştırılması.....	38
1.2 Kenelerde Borrelia burgdorferi'nin araştırılması.....	44
1.3 Risk ve kontrol gruplarında lyme seropozitifliğinin araştırılması	47
• BULGULAR.....	52
• TARTIŞMA.....	58
• SONUÇLAR.....	75
• ÖZET.....	77
• İNGİLİZCE ÖZET.....	78
• KAYNAKLAR.....	79
• ANKET FORMU.....	93

TABLolar

	Sayfa
Tablo-1: İnsanda hastalık oluşturan Borrelia türleri ve özellikleri.	4
Tablo-2: Çeşitli kaynaklardan izole edilen B. burgdorferi sensu lato türleri ve ayırtedici özellikleri.	8
Tablo-3: Yöremizde toplanan kenelerin cinslerine ve konak hayvanlara göre dağılımı	52
Tablo-4: Toplanan kene cinslerinin aylara göre görülme oranları	53
Tablo-5: Risk grubunu oluşturan kişilerin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı	54
Tablo-6: Kontrol grubunu oluşturan kişilerin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı	54
Tablo-7: Risk grubunda kene tarafından ısırılma ve EM benzeri lezyon geçirme olgularının yaş gruplarına göre dağılımı	55
Tablo-8: Risk grubunda kene ısırığı ve EM öyküsünün cinsiyete göre dağılımı	56
Tablo-9: Risk grubunda kene ısırığı ve EM lezyonu öyküsünün mesleklere göre dağılımı	56

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil-1: <i>Borrelia burgdorferi</i> 'nin görünümü	5
Şekil-2: <i>Borrelia burgdorferi</i> L-formu'nun görünümü	5
Şekil-3: Yumuşak kenelerin genel yapısı	10
Şekil-4: Sert kenelerin genel yapısı	10
Şekil-5: <i>Ixodes</i> cinsi dişi ve erkek kenelerin dorsal ve ventral görüntüleri	12
Şekil-6: <i>Ixodes</i> cinsi kenelerin ağız yapıları	13
Şekil-7: Hipostomun deri içine girişi	13
Şekil-8: <i>Ixodes ricinus</i> 'un yaşam döngüsü	14
Şekil-9: <i>Ixodes ricinus</i> 'un gelişme dönemleri	15
Şekil-10: Erythema Migrans	23
Şekil-11: Borrelial lenfositoma	24
Şekil-12: Acrodermatidis Chronica Atrophicans	26
Şekil-13: Lyme hastalığının coğrafik dağılışı	34
Şekil-14: Keneden korunma önlemleri	35
Şekil-15: <i>Ixodidae</i> ailesine bağlı Türkiye'de bulunan çeşitli kene cinsleri	40
Şekil-16: Kenelerin diseksiyonu	46

GİRİŞ VE AMAÇ

Lyme hastalığı *Borrelia burgdorferi* tarafından oluşturulan ve her aşaması farklı klinik görünümde olan sistemik bir hastalıktır. Bu hastalık ilk defa ABD'nin Connecticut eyaletinde küçük bir yerleşim merkezi olan Lyme kasabasında, juvenil romatoid artrit olduğu düşünülen bir grup çocukta tanımlanmıştır (1,2).

Lyme hastalığına neden olan *Borrelia burgdorferi*, 10-30µm uzunluğunda ve 0,2-0,3µm genişliğinde bir spirokettir. Bu spiroketin yaşamını devam ettirmesinde vektör olarak *Ixodes* cinsi keneler, rezervuar olarak da küçük kemirici hayvanlar işlev görürler.

Ixodes cinsi keneler yeryüzünde geniş bir coğrafik dağılım gösterirler. *Ixodes ricinus* Avrupa'da, *Ixodes persulcatus* Asya'da, *Ixodes scapularis*, *Ixodes pacificus* ve *Ixodes dentatus* ise Amerika'da *Borrelia burgdorferi*'ye vektörlük yapan kenelerdir. Türkiye ise *Ixodes ricinus* için uygun bir coğrafyaya sahiptir. *Ixodes ricinus*'un özellikle sahil bölgelerimizde bol bulunduğu bilinmektedir. Ayrıca ülkemizin zengin bitki örtüsü, *Borrelia burgdorferi*'nin rezervuarı olan küçük kemiricilerin yaşaması için de uygun bir ortam oluşturmaktadır.

Son yıllarda birçok ülkeden yüzlerce Lyme olgu raporları bilimsel dergilerde yayımlanmakta olup, Lyme hastalığına diğer kene kaynaklı hastalıklardan daha sık rastlanıldığı bildirilmektedir. Kısa adı CDC olan, Dünya Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'nin raporları da bunu doğrulamaktadır (3).

Lyme hastalığı, günümüzün kene-kaynaklı en sık görülen hastalığı olduğunun açığa çıkmasının ardından, gelişmiş ülkelerde bu konuda çok kapsamlı çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar sonucunda bölgelere ve şehirlere göre gerek Lyme hastalığının gerekse vektör kenelerin dağılımı haritalar üzerinde ortaya konulmuştur. Bazı ülkelerde ise Lyme yönünden riskli bölgelerde bulunan park ve bahçelere kene uyarı levhaları dahi konulmuştur.

Lyme hastalığı konusunda, ülkemizde ise yapılmış sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar ise genellikle, ya o bölgedeki hastalık

seroprevalansının ölçülmesi, ya da sadece vektörlerinin araştırılması yönündedir. Yöremizde ise bu konuda yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda, Sivas yöresinde gerek Lyme seropozitifliğini gerekse vektör olarak rol oynayan kenelerin varlığını araştırarak, yöremizde bu enfeksiyon riskini belirlemeyi ve ülkemizin Lyme hastalığı yönünden haritasının oluşturulması çalışmalarına katkıda bulunmayı amaçladık.



GENEL BİLGİLER

İlk olarak 1883 yılında Alfred Buchwald isimli araştırmacı, nedenini belirleyemediği olağan dışı bir allerjik deri reaksiyonu olgusunu bildirmiştir. Bu tarihten yaklaşık bir asır sonra bu olgunun Lyme hastası olduğu anlaşılacak, bu hastalığın ilk klinik kanıtı olarak kabul edilmiştir. İsveçli dermatolog Afzelius ise 1910 yılında kene ısırması sonrası gelişen bir kızarıklığın varlığını tanımlamıştır. Bu bulgu erythema chronicum migrans (ECM)'in ilk tanımı olarak kabul edilmiş, daha sonra 1913 yılında Avusturyalı dermatolog Lipschutz, Lyme hastalığının safhalarından olan acrodermatidis chronica atropicans (ACA)'nın ilk tanımını yapmıştır. Lyme hastalığı ise tam olarak 1975 yılında Steer isimli araştırmacı tarafından ABD'nin Connecticut eyaletinin küçük bir kasabası olan Lyme'de juvenil romatoid artritli olan bir grup çocukta tanımlanmıştır. 1982 yılında Burgdorfer ise Lyme hastalığının Borrelia cinsi bir spiroket tarafından oluşturulduğunu ve vektörünün Ixodes cinsi keneler olduğunu ortaya koymuştur. Bu spiroket, daha sonra bu araştırmacıya atfen Borrelia burgdorferi (B. burgdorferi) olarak adlandırılmıştır (1,2,4-6)

BORRELIA BURGDORFERI

SINIFLANDIRILMASI

B. burgdorferi Eubacteria grubu içerisinde, Spirochaetales takımının, Spirochaetaceae ailesi'nin Borrelia generi içerisinde yer almaktadır. Borrelia cinsinin içinde olduğu Spirochaetaceae ailesi içinde Borrelia cinsinden başka Brevinema, Cristispira, Spironema ve Treponema cinsleri de bulunmaktadır.

Borrelia cinsi içerisinde B. burgdorferi'den başka B. caucasica, B. crocidura, B. dipodili, B. duttoni, B. hermsii, B. hispanica, B. mazzottii, B. merionesi, B. microti, B. parkeri, B. persica, B. recurrentis, B. turicatae ve B. venezuelensis türleri de bulunmaktadır.

B. burgdorferi'de dahil olmak üzere hemen bütün Borrelia türlerinin artropod bir vektörü ve genellikle kemiricilerden oluşan hayvan rezervuarları vardır. Aynı zamanda coğrafik dağılımlarında da farklılıklar gösterirler (Tablo 1).

Tablo 1. İnsanda hastalık oluşturan *Borrelia* türleri ve özellikleri(7-9)

Borrelia Türleri	Vektörü	Rezervuarı	Coğrafik Dağılışı	Yaptığı Hastalık
B. burgdorferi	I. dammini I. pacificus I. ricinus I. persulcatus Diğerleri	Kemirici Kemirici Kemirici Kemirici Kemirici(geyik, kuş)	Doğu Amerika Batı Amerika Avrupa Asya, Çin Japonya Bütün Dünyada	Lyme hastalığı Lyme hastalığı Lyme hastalığı Lyme hastalığı
B. caucasica	O. verrucosus	Kemirici	Kafkasya, Irak	Eski dünya kene kaynaklı dönek ateşi
B. Crocidura	Ornithodoros erraticus	Kemirici	Türkiye, Kıbrıs, Senegal, Kenya, Moracco, Libya, İran	Kuzey Afrika kene kaynaklı dönek ateşi
B. dipodili	Ornithodoros erraticus	Kemirici	Türkiye, Kıbrıs, Senegal, Kenya, Moracco, Libya, İran	Kuzey Afrika kene kaynaklı dönek ateşi
B. duttoni	Ornithodoros maubata	İnsan	Afrika	Doğu avrupa kene kaynaklı dönek ateşi
B. hermsii	O. hermsii	Kemirici	Batı Amerika	Amerika kene kaynaklı dönek ateşi
B. hispanika	Ornithodoros maubata	Kemirici	İspanya, Portekiz, Tunus	Eski dünya kene kaynaklı dönek ateşi
B. mazzottii	O. talaje	Kemirici	Merkez ve Güney Amerika	Amerika kene kaynaklı dönek ateşi
B. merionesi	Ornithodoros erraticus	Kemirici	Türkiye, Kıbrıs, Senegal, Kenya, Moracco, Libya, İran	Kuzey Afrika kene kaynaklı dönek ateşi
B. microti	Ornithodoros erraticus	Kemirici	Türkiye, Kıbrıs, Senegal, Kenya, Moracco, Libya, İran	Kuzey Afrika kene kaynaklı dönek ateşi
B. parkeri	O. parkeri	Kemirici	Batı Amerika	Amerika kene kaynaklı dönek ateşi
B. persica	O. tholozani	Kemirici	Çin'den Kaşmire kadar, Irak, Kıbrıs, Hindistan, Rusya	Asya ve Avrupa kene kaynaklı dönek ateşi
B. recurrentis	Pediculus humanus	İnsan	Bütün dünyada	Bit kaynaklı epidemik dönek ateşi
B. turicatae	O. turicata	Kemirici	Güney Amerika	Amerika kene kaynaklı dönek ateşi
B. venezuelensis	O. rudis	Kemirici	Merkez ve Güney Amerika	Amerika kene kaynaklı dönek ateşi

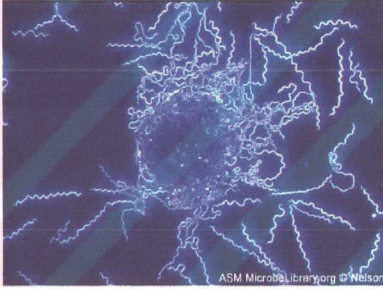
HÜCRE YAPISI VE GENEL ÖZELLİKLERİ

B. burgdorferi yapı olarak diğer spiroketlere benzerlik göstermektedir. En içte protoplazmik silindire sahiptir. Bunun dışında sitoplazmayı ve protoplazmik silindiri çevreleyen iç hücre membranı vardır. İç membranın dışında bir noktadan başlayarak geriye doğru uzanan periplazmik kamçısı bulunur. Kamçı (flagella), flagellin adı

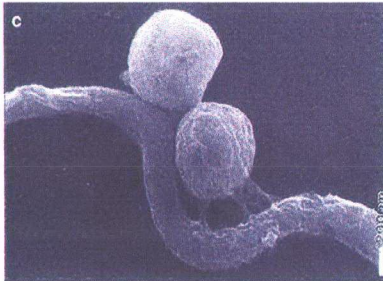
verilen çok sayıda alt birimlerden oluşmaktadır. En dışta ise periplazmik flagellayı çevreleyen dış membran bulunmaktadır (5).

Yaklaşık 10-30 µm uzunluğunda ve 0,2-0,3 µm genişliğinde gram negatif bir mikroorganizmadır. En iyi 30-34°C'de ve mikroaerofil ortamda üreme gösterir. Logaritmik üreme döneminde bu bakterinin jenerasyon süresi 8-12 saat kadardır (10).

Kamçısı 7-11 adet olup bakteriye sarmal şekilli bir görünüm verir. Şekil 1' de görüldüğü gibi bu sarmallarının seyrek ve düzensiz bir yapıda olması diğer *Borrelia* türlerinden ayrılmasını kolaylaştırmaktadır. Örneğin, diğer bir borrelia türü olan *B. hermsii*'nin kıvrımları daha düzenli ve sıktır (11). Ayrıca *B. burgdorferi*, penisilin G gibi kendisi için uygun olmayan ortamlarda şekil 2'de görüldüğü gibi sferoplast şekillere de dönüşebilmektedir (12).



Şekil 1. *Borrelia burgdorferi*'nin görünümü(13)



Şekil 2. *Borrelia burgdorferi* L-formu'nun görünümü(12)

Üreyebilmeleri için zenginleştirilmiş ortamlara gerek duyan mikroaerofil bir bakteridir. Üreyebilmeleri için glikoza gereksinim duyarlar ve Embden-Meyerhoff yolu ile glikozu fermente ederek laktik asit oluştururlar. Glikozun yanında maltoz, trehaloz ve rafinoz gibi diğer birçok şekeri kullanabilirler. Optimal üreme sıcaklığı 33°C olup, optimal pH 7,5'dir (7).

B. burgdorferi'nin 910725 bp uzunluğunda lineer genoma sahip olması, diğer spiroketlerden ve bakterilerden ayırt edici bir özelliğidir (11,14). Aynı zamanda çok sayıda (4-9 arasında) lineer ve sirküler plazmidleri de bulunmaktadır. B. burgdorferi'nin önemli yüzey antijenlerinden çoğu da bu plazmidlerde bulunan genler tarafından kodlanmaktadır (10).

Bu bakterilerin dış membranı, OspA adı verilen bazı yüzey proteinler içerirler. Bu proteinler OspA,B,C,D,E,F olmak üzere 6 çeşittir ve ekstakromozomal plazmid DNA'sı tarafından kodlanmaktadır (10). Bu yüzey proteinlerini kodlayan plazmid DNA'sı B. burgdorferi sensu lato kompleksi içindeki türlere göre değişiklik göstermektedir. Örneğin OspA'yı B.burgdorferi'de 50 kb, B. garini'de 55 kb, B. afzeli'de ise 56 kb plazmid DNA'sı kodlamaktadır (15). Buna bağlı olarak da B. Burgdorferi'de çok sayıda yüzey membran proteinleri ve yüzey antijenleri bulunmaktadır (15-19).

ALT TÜRLERİ

B. burgdorferi'nin 1984'de Johnson tarafından yeni bir Borrelia türü olarak tanımlanmasından sonra fenotipik ve genotipik çalışmalar sonucunda lyme hastalığı ile ilgili çok sayıda yeni türlerin varlığı ortaya konulmuştur. Araştırmacılar bulunan bu türleri yeni tür olarak isimlendirmek yerine B. burgdorferi sensu lato (B. burgdorferi sl) adı verilen genomik bir grup oluşturarak, bu grup içerisinde genomik türler (genospecies) olarak sınıflandırmışlardır. B. burgdorferi ise bu genomik grup içinde B. burgdorferi sensu stricto (B. burgdorferi ss) ismiyle yerini almıştır (14,20).

B. burgdorferi sensu lato genomik grubu içerisine şu ana kadar B. burgdorferi sensu stricto, B. garinii, B. afzelii, B. japonica, B. andersoni, B. valaisiana, B. lusitaniae, B. bissetti, B. tanukii ve B. turdae türleri dahil edilmiştir. Bunun yanı sıra, gelecek yıllarda bu gruba yeni Borrelia türlerinin eklenmesi olasıdır (14).

Amerikanın değişik bölgelerinde kenelerden, vahş hayvanlardan ve Lyme hastalığı olan kişilerden *B. andersoni*, *B. bissetti* ve *B. burgdorferi sensu stricto* türlerine ait serotipler izole edilmiştir. *B. burgdorferi sensu stricto* serotipleri kuzey, orta ve batı Amerika'da bulunması nedeniyle geniş bir dağılım gösterir. Aynı zamanda hem Amerika hem de Avrupada bulunan tek türdür (Tablo 1). *B. andersoni* ve *B. bissetti*'ye ise Amerika dışında başka bir kıtada şu ana kadar rastlanmamıştır (14).

Avrupa'da, *B. burgdorferi sensu strico*, *B. garinii*, *B. afzeelii*, *B. lusitaniae* ve *B. valasiona* ait değişik serotipler bulunmaktadır. *B. garini* ve *B. afzeli*, Avrupa'da en sık izole edilen türler arasında yer almıştır. *B. burgdorferi sensu stricto* genel olarak batı Avrupa ülkelerinde sık rastlanmakta olup seyrek olarak güney bölgelerinde de görülmektedir. *B. valasiona* Hollanda, Almanya, İtalya, Hırvatistan ve Çek Cumhuriyeti olmak üzere en az 8 Avrupa ülkesinde kenelerden ve kuşlardan izole edilmiştir (14).

B. burgdorferi sensu lato kompleksi içinde 6 tür, uzak doğu Rusya ve Asya ülkelerinden izole edilmiştir. *B. garinii* ve *B. afzelii* geniş bir dağılım göstermektedir. Bu iki tür *I. persulcatus* kenesinin bulunduğu ülkelerle bağlantılı olarak Çin, Japonya, Kore, Uzak Doğu ve Rusya'da bulunmaktadır. *B. japonica*, *B. tanukii* ve *B. turdi* Japonya ile sınırlanmıştır ve başka ülkelerde şu ana kadar bulunmamıştır (14). Japonya'da *I. columnae* türü keneden izole edilen bir suş, *B. valasiona* olarak sınıflandırmada yerini almıştır (Tablo 2). *B. burgdorferi sensu stricto*'nun uzak doğu ülkelerinde olduğuna dair çelişkili açıklamalar bulunmakla beraber, son yıllarda bu bölgelerde bu türün varlığına dair kanıtlar mevcuttur (21).

Şu ana kadar değişik klinik örneklerden ve kenelerden 500 kadar *B. burgdorferi sensu lato* suşları elde edilmiş olup, bu suşların dağılımı elde edildikleri kaynağa göre de farklılıklar göstermektedir (Tablo 2). Avrupa'da kenelerden izole edilen suşların çoğunluğunu *B. garinii* oluşturmakta iken, Lyme hastalarındaki erytema migrans(EM) ve ACA'dan elde edilen suşların %50'den fazlası *B. afzelii*'ye aittir. Lyme nöroborreliyozu lu hastaların beyin omirilik sıvısı (BOS)'dan izole edilen serotiplerin %70'e yakını *B. garinii*'ye aittir. Artritli hastalardan üretilen izolatların çoğunluğunu ise *B. burgdorferi sensu stricto* oluşturmaktadır (14,18,22,23).

Tablo 2. Çeşitli kaynaklardan izole edilen B. Burgdorferi sensu lato türleri ve ayırdedici özellikleri (9,14,20,24)

Suş	Tür	İzole edildiği yer	İzole edildiği kaynak	Vektörleri	Hayvan konak	İnsanda hastalık
M7 DK8 Nancy Ip21 IPEP 3 ACA1 ECM 1 F1 VS461	B. afzelii B. afzelii B. afzelii B. afzelii B. afzelii B. afzelii B. afzelii	Çin Danimarka İtalya Rusya Rusya İsviçre İsviçre	I. persulcatus İnsan drisi İnsan I. persulcatus I. ricinus İnsan derisi (ACA)* İnsan derisi (EM)* I. ricinus I. ricinus	(I. ricinus, I. persulcatus)	(Küçük memeliler)	Lyme hastalığı
PD 89 I53 N34 PBİ BİTS BFOX Sİka 1 Sİka 2 Sİka 3H A19S AR-1 K48 G25 VSBP	B. garinii B. garinii B. garinii B. garinii B. garinii B. garinii B. garinii B. garinii B. garinii B. garinii B. garinii	Çin Fransa Almanya Almanya İtalya Japonya Japonya Japonya Hollanda Hollanda Slovakya İsviçre	İnsan kanı I. ricinus I. ricinus İnsan BOS* I. ricinus Foks I. ovatus I. persulcatus Haemaphysalis flava İnsan I. ricinus I. ricinus I. ricinus İnsan BOS*	(I. ricinus I. persulcatus)	(Kuşlar, Küçük memeliler.)	Lyme hastalığı
DK7 212 PKa HII MIL ESP-1 IRS CA6 CA920953 297 21305 H319 Vcery B31 NY1-86 26816 1352	B.burgdorferi B.burgdorferi B.burgdorferi B.burgdorferi B.burgdorferi B.burgdorferi B.burgdorferi B.burgdorferi B.burgdorferi B.burgdorferi B.burgdorferi B.burgdorferi B.burgdorferi B.burgdorferi B.burgdorferi B.burgdorferi	Danimarka Fransa Almanya İtalya Slovakya İspanya İsviçre ABD-California ABD-California ABD-Connecticut ABD-Connecticut ABD-Connecticut ABD-Connecticut ABD-New York ABD-New York ABD-Rhode Island ABD-Teksas	İnsan derisi I. ricinus I. ricinus İnsan kanı I. ricinus I. ricinus I. ricinus I. pacificus İnsan derisi İnsan BOS* P. leucopus İnsan kanı Kuş I. scapularis İnsan drisi M. pennsylvanicus A. americanum	(I. scapularis I. pacificus I. ricinus) I.-persulcatus)	(Memeliler, Kuşlar)	Lyme hastalığı
CA55 DN127 25015	B. bissettii B. bissettii B. bissettii	ABD- California ABD-California ABD-New York	I. neotomae I. pacificus I. scapularis	(I.pacificus I.neotomae I.scapularis I.ricinus)	(Kemirgen, Kuşlar)	Belirsiz (?)
PotiB1	B. lusitania	Portekiz	I. ricinus	I. ricinus	Bilinmiyor	yapmaz
UK VSI16	B. valasona B. valasona B. valasona	İngiltere İsviçre Japonya	I. ricinus I. ricinus I. columnae	(I.ricinus I.granulatus I.columnae)	Kuşlar	Belirsiz (?)
2123 19857	B. andersoni B. andersoni	ABD- New York ABD-New York	I. dentatus Cottontail tavşan	I.dent	Tavşan	Yapmaz
IKA2	B. japonica	Japonya	I. ovatus	I. ovatus	Kemirgen	Yapmaz
Iik501	B.tanukii	Japonya	I. tanukii	I. tanukii	Kemirgen	Yapmaz

(*EM:Erythema Migrans, ACA:Acrodermatidis Chronica Atropicans, BOS:Beyin Omirilik Sıvısı)

VEKTÖR KENELER

Keneler tropik ve subtropik iklim kuşaklarında, gerek bizzat kan emerek, gerekse birçok hastalık etkeninin vektörü olarak hayvan ve insan sağlığını tehdit eden en önemli ekto parazitlerdir. Çok sayıda virüs, bakteri ve parazitik etkenlere mekanik veya biyolojik vektörlük yaparlar (25). Vektörlük yaptığı etkenlerden biri de Lyme hastalığı etkeni olan *B. burgdorferi*'dir.

SINIFLANDIRILMASI

Keneler Ixodidae ve Argasidae olarak adlandırılan iki aile içerisinde yer almakta olup, *B. burgdorferi*'nin vektörlüğünü Ixodidae ailesindeki *Ixodes* cinsi keneler yapmaktadır. Kenelerin sınıflandırması şu şekildedir.

Alem: Animale,

Şube: Arthropoda,

Altşube: Chelicerate,

Sınıf: Aracnida,

Alt sınıf: Acari,

Takım: Acarina,

Alt takım: Metastigmate,

Üst aile: Ixodidea,

Aile-I : Argasidae

Aile-II: Ixodidae

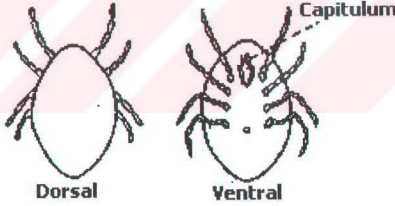
Cins: Ixodes

Ixodidae üst ailesinde, Ixodesten başka *Boophilus*, *Rhipicephalus*, *Hyalomma*, *Haemaphysalis*, *Dermacentor*, *Rhipicentor*, *Amblyomma*, *Margaropus*, *Nasomma* gibi başka cinsler de bulunur. Bu kenelerde, çok az oranda da olsa *B. burgdorferi* bulunabilmektedir.

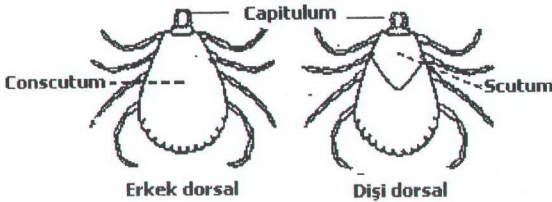
MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Kenelerin vücutları baş(capitulum) ve gövde(idiosoma) olmak üzere iki kısımdan ibarettir (Şekil 3,4). Diğer artropodlarda olduğu gibi vücutları çok katlı bir kitinimsi kütikula ile örtülüdür. Argasidae ve Ixodidae ailelerinde kütikuladaki kitinizasyon ve bunun vücuda dağılışı farklıdır. Argasidae ailesinde, kütikuladaki kitin oranı daha az ve vücuda dağılımı homojen olduğu halde, Ixodidae ailesinde kenenin gelişme dönemine ve cinsiyetine göre vücudun bazı kesimlerindeki kütikuladaki kitin oranının arttığı ve kitinimsi plaklar oluşturduğu görülür. Bu yüzden Argasidae'ler yumuşak keneler, Ixodidae'ler sert keneler olarak isimlendirilir. Ixodidae erkeklerinde vücudun dorsalinin tamamı, kitinizasyona bağlı olarak sert kitin bir tabaka ile örtüldüğü, buna karşılık dişi, larva ve nimflerde bu kitinizasyonun yalnız ağız organellerinin gerisinde olduğu görülür. Erkeklerin dorsalindeki bu sert kitinli tabaka conscutum, dişi, larva ve nimflerde ise scutum adını alır (25).

Sert kenelerde capitulum'un ön tarafta olması ve üstten bakıldığında görülmesi, yumuşak kenelerde ise capitulum'un karın kısmında olması ve üstten bakıldığında görülmemesi en önemli farklarındandır (Şekil 3,4).



Şekil 3. Yumuşak kenelerin genel yapısı



Şekil 4. Sert kenelerin genel yapısı (26)

Ixodidae ailesi içinde bulunan farklı cins kenelerin morfolojik özellikleri birbirlerine benzerlik göstermekte olup, bu yapılar arasında bulunan küçük farklılıklar cins ve tür ayırımında kullanılan önemli kriterlerdendir. Diğer sert kenelerde olduğu gibi Ixodes cinsi kenelerin de baş ve vücut kısımları değişik organellerden oluşmuş olup, şekil-5 ve 6'da de görülen bu yapılar aşağıdaki kısımları içermektedir (27).

Basis capitulum: Kapitulum'un kök kısmıdır.

Cheliser: Basis capitulumun ön üst kısmına bağlı ve üst çene (mandibula) yi yapan, konak derisini delmeye ve kesmeye yarayan iki tane hareketli oluşumdur (Şekil 6). Cheliserler, cheliser kılıfı içinde kayarak ileri geri hareket ederler.

Hipostom: Basis capitulum'un ön alt kısmının ortasından çıkan, orta çizgi üzerinden öne doğru uzanan ve konaktan kan emmeye yarayan bir oluşumdur(Şekil 6).

Palp: Basis capitulum'un ön yan kısmından çıkan, dört parçadan yapılmış hareketli oluşumlardır(Şekil 6).

Scutum: Dişi, larva ve nimflerde vücudun dorsalinde, ağız organellerinin gerisinde bulunan, dorsalin 1/3'nü kapsayan sert kitinsi tabakadır.

Conscutum: Erkeklerde vücudun dorsalinin tamamını kaplayan sert kitinsi tabakadır.

Servikal oluklar: Scutum ve conscutum üzerinde bulunan, basis capitulum'un ortasında bulunan oluklardır.

Lateral oluklar: Scutum'un iki yanında bulunan oluklardır.

Feston: Sert kenelerin çoğunda, scutum'un arka kenarında dizilmiş 9-11 tane dörtgenimsi oluşumlardır.

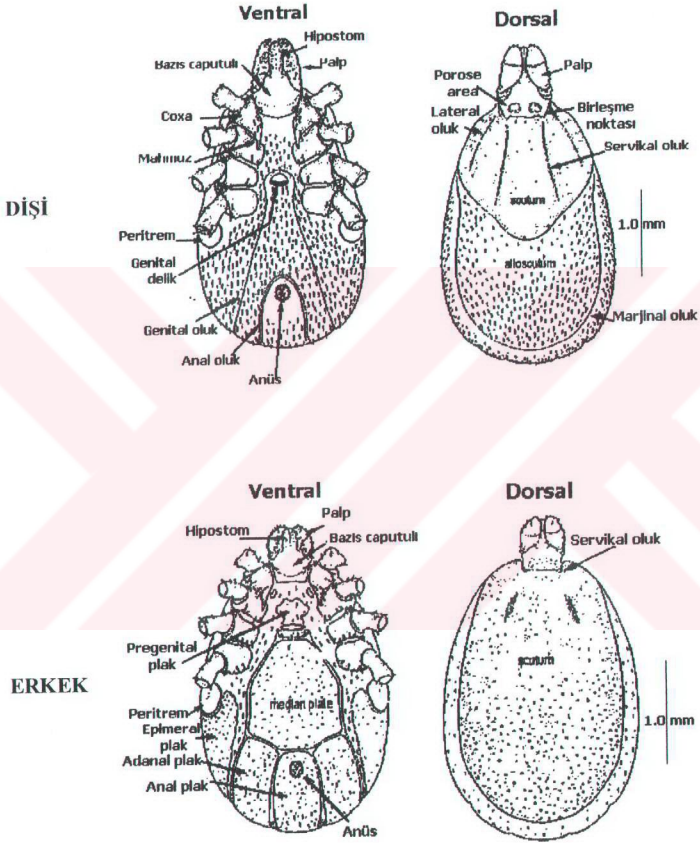
Bacaklar: Koks, trohanter, femur, tibia, pretars ve tars olmak üzere altı kısımdan oluşur. Evrim dönemlerine bağlı olarak nimf ve erişkinlerinde dört, larvalarda üç çift bacak bulunur.

Genital delik: Ventralde orta çizginin üzerinde, ikinci koksaların ön kenarı sırasında enine bir yarık şeklindedir.

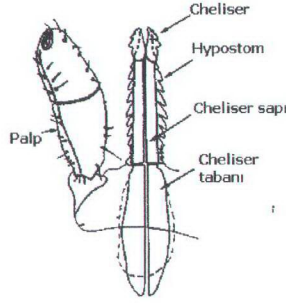
Anüs: Dördüncü koksalar sırasının biraz gerisinde bulunan ve boyuna duran küçük bir yarık şeklinde oluşumdur.

Anal oluk: Anüsü önden saran yarıktır. Diğer cinslerde anüsü arkadan sarar

Stigma: Dördüncü koksaların arkasında bulunmakta olup, kalın kitinli bir yapı tarafından (peritrem) sarılmışlardır.



Şekil 5. Ixodes cinsi dişi ve erkek kenelerin dorsal ve ventral görünüşleri (28)



Şekil 6. Ixodes cinsi kenelerin ağız yapıları (28)

BESLENME ÖZELLİKLERİ

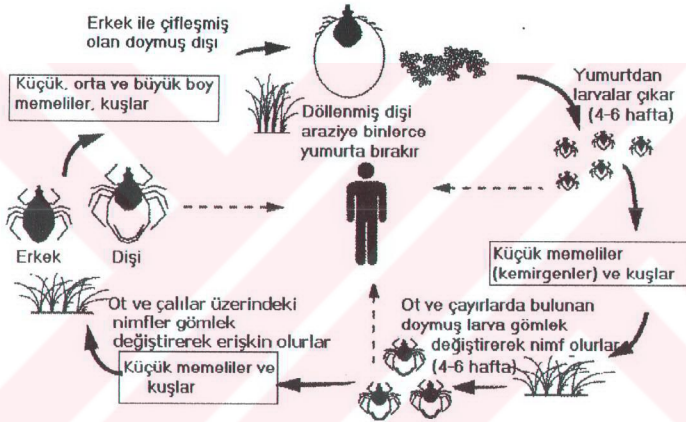
Kan emme şeklinde olan beslenme, kenelerin yaşamında önemli bir özellik olup aynı zamanda *B. burgdorferi*'nin insan ve hayvanlara bulaştırılmasına olanak sağlar. Beslenme kenelerin açlık ve toklukla ilgili davranış özelliğinin bir sonucudur. Kene besin ihtiyacı duyduğunda beslenmek için konak aramaya başlar. Bir konak bulunduğu, bu konağa doğru sürünerek yaklaşır ve üzerine yerleştikten sonra ayakları ile deriye sıkı bir şekilde tutunur. Daha sonra çeliserleri ile derideki dermis ve epidermis tabakalarını keserek bir delik açar. Bunu takiben açılan delikten hypostomlarını konak dokusunun içine sokarak bir beslenme kanalı oluştururlar (Şekil 7). Keneler, konak üzerinde bulunduğu sürece kan emme işlevini bu kanal yoluyla gerçekleştirerek, yaşam siklusları için gerekli olan enerjiyi sağlamış olurlar. Aynı zamanda tükrük salgılarının ve dolayısı ile tükrükte bulunan mikrobik etkenlerin konağa aktarılması işlemi de bu kanal sayesinde olmaktadır (9,27,29).



Şekil 7. Hipostomun deri içine girişi (9)

YAŞAM DÖNGÜLERİ

Ixodes cinsi kenelerin yaşam döngüleri birbirine benzemekte olup larva, nimf ve olgun dönem olmak üzere üç postembriyonal dönemleri vardır. Bu üç evrim dönemlerini, üç farklı konak üzerinde kan emerek tamamlarlar (25,29). Her bir dönemde aç olarak geldikleri konağı doymuş olarak terke ederek toprağa düşerler. Konağı terkettikten sonra larva ve nimfler gömlek değiştirerek bir sonraki döneme geçerler (Şekil 8). Erişkinler ise, ya yaşam sürelerini tamamlayarak ölürlür, ya da bir ertesi yıla canlı olarak girerek yeni yumurtalar bırakırlar. Ixodes cinsine ait türler değişik coğrafik ve iklim şartlarına göre değişik gelişme dönemleri gösterebilirler.



Şekil 8. Ixodes ricinus'un yaşam döngüsü (9)

TÜRLERİ

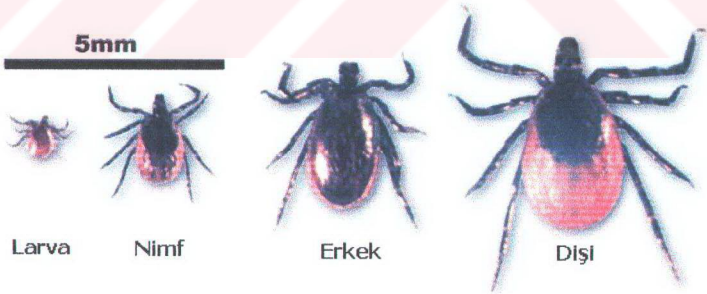
Daha önceleri *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* ve *B. afzeli* ile ilgisi nedeniyle sadece *Ixodes ricinus* (*I. ricinus*), *I. scapularis*, *I. pacificus* ve *I. persulcaus*'un *B. burgdorferi* için vektör konak olduğu biliniyordu. Son yıllarda *B. sensu lato* grubu içine yeni *Borrelia* türleri eklendikçe, doğal olarak vektör konakların sayısı da artış göstermektedir (tablo 2). Şu anki bilgilere göre *B. burgdorferi*'ye vektörlük yapan *Ixodes* türleri şunlardır; *I. ricinus*, *I. persulcatus*, *I. scapularis*, *I. pacificus*, *I. dentatus*, *I. ovatus*, *I. granulatus*, *I. neotomae*, *I. columnae*, *I. takunni*, *I. turdus* ve *I. uriae*.

B. burgdorferi taşıyan vektör kenelerin hepsi memeliler, kuşlar ve sürüngenler olmak üzere çok sayıda hayvan üzerinden kan emerler ve bu hayvanlarda parazitlenirler. Üzerlerinde beslendikleri hayvan sayısı Ixodes türlerine göre farklılık gösterir. Bu farklılıkta coğrafya ve iklim koşulları etkili olduğu gibi kenelerin beslenme tercihlerindeki farklılıklar da önemli etkindir. Öyleki, aynı kene türlerinin bile larva, nimf ve erişkin şekillerinin konak tercihleri farklılık gösterebilmektedir.

Ixodes ricinus

I. ricinus, küçük yapılı kenelerdendir. Erkekleri 2.2-2.6 x 1.2-1.4 mm, dişileri ise 4.2x3.2 mm büyüklüğündedir (Şekil 9). Bunun yanı sıra döllenmiş ve kan emmiş dişiler, 11.4 x 6.6 mm büyüklüğüne kadar ulaşabilmektedir (25,27).

Bu keneler daha çok Avrasya türü (Avrupa-Asya) olup, İngiliz Adalarından 50°-55° doğu boylamına kadar geniş bir dağılım gösterirler. Bu tür kenelere Kuzey Afrika'da az da olsa rastlanıldığı belirtilmektedir. Kuzey Avrupada ise yaklaşık 65° kuzey enlemine kadar rastlanır. Bu tür, dökülen orman yapraklarında, çalılarda ve çayırarda sıklıkla bulunur. Bu keneler Avrupa'da B. burgdorferi sensu stricto, B. garinii, B. afzelii ve B. lusitaniae olmak üzere çok sayıda Borrelia türüne vektörlük yapmaktadır (29,30).



Şekil 9. Ixodes ricinus'un gelişme dönemleri (31)

I. ricinus'un 300'den fazla farklı hayvan türünden kan emdiği bildirilmiştir. Bunların 148'ini memeliler, 149'unu kuşlar ve 20'sini sürüngenler oluşturmaktadır.

Kemiriciler, böcekçiller, sürüngenler ve kuşlar bu kenelerin larva ve nimfleri tarafından parazitlenirler. Apodemus cinsinden fareler, larvalar tarafından tercih edilen konaklardır. Nimfler daha sıklıkla yaban tavşanı, sincap, kuş ve kertenkeleler üzerinde bulunur. Özellikle geyikler, ayılar ve köpekler olmak üzere irili ufaklı vahşi ve evcil memeliler bu kenelerin erişkinleri için tercih edilen konaklardır (29-33).

Normal yaşam süreleri ortalama iki üç yıldır. Fakat bazı kuzey enlemindeki bölgelerde 5-6 yıl kadar yaşayabilirler. Avusturya'da bu kenelerin nimf ve erişkin şekilleri özellikle Mayıs ve Haziran ayları olmak üzere ilkbaharda aktiftir. Büyük çoğunluğu Eylül ve Ekim aylarında konak ararlar. Nimf ve erişkinlerin kış uykusundan uyanmasından yaklaşık bir ay sonra larva şekilleri aktif duruma geçerler (30).

Türkiye'de *B. burgdorferi*ye vektörlük yapan *I. ricinus*, özellikle sahil şeridi olmak üzere yurdumuzda birçok iklim bölgesinde bulunmaktadır (25,34). Avrupa'nın birçok ülkesinde, konak arayan keneler içinde en sık olarak bu türe rastlanmaktadır. Avrupanın birçok ülkesinden toplanan *I. ricinus*'ların *B. burgdorferi* ile enfeksiyon oranı yaklaşık olarak erişkinlerde %20-25, nimflerde %7-17 ve larvalarda %2-6 sıklığındadır (35-39).

Ixodes persulcatus

Bu tür keneler Avrasya'nın daha çok kuzey ve doğu bölgelerinde bulunur. Bu kenelerin coğrafik dağılımlarının batı sınırı Almanya'nın Hamburg sınırından geçen boylama tekabül eder. Bu bölgede aynı zamanda *I. ricinus* da bulunur. Doğu Avrupa ve Asya'dan, Japon adalarına kadar uzanan geniş bir coğrafik dağılım gösterirler. Özellikle kozalaklı orman döküntülerinde bulunma eğilimindedirler (30). Bunlar *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* ve *B. afzelii*'ye vektörlük yapmaktadırlar. Yapılan çalışmalarda bu kenelerin %20-45'nin *B. burgdorferi* taşıdığı belirtilmiştir (40).

I. persulcatus'a 250'ye yakın hayvan türü konaklık yapmaktadır. Bunlar arasında 135 kuş türü, 104 memeli türü ve 2 sürüngen türü bulunmaktadır. Larva ve nimf şekilleri kemiriciler ve böcekçiller gibi küçük orman memelileri üzerinde beslenmektedir. Aynı zamanda kuşlar da larva ve nimf şekillerine konaklık

yapmaktadırlar. Erişkin şekilleri ise kediler, vahşi toynaklı hayvanlar, yaban tavşanları ve kirpiller gibi hayvanlar üzerinde beslenirler (29,30).

Normal yaşam süreleri ortalama iki üç yıldır. Fakat kuzey enlemindeki bazı bölgelerde 5-6 yıl kadar yaşayabilirler. Rusya ve yakın ülkelerde erişkin şekilleri Nisan sonu-Temmuz ayları arasında kan emerler ve Nisan sonu - Haziran başı arasında aktiviteleri en üst seviyededir. Larva ve nimfleri özellikle Haziran-Temmuz ayları boyunca olmak üzere ilkbahar ve yaz aylarında konak ararlar (30).

***Ixodes scapularis* (I. dammini)**

Bu kenelerin coğrafik dağılımı Virjinya'dan (Virginia) Florida, Teksas ve Oklahoma'ya kadar uzanır. Bu keneler Amerika'da *B. burgdorferi sensu stricto* ve *B. bissetti*'ye vektörlük yapmaktadırlar (29,30).

I. scapularis yaklaşık 80 kadar büyük, orta ve küçük boylu hayvan üzerinde bulunabilmektedir. Florida'da larva ve nimfler için en önemli konak pullu sürüngenler sınıfından bir kertenkele türü olan skink'lerdir. Beyaz ayaklı fare (*Peromyscus leucopus*) da bu kenenin larva ve nimfleri için önemli bir konaktır. Bu konuda yapılan çalışmalarda beyaz ayaklı farelerde *I. scapularis* larva ve nimflerinin diğer kenelere göre çok daha fazla oranda bulunduğunu göstermektedir. Bazı keseli fare türleri ve bazı sincap türleri de bu kenelerin larva ve nimfleri için önemli konaklardır. Aynı zamanda kuşlar larva ve nimf şekillerinin önemli konakları içinde bulunur. Erişkin şekilleri geyik, sığır, yavşak ve at gibi büyük memelilerde daha çok bulunur. Özellikle beyaz kuyruklu geyik (*Odocoileus virginianus*) erişkinlerin tercih ettikleri bir konaktır (29,30,41,42).

Yaşam süreleri 12-19 arasındadır fakat bazen daha da uzun yaşayabilirler. Erişkinler Eylül ayında konak aramaya başlarlar. Bu aktiviteleri Kasım ayında en üst seviyede olup, Mart ayına kadar konak arayışları devam eder. Larva ve nimfleri ise Nisan'dan Eylül'e kadar etkendirler (30).

Bu kenelerin *B. burgdorferi* ile enfeksiyon oranı bölgelere göre %10 ile %64 arasında değişiklik göstermekle beraber ortalama enfeksiyon oranları %20-30 civarındadır (43-45).

Ixodes pacificus

Bu keneler çoğunlukla batı Amerikada bulunurlar. Coğrafik dağılımları Kaliforniya-Meksika sınırından kuzeye doğru Washington ve batı Kolombiya'ya kadar uzanır. Bu bölgelerde *B. burgdorferi sensu stricto* ve *B. bissettii*'ye vektörlük yapmaktadırlar (29,30)

I. *pacificus* için yaklaşık 80 kadar irili ufaklı hayvan türü konak görevi yapar. Bunların 54'ünü memeliler, 19'unu kuşlar ve 7'sini sürüngenler oluşturmaktadır. Amerika da sahil bölgeleri boyunca bu kenelerin larva ve nimf şekilleri yaygın olarak sürüngenler, kuşlar, kemiriciler ve geyikler üzerinde parazitlenirler. Sürüngenlerden parmaklı bir kertenkele olan *Sceloporus occiden* larva ve nimfler için tercih edilen bir konaktır. Erişkin şekilleri ise geyik, köpek, kedi gibi orta ve büyük boy memeliler üzerinde beslenirler (29,30)

B. *burgdorferi* bu kenelerde %1-1,5 gibi düşük oranlarda bulunmaktadır (46). Bunun nedeni bu kenelerin tercihli konakları olan sürüngenlerin *B. burgdorferi* için tercih edilen bir rezervuar olmamasından kaynaklanabilmektedir.

Erişkinleri Kasım-Mayıs ayları arasında en aktif şekilde bulunur ve özellikle sonbahar ve kış mevsiminde daha bol olarak görülmürler. Larva ve nimf şekilleri ise Mart-Haziran ayları arasında daha bol bulunur. Ortalama ömürleri bir yıldır (29).

Ixodes dentatus

Bu keneler doğu Amerikada geniş bir dağılım gösterirler ve bu bölgelerde *B. andersonii*'ye vektörlük yapmaktadırlar.

I. *dentatus*'un larva, nimf ve erişkinleri özellikle Amerika'ya ait bir tavşan türü olan beyaz kuyruklu tavşan'lar (*cottontail rabbit*) üzerinde beslenirler (29,30). Bu tavşanlar üzerinden toplanan kenelerin yarısından fazlasının I. *dentatus* kenesi olduğuna dair bulgular, beyaz kuyruklu tavşanlar'ın *Ixodes dentatus* için en uygun konak olduğunu göstermektedir (47). Larva ve nimfleri için kuşlar da konak görevi yaparlar. İnsanlar üzerinde daha çok nimfleri parazitlenirler.

Larva şekilleri Nisan-Mayıs ve Eylül-Ekim aylarında daha boldur. Nimfler ise bütün sezon bulunmakla birlikte Mart-Nisan aylarında daha sık görülür. Özellikle dişiler olmak üzere erişkinleri Mart-Nisan ayları arasında değişik konaklar üzerinde beslenirler. Ortalama yaşam süreleri bir yıldır, Bazen daha da uzun yaşayabilirler (29,30,47).

Ixodes ovatus

Bu tür keneler coğrafik dağılım olarak Japonya'da *Borrelia japonica*'ya vektörlük yapmaktadır. Bunlar için en önemli konaklar özellikle *Apodemus* cinsine ait kemiricilerdir. Şu anki verilere göre *B. japonica* yalnızca bu tür kenelerden izole edilmişlerdir (48).

Ixodes granulatus

Çin'de *B. burgdorferi*'nin önemli vektörlerindedir. Bu ülkede, *B. granulatus*'un %24 oranında spiroket taşıdığı saptanmıştır (40).

Diğer *Ixodes* türlerinden ise *I. neotomae* Amerikada görülmekte olup *B. bisstii*'ye, *I. columnae* Asyada görülmekte olup *B. valasionae*'ye, *I. takunis* ve *I. turdus* ise Japonya'da görülmekte olup *B. turdus*'a vektörlük yapmaktadırlar. *I. uriae* ise deniz kuşlarında bulunan keneler olup, *B. garinii*'ye vektörlük yapmaktadır.

Amblyomma, *Dermacentor* türlerinin *B. burgdorferi*'yi az da olsa taşıdıkları bildirilmekle beraber, bunların sekonder vektör olduğu kabul edilir. Ayrıca Lyme hastalığının etkeni *B. burgdorferi*'ye geyik sineği, at sineği ve çeşitli sivrisinek türlerinde de az oranlarda rastlanabilir. Bunlar, *B. burgdorferi*'nin endemik olduğu bölgelerde mekanik taşıyıcılar olarak işlev görürler (49-51).

TAŞIYICI HAYVANLARI

B. burgdorferi'ye rezervuarlık yapan omurgalılar, vektör keneleri taşıyan hayvanlar arasında yer alır. Bu nedenle vektör kenelerle ilişkisi olan çok sayıda hayvan, *B. burgdorferi*'ye rezervuar olabilmektedir (29,30). *B. burgdorferi* prevalansı özellikle kemirgenlerde yüksektir. Bu bakteri ilk olarak beyaz ayaklı farelerden ve Amerikan ayısından (*Raccon*) izole edilmiştir. Beyaz ayaklı fare (*Peromyscus leucopus*), Amerikada bulunan *B. burgdorferi* türleri için çok önemli bir rezervuardır. Bu farelerin %80-90'nı özellikle yaz aylarında enfektedir ve bu hayvanlarda 13 ay kadar *B. burgdorferi*'nin canlı kaldığı tespit edilmiştir. Doğu sincabı (*Tamias striatus*) gibi bazı hayvanlar da doğu Amerika'da bu bakteriler için önemli rezervuar olabilmektedirler. Bir fare cinsi olan *Apodemus*'un bazı türleri, hatta küçük ve orta boylu diğer kemiriciler, Avrupa *I. ricinus* larvaları için önemli bir konak olması

nedeni ile *B. burgdorferi* için de önemli bir rezervuardır. Kemiriciler dışında çok sayıda irili ufaklı vahşi ve evcil memeliler *B. burgdorferi* için rezervuardırlar (29,30,33,52).

Amerika'da geyiklerin *B. burgdorferi* ile enfekte olduğu ve bu bakterilere karşı antikor içerdikleri bilinmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda geyiklerin bu bakteriler için önemli bir vektör olduğuna dair çelişkili sonuçlar vardır (29,53).

Kuşlar *Borrelia* türleri için önemli bir rezervuardır. Kuşlar üzerinde hem *Ixodes* türlerine rastlanmıştır hem de *B. burgdorferi* izole edilmiştir. Kuşlar aynı zamanda bu spiroketin farklı bölgelere taşınmasında da önemli işlev görürler (29,30). Bunlardan yaklaşık 300 kuş türünü içeren deniz kuşları, denizlerden beslenmekte olup özellikle *B. garinii* için önemli bir vektördürler. Deniz kuşları üzerinde bulunan en önemli kene *I. uriae*'dir. Yaklaşık olarak 50'den fazla kuş türü *I. uriae* tarafından enfestasyona uğrar. Deneysel çalışmalar, *I. uriae* ve bu kenelere konak olan deniz kuşlarında *B. garinii* bulunduğunu göstermiştir. Ayrıca çok sayıda kara kuşu *Borrelia burgdorferi*'ye rezervuarlık yapmakta, özellikle göçmen kuşları *B. burgdorferi*'nin dağılımında önemli bir işlev görmektedirler (42,54,55).

Ixodes cinsi keneler transovaryal olarak *B. burgdorferi*'yi oğul döllere aktarabilmektedir. Bazı araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda enfekte *Ixodes* cinsi kene yumurtalarından oluşan larvalarda hiç spiroket izole edemezken (56), bazıları %1,9 gibi çok düşük düzeyde transovaryal aktarım olduğunu tesbit saptamışlardır (57). Araziden toplanan aç larvalardan %0-5 oranında *B. burgdorferi* izole edildiği halde, aynı bölgeden toplanan nimf ve erişkin *Ixodes* cinsi kenelerdeki bu oran genellikle %15-20 arasındadır (45,58,59). Larva ve nimler arasındaki bu fark, *B. burgdorferi*'nin transovaryal aktarımının düşük düzeylerde olduğunun başka bir kanıtıdır. *Ixodes* cinsi kenelerdeki yumurta gelişimi üzerine *B. burgdorferi*'nin patojenik etkileri vardır. Bu nedenle *B. burgdorferi* taşıyan yumurtalar olgunlaşmayı başaramayabilirler (8). Transovaryal aktarımdaki düşüklük belki de bu nedenlidir.

Ixodes cinsi kenelerin gömlek değiştirmeleri sonrasında spiroketleri diğer safhalarına yüksek oranda aktarmaları, *B. burgdorferi*'nin yaşam döngüsünde ve epidemiyolojisinde önemlidir (60).

LYME HASTALIĞI

KONAĞA BULAŞIMI

Vektörden herhangi bir konağa *B. burgdorferi*'nin aktarılması için, kenenin konak üzerine tutunması ve üzerinden kan emmeye başlaması gerekir. Aç kene bir konak bulduğunda sürünerek üzerine yerleşir ve hipostomları sayesinde hem kan emer, hem de anti-inflamatuar ve immünsüpressif etkili olan tükrük salgısını konağa verir (29,61).

Deneyisel çalışmalar, *B. burgdorferi*'nin aç kenenin orta barsağında bulunduğunu, kene kan emmeye başladıktan sonra tükrük bezlerine ve diğer dokularına geçtiğini göstermiştir (8,62). Bu olayda zaman sürecinin önemi büyüktür. Enfekte kene, konağa tutunduktan 2-3 gün sonra tükrük salgısında spiroket bulunur (61). Etkenin konağa aktarılmasının kenenin tükrük salgısı yoluyla olduğu bilinmektedir. Bu sebepten, *B. burgdorferi*'nin konağa aktarılması için kene ve konak arasında en az 24 saat gibi uzun bir temas süresi gereklidir (63).

HASTALIK OLUŞTURMA MEKANİZMASI

Uzun bir temas süresi sonunda spiroket kenenin tükrüğü aracılığı ile konak derisi içine verildiğinde, spiroketin ökaryotik hücre yüzeyine bağlanabilme kabiliyeti çok önemlidir. Dekorin (decorin) deri ve eklemler gibi lyme hastalığı ile ilişkili yerlerde bulunan kollajen bir dokudur. *B. burgdorferi* ilk aşamada dekorin'e geçici olarak bağlanmaktadır. Bu da *B. burgdorferi*'de bulunan dekorin bağlayan protein-A (DbpA) ile gerçekleştirilir. Bunun yanında 47 kDa olan bir *B. burgdorferi* lipoprotein de memeli konağa yapışmada rol oynadığı düşünülmektedir (64,65). *B. burgdorferi*'nin inokülasyon odağından dermisin bitişik kısımlarına ve içeriye doğru göçünü ise plazminojene bağlanabilme yeteneği sağlar. Plazminojene bağlanma sonucunda bu plazminojen, plazmine dönüşür. Plazmin güçlü bir proteolitik enzim olduğundan fibrini ve hücreler arası yapı taşlarını parçalar. Bunun sonucu olarak da *B. burgdorferi* doku içine doğru ilerler(66). *B. burgdorferi*'nin memeli konağa geçişinin ardından, bu bakterinin lipoproteinleri CD-14 ile etkileşime girer ve TLR-2 yolu sayesinde vücudun savunma hücreleri aktive olur. Sonuç olarak inokülasyon bölgesine makrofajlar, monositler, polimorfonükleer lökositler ve T-lenfositler göç ederek yangısal reaksiyonları başlatırlar. *B. burgdorferi*'nin yol açtığı birçok

komplifikasyon da zaten bu yangısal tepkime nedeniyle oluşur (6,64,67). Etken eğer hücresel savunma mekanizmalarını aşarsa kan ve lenf yoluyla bütün vücuda yayılır ve Lyme hastalığının değişik klinik tabloları ortaya çıkar.

B. burgdorferi'deki OspA ve OspC salınımındaki değişikliğin, kene ve memeli hayvan arasındaki adaptasyonda önemli rol oynadığı düşünülür. Borrelia burgdorferi kenenin orta barsağı içinde OspA salgılar. Kenenin orta barsağından ayrıldığında OspA salınımında azalma görülür. Memeli konak içinde ise OspA salınımı tamamen durur ve OspC salınımı baskın hale gelir. Bunun yanı sıra OspE ve OspF'de yalnızca memeli konak içinde salgılanır (35,64,66,68).

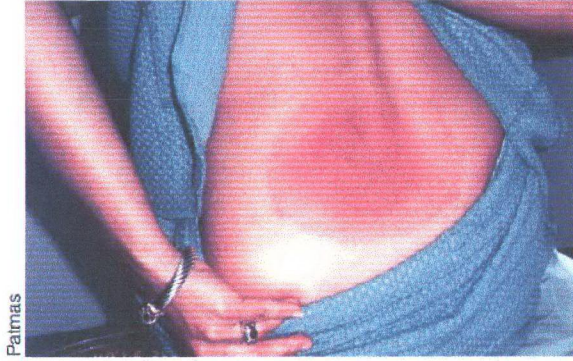
KLİNİK GÖRÜNÜM

Lyme hastalığında klinik tablo 3 farklı safhadan ibarettir. Bu safhalar şu şekilde sıralanabilir

1. Erken lokal enfeksiyon
2. Erken yaygın enfeksiyon
3. Kronik enfeksiyon

Erken Lokal Enfeksiyon

Lokalize erythema migrans olarak da adlandırılan bu dönem, kene ısırığı sonrası görülen ilk dönemdir. Yaklaşık 3-30 günlük inkübasyon süresinden sonra ilk lezyon kenenin ısırık bölgesinde makül veya papül şeklindeki kızarıklıklar olarak başlar. Tedavi edilmediği durumlarda günler ve haftalar sonra büyük lezyonlar şekline dönüşür. Bu lezyonların ortası solduğu veya mavimsi-kırmızı bir renk aldığı için yüzük şeklinde dairesel lezyonlar şeklinde gözüktürler. Çoğunlukla oval olmakla beraber uzun veya tuhaf şekillerde lezyonlar da gelişebilmektedir. Şekil 10'da görüldüğü gibi, bu lezyonların boyutları 3-85 cm arasında değişmekle birlikte ortalama 15-20 cm kadardır. Vücutta kalış süresi 3 ay ile 2 yıl arasında değişmektedir. Bazı durumlarda 2-4 cm büyüklüğünde, büyümeyen ve yüzük görüntümünde olmayan atipik lezyonlar da oluşabilmektedir (5,6,10,69)



Şekil 10. Erythema Migrans (70)

Kene ısırığı öyküsünü hastaların yaklaşık yarısı hatırlayabilmektedir. Erythema migrans en sık olarak, kenenin en kolay ulaşabildiği ayak ve başlarda gözükür. Bunun yanı sıra avuç içi ve ayak tabanları hariç vücudun diğer bölgelerinde de gözükülebilmektedir. Bunun yanı sıra hastalığın belirli dönemlerinde tekrar ortaya çıkabilir. Başarısız tedavi sonrası, ilk lezyonun olduğu bölgeden farklı yerlerde de EM görülürse, bu durum reenfeksiyonu gösterir. Eğer, kronik enfeksiyon dönemindeki ACA'lı bir hastada EM görülürse, bu durumda da süperenfeksiyondan bahsedilir (6,71-73). Bunun yanı sıra, EM'sa benzemesi nedeniyle morfea tipi lezyonlardan B. burgdorferi'nin de sorumlu olabileceği düşünülerek, morfea hastası kişiler üzerinde yapılan serolojik çalışmalarda anlamlı sonuçlar bulunamamıştır (74).

EM genellikle asemptomatik seyretmekle beraber, bazen kaşıntılı ve ağrılı olabilir. Bazı durumlarda ise hastalarda ateş, halsizlik, baş ağrısı, kas ve eklem ağrısı gibi sistemik yakınmalar görülebilmektedir. Bu semptomların görünümü Amerikalı hastalarda %50-60, Avrupalı hastalarda ise %40-50 kadardır (10,72,73)

EM lezyonlarının histolojik görünümü, kan damarları etrafında lenfositlerin infiltrasyonu şeklindedir. Bazen plazma hücreleri de gözükülebilir. T-helper en başta olmak üzere T-lenfositleri en bol bulunan lenfositlerdendir. Bunun yanı sıra çok sayıda langerhans hücreleri de EM lezyonunda bulunmaktadır. Lezyonla ilişik kan damarları ise kompleman C-3, C-4d, fibrin, fibrinojen, IgM ve IgG içermektedir (6,75).

Kene aktivitesine bağılı olarak EM çoğunlukla Mayıs-Ekim ayları arasında oluşmakla birlikte en sık görüldüğü ay Ağustos'dur. Sıcak iklim bölgelerinde daha erken ve daha geç olarak da ortaya çıkabilmektedir (6,75).

Lyme hastalığının ilk devresinde görülen diğer bir semptom ise son yıllarda tanımlanmış olan Borrelial Lenfositoma'dır. Şekil 11'de görülen bu lezyonlar derinin ortalama 1-5 cm çapında mavimsi-kırmızı renkte infiltrasyonu olarak ortaya çıkar ve genellikle tekli, bazen de çoklu şekillerde görülürler. Bu lezyonlar avrupada %3 oranında görüldüğü halde Amerikada nadir olarak görülür (31,76).



Şekil 11. Borrelial lenfositoma(31)

Erken Yaygın Enfeksiyon

İnokülasyondan haftalar ve aylar sonra, B. burgdorferi hastaların kan ve lenf nodları yoluyla yayılarak değişik organ ve dokularda farklı klinik şekillere neden olurlar. B. burgdorferi bu safhada kandan izole edilebilir. Az sayıda da olsa miyokard, retina, kas, kemik ve eklem sıvılarından da izole edilebilir (6).

Erken yaygın enfeksiyonun en tipik şekli multiple erythema migrans (MEM)'dir. Bu lezyonlar genellikle 5-15 cm çapındadırlar ve derinin herhangi bir bölgesinde olabilirler. Genellikle homojen bir kızarıklık şeklinde olmakla birlikte, bazen ortası solmuş şekilde de bulunabilirler (6). MEM, Avrupa'da %6 civarında görülürken, Amerika'da daha yaygın olup yaklaşık %18 oranında görülür (72,73,77).

Bu safhada görülen diğer bir klinik şekil, nörolojik tutulumdur. Nöroborreliyoz genellikle menenjit, meningoradikülit, kraniyal nevrit, ensefalit, Bell's palsy ve miyelit gibi klinik semptomlar şeklinde ortaya çıkmaktadır.

Amerikalı hastaların %10-30'de, Avrupalı hastaların ise %16-80'de nörolojik tutulum gözükür (14,69,76-79). Nöroborreliyoza hastaların spinal sıvısında mononükleer hücreler yaygın olarak bulunur ve B. burgdorferi'ye karşı özgül IgG, IgM ve IgA antikorları vardır. BOS'da bulunan T-hücreleri konanın miyelin ve kardiyolipin gibi otoantijenleri ile reaksiyona girebilir. Oto antijenlerle olan bu etkileşimin doku harabiyetine neden olup olmadığı araştırma konusudur (5).

Bu safhadaki kalp tutulumu genellikle nörolojik bulgularla birlikte görülür. Kalp tutulumunda görülen en yaygın bozukluk atrioventriküler blok, miyokardit ve pankardit'dir. Kalp tutulumunun fizyolojik belirtileri çarpıntı, baygınlık, baş dönmesi, kısa kısa nefes almalar ve göğüs ağrıları şeklindedir. Elektrokardiyografik bozukluklar da görülmektedir (5,80). Avrupalı hastaların %0,4-5'de, Amerikalı hastaların ise %5-10'da Borrelia burgdorferi karditi görülmektedir (69,77,79).

Hastalığın başlangıcından 6 ay sonra vücudun değişik bölgelerinde iskelet-kas ağrıları görülür. Özellikle dizlerde olmak üzere büyük eklemlerde artrit olgularına raslanır. Lyme artrit'i Avrupa'da %7 oranında gözükürken, Bu oran Kuzey Amerika'da %41-50 düzeyindedir(76,79).

Erken yaygın enfeksiyonda bölgesel ve genel lenfadenopati, splenomegali gibi lenfatik sistem tutulumları da görülmektedir. Bunun yanı sıra göz tutulumuna bağlı olarak konjonktivit, irit, koroidit, retinal kanama ve panoftalmi gibi hastalıklar oluşabilmektedir.

Geç Enfeksiyon

Kronik enfeksiyon olarak da adlandırılan bu safhanın en tipik klinik şekli acrodermatitis chronica atropicans oluşturmaktadır. Bu dönem erken yangısal safha ve geç atrofik safha olmak üzere iki klinik formdan oluşur (4,6)

ACA'nın yangısal safhası genellikle bir ekstremitede infiltrasyon, iltihap veya hamura benzer şişkinlikler şeklinde ortaya çıkar. Hareketli kaslar üzerinde mavimsi-kırmızı mor bir kızarıklık oluşması bu safhanın tipik özelliğidir (Şekil 12). Genellikle ilk aşamada el ve ayakların sırt kısımları ile diz ve dirseklerde sık görülür. Bu hastalar çoğunlukla kene ısırığı öyküsünü hatırlamazlar. Başlangıçta bir ekstremitede enfekte olduğu halde daha sonra iki veya daha fazla ekstremitede enfekte olabilir. Bazen kalça etleri, gövde ve yüz de tutulabilir. Avuç içi ve ayak tabanları da etkilenen bölgelerdendir (4,6).



Şekil 12. Acrodermatidis Chronica Atrophicans (31)

Yangısal safhanın görüldüğü ekstremitelerde, ACA'nın ikinci şekli olan atrofi'ler oluşur. Bu aşamada iltihap tortulaşır ve deri altı yağ tabakası yok olur. Bunun sonucu olarak deri inceler, sigara kağıdı gibi buruşuklaşarak pullu ve kuru bir görünüm alır. Deri altında bulunan toplardamarlar kolaylıkla görülebilir. Deri üzerinde bulunan kıllar dökülür ve hipo veya hiperpigmentasyon oluşabilir. Atrofi nazofaringial, lingual ve vajinal mukoza membranlarında bile görülebilir. Atrofi'nin birkaç yıl kadar uzun bir sürede oluşması dikkate değer bir özelliğidir. Lyme artriti, hastalığın iki ve üçüncü yılına kadar uzunca bir süre devam ederse kronik artrit olarak tanımlanır. Kronik artrit bazı durumlarda kıkırdak ve kemik erimesine de yol açabilir. ACA'lı hastalarda B. burgdorferi 10 yıl kadar eski lezyonlardan bile izole edilebildiği belirtilmektedir (4-6,76).

B. burgdorferi'nin hastalığın başlangıcından bir yıl sonrası hem merkezi hem de çevresel sinir sistemi bozukluklarına yol açtığı bilinmektedir. Merkezi sinir sistemi tutulumuna bağlı olarak ensefalomyelit görülür. Bu hastalarda duyuşal bozukluklar, mesane fonksiyonu bozukluğu, ataksi, hafıza kaybı ve bunama görülebilir.

BAĞIŞIKLIK MEKANİZMASI

B. burgdorferi enfeksiyonunda hücrel immün yanıt hümoral immün yanıtta daha erken olarak, kenenin ısırık bölgesinde başlar. Bu sebepten deride veya eklem dokularında B. burgdorferi'nin varlığına bağlı olarak yangısal bir cevap başlar. EM gibi birçok komplikasyon da zaten bu yangısal tepkime nedeniyle oluşur. Bu bakteride lipopolisakkaritler bulunmadığından, iltihabi reaksiyonlarda rol oynayan en önemli etken lipoproteinleridir. Sonuç olarak bu lipoproteinler, makrofajları, monositleri, lenfositleri ve endotelial hücrelerin de içinde olduğu birçok hücreyi aktive eder ve iltihabi reaksiyonlar başlatılır (6,64,67).

B. burgdorferi'nin çok sayıda antijen özelliği gösteren proteinleri vardır. Etken konağa girdikten kısa süre sonra bu proteinlere karşı antikor yanıtı gelişir. Fakat bu antikorların serolojik yöntemlerle saptanması 2-3 haftayı bulmaktadır. Spesifik IgM antikorları genellikle enfeksiyondan 2-4 hafta sonra oluşarak 6-8 hafta sonra en üst seviyeye ulaşır ve daha sonra azalarak kaybolur. Deneysel çalışmalar, oluşan ilk antikor yanıtın 39 kDa periplazmik protein, 41 kDa flageller antijen ve 23 kDa OspC'ye karşı oluştuğunu ortaya koymuştur (10,35,45,81,82).

Spesifik IgG antikorları ise genellikle enfeksiyon başlangıcından 6-8 hafta sonra ortaya çıkmakta olup, 4-6 aylar arasında en üst seviyeye ulaşır. Bu antikorlar genellikle IgG-1 ve IgG-3 grubundandır (10,81). IgG antikorları yıllarca serumda ölçülebilir düzeyde kalabilir. Kalish ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, Lyme hastası kişilerin %62'sinde 10-20 yıl sonra bile IgG seropozitifliği gözlenmiştir (83).

LABORATUVAR TANISI

Erythema migrans dışında Lyme hastalığı için spesifik bir görünüm yoktur. Lyme hastalığında oluşan diğer klinik görünümler, diğer bakteriyel hastalıklarla karıştırılabilir. Bu yüzden laboratuvar testleri sıklıkla kullanılır (16,82,84).

Lyme hastalığının laboratuvar tanısı şu şekilde yapılmaktadır.

- A. Klinik örneklerden B. burgdorferi izolasyonu
- B. Serum veya beyin omirilik sıvısı (BOS)'da spirokete karşı oluşan antikorların ortaya konulması
- C. Akut ve konvelesans dönemde alınan çift serum örneğinde B. burgdorferi'ye karşı oluşan IgM ve IgG titrelerindeki anlamlı artışın görülmesi

Lyme hastalığı için kullanılan laboratuvar testleri şunlardır (19,84).

1. Direkt Tanı Yöntemleri
 - a). Biyopsi
 - b). Kültür
2. Antikor Saptama Yöntemleri
 - a). İndirekt Floresan Antikor Testi
 - b). Enzime Linked Immunosorbent Assay
 - c). Western Blot
 - d). Borreliacidal Antikor testi
3. Antijen Saptama Yöntemleri
 - a). Antijen-Capture
 - b). Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Direkt Tanı Yöntemleri

Biyopsi Yöntemi

EM lezyonunun biyopsisinde lenfositler, eozinofiller ve plazma hücreleri görülür. Bu histolojik özellikler yararlıdır fakat tek başına tanısal değildir. Biopsi örnekleri Warthin-Starry gümüş boyama veya Modifiye Stainer gümüş boyama yöntemi ile boyandığında vakaların %40'ında B. burgdorferi spiroketinin varlığı belirlenebilir. EM lezyonu dışında, hastalığın dönemine bağlı olarak BOS, eklem sıvısı ve diğer organ biyopsi örneklerinden hazırlanan preparatların boyanması ile de B. burgdorferi görülebilir (85).

Yukarıda adı geçen boyaların dışında biyopsi örneklerinin boyanmasında Giemsa, Wright, Wright-Giemsa, May-Grunwald ve Akridin-Oranj gibi boyama yöntemlerinden de faydalanılmaktadır. Direkt Floresans Antikor tekniği (DFA) de klinik örneklerden spiroket görülmesinde sıkça kullanılan yöntemlerdendir. DFA ve Giemsa, klinik örnekler dışında, vektör konaklardan da spiroket araştırılmasında sıkça kullanılmaktadır(85-87).

Kültür Yöntemi

Lyme hastalığı belirtisi olan bir hastadan *B. burgdorferi*'nin izolasyonu ile hastalık tanısı konulabilir. Bu bakteri, Lyme hastası kişilerin EM lezyonu deri biyopsi örneklerinden, BOS'undan, kan ve miyokard biyopsilerinden, ayrıca sinovia sıvısından izole edilebilir. Erken dönemde EM biopsi kültürü yaklaşık %50 tam koydurucudur (10,88,89). Bir çalışmada EM'in ortadan kalkmasından 6 ay sonra bile lezyon yerinden spiroket izole edilmiştir(90). Bununla birlikte kültür için kullanılan Barbour-Stainer-Kelly (BSK-II) besiyerinde *B. burgdorferi*'nin üretilmesi için 4-6 haftalık uzun bir süreye ihtiyaç duyulması nedeniyle erken tanıda kültür pratik bir yöntem değildir. Aynı zamanda araştırma laboratuvarı dışında kültürün duyarlılığının zayıf olduğu da bildirilmektedir (10). Bu nedenle kültür genellikle araştırma amaçlı kullanılmaktadır.

Lyme hastalığı etkeni *B. burgdorferi*'nin üretilmesinde kullanılan BSK-II besiyeri neopepton, sığır albümini ve tavşan serumu gibi besleyici maddeler içermektedir (91). Bu besiyerinde, kültür ortamının diğer bakteriler ile kontaminasyonu önemli bir sorundur. Bu nedenle çeşitli antibiyotikler eklenmiş olan modifiye şekillerinin kullanılması daha iyi sonuç verir (92). Kültürün 0.2-0.45 mikrometre çapında porları bulunan membran filtrelerden süzülmesi, mililitredeki *B. burgdorferi* sayısını azaltmakla birlikte kontaminant bakterilerin arındırılması açısından faydalı bir yöntem olabilmektedir (93). Günümüzde BSK-II' nin alternatifi olarak yeni besiyerleri ileri sürülmekle beraber, karşılaştırmalı olarak yapılan çalışmalar BSK-II'nin hala *Borrelia burgdorferi* üretiminde kullanılabilir en uygun besiyeri olduğunu göstermektedir (94,95).

Antikor Saptama Yöntemleri

İndirekt Floresan Antikor Yöntemi

İndirekt Floresan Antikor Testi (IFA) günümüzde Lyme hastalığının serolojik tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. IFA testinde anti-*B. burgdorferi* antikorlarını tayin etmek için tam *B. burgdorferi* hücreleri kullanılır. Bu hücreler lam üzerine fikse edilir ve üzerine hasta serumu eklenir. Bağlı antikorların olup olmadığı anti-insan IgM ve IgG ile tayin edilir. Bu antikorlar fluorescein isothiocyanate (FITC) ile işaretlenmiş olduğundan floresan mikroskopunda floresan derecesi ölçülerek tanı konulur (16,96). IFA ile kenelerde *B. burgdorferi* tayini de

yapılır. Fakat, yalnızca canlı kenelerden hazırlanan preparatlarda IFA testi uygulanmalıdır (97).

Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)'da tam B. burgdorferi hücreleri kullanılabilceği gibi parçalanmış B. burgdorferi'nin purifiye şekilleri veya rekombinat B. burgdorferi proteinleri de kullanılabilir. Test, spiroket veya proteinlerinin (antijen) 96 kuyucuklu mikropak içine yapıştırılması esasına dayanır. Test yöntemi IFA'ninkine benzer, farklı olarak bağlı antikorlar bir enzim substratı ile tepkimeye girer ve reaksiyon derecesi spektrofotometre ile ölçülür (16).

Lyme hastalığının ilk evresinde oluşan IgM cevabından biri de B. burgdorferi'nin OspC proteinine karşıdır. ELISA'da rekombinant OspC (E. coli' de üretilmiş OspC) antijenlerinin kullanılması Lyme hastalığının erken tanısında faydalı olmaktadır (98). Ayrıca hasta serumlarının Treponema phagedenis biyotip Reiter suşu ile adsorpsiyonunun çapraz reaksiyonu önemli oranda azalttığı ve test duyarlılığını arttırdığı görülmüştür (99). Bu veriler ileriki yıllarda uygulama alanına girecektir.

IFA ve ELISA'nın duyarlılığı erken lokalize enfeksiyonda, geç enfeksiyondan daha düşüktür. EM'li hastalarda %14-80 arasında seropozitif sonuç bulunduğu halde, geç safhadaki hastalarda bu oran %50-100 arasındadır (8,69,81,83,100).

Bazı araştırmacılar ELISA ve IFA'nın duyarlılığının benzer olduğunu söylemekle birlikte, çalışmaların çoğunluğu ELISA'nın IFA'dan daha duyarlı bir test olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda 96 testin birarada yapılması ELISA'nın avantajlı yönlerindedir (81,100).

Western Blot Yöntemi

Western Blot (WB) testi kaliteli bir laboratuvar ve deneyimli bir personel tarafından yapıldığında Borrelia burgdorferi'nin tanısında kullanılan faydalı bir yöntemdir (19). WB testi ELISA'dan daha duyarlı ve özgül bir testtir (101,102). Fakat ELISA, çok sayıda örneğin bir arada çalışılması bakımından daha uygundur. WB testi, ELISA'nın pozitif verdiği sonuçların doğrulanması bakımından uygulanmalıdır (103). Hastalığın erken döneminde WB pozitifliği %32-60, geç dönemde ise %80-100 civarındadır (101,102,104).

Borreliasidal Antikor Testi

B. burgdorferi bir organizmaya inoküle edildiğinde, organizmada B. burgdorferi'yi öldürücü nitelikte IgM ve IgG yapısında antikorlar gelişir (16). Pavia ve arkadaşları, Treponema pallidum İmmobilizasyon Testi'ne benzer bir yöntemle B. burgdorferi ile enfekte kemelerin serumlarında antibakteriyel aktivitenin olduğunu kanıtlamışlardır (105). Bu özellikten faydalanarak Callister ve arkadaşları, Borreliasidal Antikor Testi (BAT) adı verilen yeni bir test tekniği geliştirmişlerdir (17,106).

Borreliasidal antikorların olup olmadığı hasta serumu, kompleman ve canlı B. burgdorferi'nin birleştirilip bir süre enkübasyonu ile gözlenebilir. BAT'ın duyarlılığı daha önceden spiroketin canlı kalma yeteneğinin mikroskopik değerlendirilmesi veya kültür ortamına katılan pH indikatörleri sayesinde yapılmakta idi. Fakat son yıllarda flow sitometre (flow cytometer) kullanarak BAT'ın duyarlılığı önemli derecede artırılmıştır. Flow sitometrik BAT yönteminde canlı B. burgdorferi spiroketleri kompleman ve serumla birleştirilerek 33°C'de 16-24 saat enkübe edilir. Daha sonra 1 dakika akridin oranj ile boyanır. Eğer serum borreliasidal antikor taşıyor ise ortamda bulunan spiroketlerden bir kısmı ölecektir. Akridin oranj boyası yalnızca ölü spiroketleri boyamaktadır. Böylece bakterilerde artmış olan floresan yoğunluğu flow sitometri ile tayin edilir. Bu yöntemde B. burgdorferi konsantrasyonu azaltılarak az miktarlarda bulunan borreliasidal antikorlar bile tayin edilebilmektedir (16,84).

BAT'ın IFA ve ELISA'dan daha duyarlı ve özgül olduğu belirtilmektedir. Bu testte hem yalancı pozitiflik oranı daha düşük, hem de hastalığın erken döneminde %72 tanı koyucudur (16,84).

Antijen Saptama Yöntemleri

Antijen-Capture Yöntemi

Birçok çalışma, B. burgdorferi ile enfekte fare, keme, köpek gibi hayvanların idrarında bu spirokete ait antijenlerin bulunduğunu göstermiştir (88,107). Lyme hastası kişilerin idrarında ve BOS'unda da B. burgdorferi antijenleri bulunmaktadır (107,108). Antijen-capture yöntemi, B. burgdorferi'nin çeşitli antijenlerine karşı oluşmuş poliklonal antikorlar kullanarak, inceleme örneklerinde B. burgdorferi antijenlerinin yakalanması esasına dayanır. Bu antijenlerin varlığı ise antijen capture-

ELISA ile ölçülebilir (19,109,110). Günümüzde bu yöntemle kenelerde bulunan B. burgdorferi antijenleri araştırılarak, kenelerde enfeksiyon prevalansı da ortaya konulmaktadır (111,112).

Antijen capture yöntemi, genellikle idrar örneklerinde antijen arama amacıyla kullanılmaktadır. IgM ve IgG negatif olan erken dönemdeki Lyme hastalarının idrarlarında B. burgdorferi antijenlerine rastlanabilmektedir. Bu da, Lyme hastalığının erken tanısına olanak vermektedir (110). Bu nedenle bu test erken dönemdeki hastalık tanısında IFA ve ELISA'dan daha duyarlı bir testtir. Bunun yanısıra nörolojik Lyme hastalığının tanısında da bu testten yararlanılabilmektedir (108).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) testi Lyme hastası kişilerin kan, EM lezyonu, idrar, BOS, sinovial sıvı ve diğer dokularında B. burgdorferi DNA'sının araştırılması esasına dayanan bir testtir (113,114).

Lyme hastalarında inceleme örneği olarak idrar kullanıldığında PCR testinin duyarlılığı artmaktadır. Schmit ve arkadaşları PZR yöntemi ile EM'li ve tedavi edilmemiş hastaların %89'nun idrarında B. burgdorferi DNA'sını tesbit etmişlerdir (115). PZR testi, idrar ve EM-deri biopsi örneklerinde kültür kadar, hatta daha fazla tanı koyucu olmaktadır. Fakat dalak, böbrek ve mesane dokularında kültüre göre tanı değeri daha düşüktür (88,114). Bununla birlikte Real Time PZR yöntemi kullanıldığında hem testin duyarlılığı artar, hem de dokularda bulunan B. burgdorferi'nin miktarı hakkında fikir edinilebilir (96).

PZR yöntemi ile vektör kenelerin B. burgdorferi taşıyıp taşımadıkları da araştırılabilmektedir. IFA'da sadece canlı kenelerden hazırlanan boyama preparatlarının yapılması gerekirken, PZR ile hem ölü hem de canlı keneler kullanılabilmektedir (97).

PZR testi, EM lezyonunda %80 tanı koyucudur. EM'li hastalarda kültür, seroloji ve PZR birlikte kullanıldığında pozitif sonuç %94'lere ulaşabilmektedir. Hastalığın geç döneminde ise PZR'nin tanı değeri yaklaşık %95 civarındadır (89,114).

Bu testlere ek olarak Lyme tanısında kompleman fiksasyon testleri ve indirek hemaglutinasyon testlerinden de yararlanılmaktadır (116,117).

Laboratuvar Tanıda Çapraz Reaksiyonlar

Lyme hastalığının tanısında kullanılan serolojik testler tamamen özgül değildir. Bu sebepten pozitif bir serolojik test kesin bir B. burgdorferi enfeksiyonu olduğu anlamına gelmez. B. burgdorferi ile diğer spiroketler, bakteriler ve protozoonlar arasında, hatta otoimmün hastalıklar arasında antijenik benzerlikler olabilir. Bunun sonucu olarak serolojik testlerde çapraz reaksiyon problemiyle sık sık karşılaşılmaktadır. Çapraz reaksiyonlar en sık olarak treponemal hastalıkların varlığında oluşur. Bunlar içinde de sifiliz en ön sırada gelir. B. hermsii, L. interrogans, N. meningitidis, H. influenzae, Y. enterocolitica, C. jejuni, L. monocytogenes, P. aurescens, E.coli, S. typhimurium, S. flexneri gibi birçok bakteriler ve romatoid artrit, sistemik lupus eritematoz, infeksiyöz mononükleoz gibi hastalıkların varlığı sırasında çapraz reaksiyonlar ortaya çıkabilmektedir (19,82,84,100,118). Bu etkenler Lyme hastalığı için yapılan serolojik testlerde çapraz tepkimeye yol açmasına karşın RPR, WDRL ve ANA testleri Lyme hastalarında genellikle negatiftir. Bu nedenle Lyme serolojisi yönünden pozitif bulunan serumlara bu testler uygulandığında, yalancı reaksiyonların önemli bir bölümünü ortadan kaldıracaktır (85).

TEDAVİSİ

Lyme hastalığının değişik klinik evreleri olduğundan uygulanması gereken antibiyotik tedaviler klinik dönemlere göre farklılık gösterebilir.

Hastalığın erken lokal enfeksiyon dönemlerinde doxycycline ve amoxicillin etkili antibiyotiklerdendir. EM'li 8 yaşın üzerindeki kişilere doxycycline verilir. Bir çalışmada doxycycline'nin Lyme hastalığının geç komplikasyonlarını % 70 önlediği belirtilmiştir (119). 8 yaşın altındaki çocuklara ise amoxicillin verilmelidir. Bu kişilere penicilin ve erythromycin de uygulanabilir (5,10,78).

Erken yaygın enfeksiyonda eğer multiple EM söz konusu ise, tedavi erken lokal enfeksiyondaki gibidir. Eğer nörolojik komplikasyonlar var ise en etkili antibiyotik ceftriaxone'dur. Ceftriaxone allerjisi olanlara doxycycline verilebilir. Kalp tutulumlarında hastalığın şiddeti göz önüne alınmalıdır. Şiddetli ise ceftriaxone, hafif ise doxycycline verilmelidir (5,10,78).

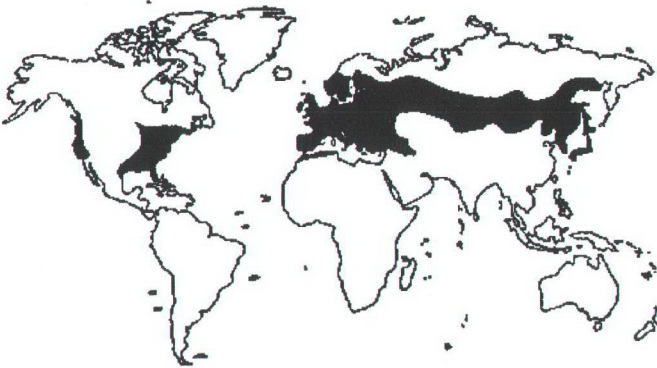
Geç enfeksiyonda Lyme artrit'li ve ACA'lı hastalarda doxycycline kullanılmaktadır. ACA'lı hastalarda penicilline etkisizdir. Bazı durumlarda penicilline

yerine benzyl penicilline kullanılabilir. Bu dönemdeki ensefalomyelit de ise ceftriaxone seçilmelidir (4,78,120).

EPİDEMİYOLOJİSİ

Lyme hastalığı günümüzün en yaygın görülen vektör kaynaklı hastalığı olup, geniş bir coğrafik alanda yaşayan insanlar bu hastalıkla karşı karşıyadır (Şekil 3). Lyme hastalığı üzerinde en fazla duran ve en kapsamlı veriler elde eden ülke ABD'dir. CDC'nin raporuna göre Amerika'da 1992-1998 yılları arasında, toplam 48 eyalette 88966 lyme olgusu saptanmıştır. Bu ülkede yıllık hastalık insidansı ortalama yüzbinde 5-6 civarındadır. Bu oran Connecticut gibi lyme hastalığı için endemik bölgelerde yüzde birlere kadar ulaşabilmektedir (3).

Avrupa ve Asya'da şu ana kadar 10 ülke dışında tam bir istatistiki çalışma yapılmamıştır. Kapsamlı çalışmalar yapılan bu ülkeler arasında ise lyme insidansında büyük farklılıklar görülmektedir. Avusturya'da lyme insidansı yüzbinde 130, Slovenya'da 120, İsveç'te 69 ve Bulgaristan'da 55 olarak bildirilmiştir. Türkiye'de ise bu konuda büyük kapsamlı araştırmalar bulunmamaktadır. Çalışmalar genellikle küçük gruplarda seropozitifliğin araştırılması şeklindedir. Güney Amerika, Afrika ve Avustralya'nın içinde olduğu güney yarım kürede lyme hastalığı olguları bildirilmiş olmakla beraber, bu olgular yalnızca serolojik olarak tanımlanmıştır. Bu bölgelerde B. burgdorferi sensu lato türleri Ixodes kenelerinden, şüpheli vektör veya hastalardan soyutlanamamıştır (31,76,121).



Şekil 13. Lyme hastalığının coğrafik dağılışı(31)

KORUNMA VE ÖNLEMLER

Kene ile Temastan Kaçınma

Hastalıktan korunmak için ilk yapılacak önlem, kene ile temastan kaçınma şeklindedir. Kişi mümkünse kenenin bol bulunduğu yerlerden uzak durmalıdır. Eğer çalılık, otlak vb gibi risk bölgelerine gidilecekse uzun kollu gömlek ve uzun pantolon giyilmesi, pantolonun çorabın içine sokulması gerekir (Şekil 14). Aynı zamanda üzerinde kenenin kolaylıkla farkedilmesi için açık renkli elbiseler giyilmelidir. Bu tür arazide dolaşılırken elbiselere DEET (N, N-diethyl-m-toulamide) ve Permethrin gibi bazı kene kovucu insektisidler sürmenin de çok yararı vardır. Bu insektisidler eğer vücut yüzeyine sürülecekse yüksek sulandırıcıları kullanılmalıdır. Köpek, kedi, gibi yakın temas içinde olunan evcil hayvanlar üzerinde de kene kontrolü yapılması gerekir. Ayrıca ev civarında bulunan yaprak ve çalı döküntüleri temizlenmeli, gerekirse keneler için pestisid ilaçlar kullanılmalıdır (122,123).



Şekil 14. Keneden korunma önlemleri (122)

Kenenin Hemen Çıkarılması

Yapılan çalışmalarda kenenin B. burgdorferi'yi konağa aktarması için en az 24 saatlik bir temas süresinin gerekli olduğu gösterilmiştir (63,124). Eğer vücut üzerinde bir kene tesbit edilmişse, kenenin hemen çıkarılması enfeksiyon tehlikelerini önemli ölçüde düşürmektedir. Kenenin çıkarılması sırasında minarele yağ, vazelin, tırnak cilası sürme ve yakma gibi yöntemler asla kullanılmamalıdır. Kenenin ezilmemesi de önemli bir kuraldır. Kenenin çıkarılması iki ucu sivri cımbız kullanarak kenenin yavaşça çekilmesi şeklinde olmalıdır. İşlem sonrası ısırık bölgesi bir antiseptik madde ile silinmeli ve eller yıkanmalıdır (31,123).

Kene ısırığı sonrası enfeksiyon olasılığı %1-5 civarındadır. Araştırmalar, kene ısırığı sonrası kısa süreli antibiyotik kullanımının bu olasılığı %0.4'lere düşürdüğünü göstermiştir. Hekim, kene ısırığı sonrası antibiyotik kullanıp kullanmama tercihini, antibiyotiklerin çeşitli komplikasyonlarını göz önünde bulundurarak yapmalıdır (125,126).

Aşı Uygulaması

Lyme hastalığının önlenmesi amacıyla aktif bağışıklama çalışmaları üzerinde en çok durulan B. burgdorferi antijeni OspA'dır. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar OspA'nın B. burgdorferi enfeksiyonuna karşı iyi bir koruyuculuk sağladığını göstermiş olup, insanlarda da benzer sonuçlar alınmıştır (127,128). Bu gelişmelerin sonucunda ise, rekombinat OspA (rOspA)'nın kullanıldığı aşilar LYMERix ve Pasteur-Merieux-Connought firmaları tarafından son yıllarda piyasaya sürülmüş ve şu an başarı ile kullanılmaktadır. Bu aşilar 30 mikrogram rOspA ve 0.5 mg alüminyum adjuvant içeren solüsyonlardır. 0, 1 ve 12. aylar olmak üzere 3 doz uygulanır. Koruyuculuğu %80 civarındadır (10).

Diğer bir aşı adayı, B. burgdorferi OspC antijenidir. Fakat B. burgdorferi'nin bütün izolatlarında OspC'nin bulunmaması etki alanını sınırlamaktadır (129). DbpA da aşı amaçlı üzerinde sıkça çalışılan bir protein olup, hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda olumlu sonuçlar alınmıştır (130).

OspA tarafından oluşturulan bağışıklığın etki mekanizması, B. burgdorferi'nin keneden memeli konağa geçişine engel olmak şeklindedir. Oysa, OspC ve DbpA memeli enfeksiyonu sırasında salgılandıkları için etki

mekanizmaları, B. burgdorferi'nin konağa geçişinden sonra enfeksiyonun engellenmesi şeklindedir (64,130).

Daha ileriki yıllarda OspA, OspC, DbpA ve diğere antijenlerin karma şekilleri aktif bağışıklama amaçlı kullanılabilir. Bunun yanı sıra bu antijenlere karşı elde edilen anti serumlar deney hayvanlarına verildiğinde, bu hayvanları B. burgdorferi enfeksiyonuna karşı koruduğu gözlenmiştir (131,132). Bu verilerden de anlaşılacağı gibi, ileriki yıllarda kene ısırığı sonrası pasif bağışıklama yoluyla enfeksiyondan korunma yolu da büyük bir olasılıkla uygulama alanına girecektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Sivas yöresindeki insanlarda Lyme seropozitifliği ve bunun etkeni olan *B. burgdorferi*'nin vektör kenelerdeki yaygınlığının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda Sivas yöresindeki köylerde bulunan hayvanlardan kene toplanmış olup, bu keneler arasında *B. burgdorferi*'ye vektör olabilecek keneler araştırılmıştır. Yine aynı köylerde yaşayan ve hayvancılıkla doğrudan uğraşan kişilerden risk grubu olarak kan örnekleri alınmıştır. Ayrıca hayvancılıkla hiç ilgisi olmayan şehirde yaşayan kişilerden ise kontrol grubu olarak kan örnekleri elde edilmiştir.

VEKTÖR KENELERİN ARAŞTIRILMASI

Çalışmamızda vektör kenelerin araştırılması için Sivas Merkez İlçeye bağlı 146 köy arasından basit rastgele örnekleme yöntemi ile 109 köy seçilerek bu köylerde bulunan büyük ve küçük baş hayvanlar üzerinde parazitlenen keneler toplanarak araştırmaya alınmıştır. Kene toplama çalışmaları Mayıs-Aralık 2001 tarihleri arasında yapılmış olup bu süre içerisinde toplam 10303 kene toplanmış ve bunlar içerisinde *B. burgdorferi*'ye vektör olan keneler araştırılmıştır.

ARAÇ VE GEREÇLER

1. 10-20 ml'lik cam şişeler.
2. Buzdolabı
3. Stereomikroskop
4. Pens
5. Eldiven
6. Petri kutuları
7. Kurutma kağıtları

KENE TOPLAMA ŞİŞELERİNİN HAZIRLANMASI

Kene toplamak amacıyla 10-20 ml hacminde küçük şişeler kullanıldı. Bu şişeler içerisine su emdirilmiş kurutma kağıtları yerleştirilip, ağzları yağlı pamukla kapatıldıktan sonra otoklavda 121°C'de 20 dakika steril edildi. Daha sonra üzerlerine

kene ile ilgili gerekli bilgilerin yazılması için etiketlendi. Her bir şişeye 1'den başlayan numaralar verilerek, kene toplandıktan sonra bu numaralar kene bilgi formuna kaydedildi (44,57,61,133).

KENELERİN TOPLANMASI

Ixodidae ailesine ait kenelerin tercihli konakları olarak kemiriciler ilk sırayı almalarına karşın, irili ufaklı evcil hayvanlar da bu keneler tarafından sıklıkla parazitlenmektedir. Bu evcil hayvanlardan ise inek, koyun ve keçi kırsal kesimde en bol bulunan hayvanlardır. Bu nedenden dolayı vektör kenelerin araştırılması amacıyla seçilen köylerde bu hayvanlar üzerinden keneler toplanmıştır.

Çalışmamızda çok sayıda kene toplayabilmek için değişik yöntemlere başvurulmuştur. Kene toplamak için köylerin bir bölümüne bizzat gidilerek hayvan sahipleri veya çobanlardan yardım istenmiş olup, köye yakın yerlerde otlayan sürüler için otlak yerlerine gidilerek, köye uzak yerlerde otlayan sürüler içinse akşam saati beklenecek, iyi aydınlatmalı bir projektör yardımıyla kene toplanmıştır. Bu işlem sırasında bir kişi hayvanı tutarken, diğer bir kişi tarafından hayvanın kuyruk altlarından, boyunlarından ve kulak içi gibi muhtelif yerlerinde kene araştırması yapılmıştır. Kene görülmesi durumunda ise hayvana acı verilmeden ve ürkütülmeden bir pens yardımıyla kene yavaşça çekilerek çıkarıldıktan sonra toplama şişelerine konularak etiket üzerine keneye ait bilgiler yazılmıştır.

Bazı köylerde, köy çobanlarından ve köy muhtarlarından yardım istenmiştir. Bu köylere de bizzat gidilerek bu kişilere kene toplama şişeleri verilmiş olup kene çıkartılması yöntemi tarif edilmiştir. Aynı zamanda bu kişilere Şekil 15'deki kene resimleri verilmiş ve özellikle resimdekilere benzeyen kenelerin toplanılması istenmiştir. Bunu takiben bir hafta sonra aynı köye tekrar gidilerek toplanan keneler teslim alınmıştır.

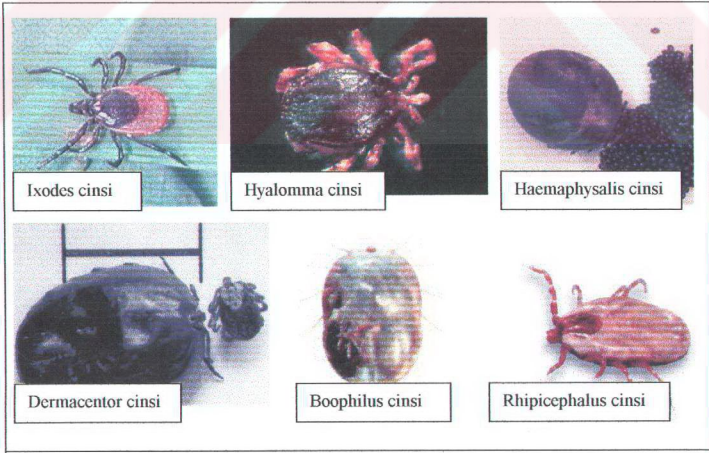
Diğer bazı köylerden kene toplamak için ise, Sivas Tarım İl Müdürlüğü'nün köylerde aşı kampanyası yürüten veteriner sağlık teknisyenlerinden yardım istenmiştir. Bu kişilere de toplama şişeleri ve kene resimleri verilerek, gittikleri köylerden kene toplanmaları sağlanmıştır.

KENELERİN SAKLANMASI

Keneler %96 nemli ortamlarda +4°C ile +8°C arasındaki bir sıcaklıkta 1-12 hafta canlılıklarını koruyabilirler. Bu sıcaklık derecesi yükseldikçe canlı kalma sürelerinde düşüş görülür (17,54,134). B. burgdorferi'nin araştırılmasında canlı kenelerin diseksiyonu önerilmektedir. Bu nedenlerden dolayı toplanan keneler sınıflandırılncaya kadar buzdolabında +4°C'de saklandı. Sınıflandırdıktan sonra ise -20°C'de derin dondurucuda saklanarak morfolojik yapılarının bozulması engellendi.

KENELERİN SINIFLANDIRILMASI

Ixodidae ailesine ait türler Türkiye'de 6 cins içinde toplanmaktadır. Bu cinslere ait kenelerin şekil 15'de görüldüğü gibi hem morfolojik olarak birbirlerine çok benzemeleri, hem de küçük yapılı olmaları çıplak gözle ayırt edilmelerine olanak vermemektedir. Ayırt edilmeleri için ayrıntılı morfolojik yapılarının görülmesi ve bir kene anahtarının kullanılması gereklidir. Bu nedenle bu çalışmada, keneler stereo mikroskop altında detaylı bir şekilde gözlenerek ve bir kene anahtarı kullanılarak tiplendirilmiştir.



Şekil 15. Ixodidae ailesine bağlı Türkiye'de bulunan çeşitli kene cinsleri (28,31).

Kenelerin tiplendirilmesi için başlangıçta Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nün ve Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesinin bu konuda uzman öğretim üyelerinden yardım alınmış olup, bu konuda yeterli deneyim elde edildikten sonra ise tiplendirme çalışmaları tarafımızdan yürütülmüştür.

B. burgdorferi'ye vektörlük yapan Ixodidae familyasına ait keneler sert keneler içerisinde yer aldığı için tiplendirmede ilk önce sert ve yumuşak kene ayrımı yapılmıştır. Sert ve yumuşak keneler çıplak gözle ayırt edilebildiklerinden çalışmanın bu aşamasında stereo mikroskop kullanılmamıştır. Sert keneler ise bir petri kabına konularak stereo mikroskop altında ince uçlu bir pens kullanarak scutum, conscutum, anal oluk, palp, bazis caputuli gibi organelleri ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir. İnceleme sonuçları çeşitli kaynaklarda tarif edilen kene anahtarı ile kıyaslanarak cins düzeyinde ayrımları yapılmıştır (25,27,28).

KENE AYIRIM ANAHTARI

A. Sert ve Yumuşak Kenelerin Ayrılması

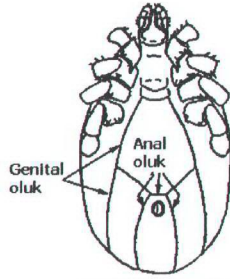
1. Yumuşak kene: Üstten bakıldığında capitulum görülmez----->Argasidae
2. Sert Kene: Üstten bakıldığında capitulum görülür----->Ixodidae

B. Sert kenelerin larva, nimf ve erişkinlerinin ayrılması

- 1.a- 3 çift bacakları var----->Larva
- 1.b- 4 çift bacakları var----->2
- 2.a- Genital delik yok, scutum olgun dişilerinkine benzer----->nimf
- 2.b- Genital delik var, dişilerin bazis caputuli üzerinde poros area var->erişkin

C. Ixodidae ailesine ait cinslerin erişkinlerine göre ayrılması

- 1.a-Anal oluk anüsü önden kuşatır. Palpleri uzun ve palplerin bazis caputuli'ye yapışma yerleri dar. Ayak çiftlerinin yerleşimi anterior----->Ixodes



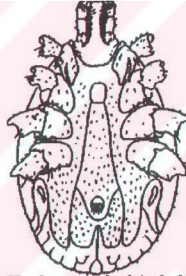
Ixodes cinsi (erkek)

b- Anal oluk antüsü arkadan kuşatır----->2

2. a - Palplerin ikinci ekleminin boyu eninin 2 katı, erkeklerinde adanal ve subanal plakları mevcut, gözlü ve nakışsız keneler----->**Hyalomma**

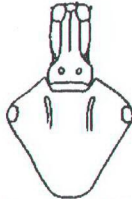


Hyalomma cinsi (dişi)



Hyalomma cinsi (erkek)

b- Palplerin ikinci ekleminin boyu eninin 2 katından fazla, erkeklerinde adanal ve subanal plakları yok, 11 festonlu, scutumunu renkli yapıda nakışlı ve büyük keneler----->**Amblyomma**



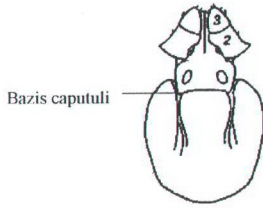
Amblyomma cinsi (dişi)



Amblyomma cinsi (erkek)

3.a – Palplerin ikinci ekleminin eni ile boyu eşit olup, bazis caputuliyi yanlardan aşar, erkeklerinde adanal ve subanal plakları yok, gözsüz keneler-----

----->**Haemaphysalis**



Haemaphysalis cinsi (dişi)



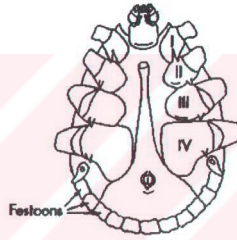
Haemaphysalis cinsi (erkek)

b – Palplerin ikinci segmenti bazis caputulıyı yanlardan aşmaz----->4

4.a- Scutum'u nakışlı, 11 festonlu ve gözlü keneler----->**Dermacentor.**



Dermacentor cinsi (dişi)

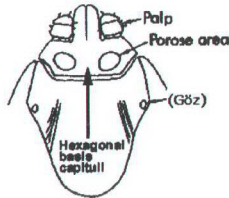


Dermacentor cinsi

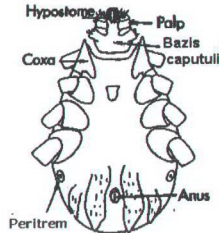
b- Bazis caputulı ağız organellerini yanlardan aşar----->5

5.a- Palpleri genellikle hypostomdan kısa, Coxa I'de yarık yok veya derin olmayan şekilde mevcut, anal oluğu belirsiz ve festonsuz, gözlü keneler

----->**Boophilus**



Boophilus cinsi (dişi)

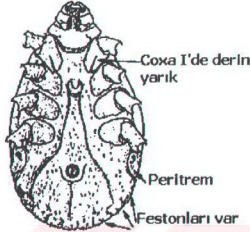


Boophilus cinsi (erkek)

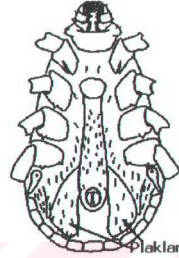
- b- Palpleri hypostom'dan uzun, Coxa I' i iç ve dış dikene ayıran derin bir yarığı var. Anal oluğu belirgin, festonlu ve gözlü keneler-----**Rhipicephalus**



Rhipicephalus cinsi (dişi)



Rhipicephalus cinsi (dişi)



Rhipicephalus cinsi (erkek)

KENELERDE B. BURGDFERİ'NİN ARAŞTIRILMASI

Bu çalışmada yöremizde B. burgdorferi'nin vektörlerinin araştırılmasının yanı sıra, yöremizde bulunabilecek vektör kenelerde B. burgdorferi taşıyıcılığının ne düzeyde olduğunun belirlenmesi de amaçlanmıştır.

Kenelerde B. burgdorferi varlığını belirlemek için en sık kullanılan yöntem Direk Floresan Antikor Testidir. B. burgdorferi en yaygın olarak kenelerin orta barsağında bulunmakta olup bu bölgede B. burgdorferi varlığı diğer dokularında da var olduğu anlamına gelmektedir. Bu nedenle bu testte genellikle kenelerin orta barsağının diseksiyonundan hazırlanan preparatlar kullanılmaktadır (44,61,85,86, 135).

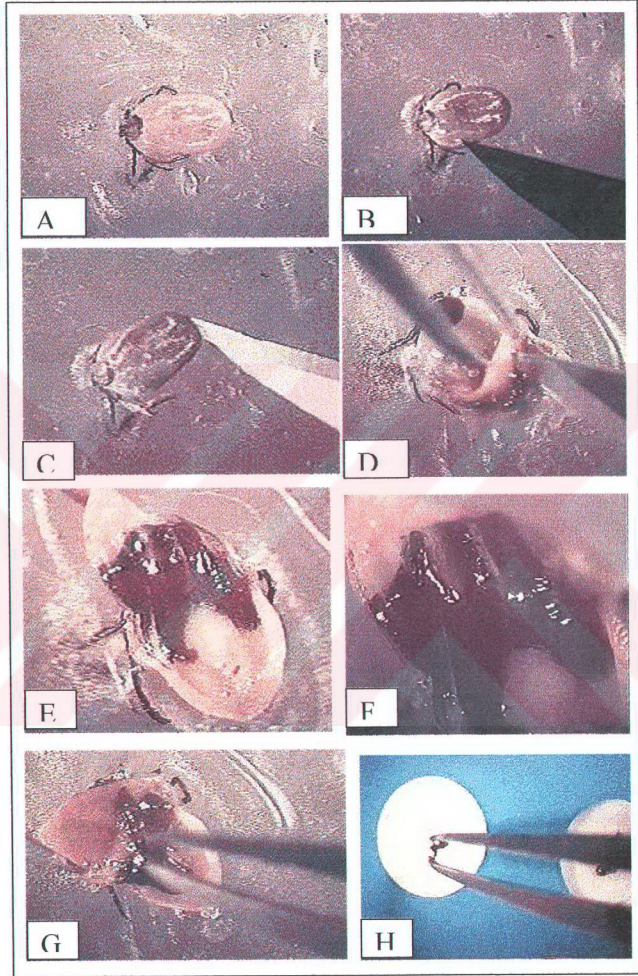
ARAÇ VE GEREÇLER

1. Stereomikroskop
2. İnce uçlu pens, bisturi ve petri kutuları
3. Zamk
4. Florescein isothiocyanate (FITC) işaretli anti-B. burgdorferi antikorları: (Kirgegaard and Perry Laboratories)

YÖNTEM

1. Deneme amacıyla incelenen keneler %70 isopropanol ile yıkandı.
2. Diseksiyonu yapıldı (136).
 - a) Kene içerisinde zank bulunan bir petri kutusuna bacakları ve ventral kısımları zamka girecek fakat dorsal kısımları dışarda kalacak şekilde yerleştirildi (Şekil 16-A).
 - b) Petri kutusu stereo mikroskop altına yerleştirildi. Mikroskoptan bakarak steril bir bisturi ile sırt yüzeylerinin etrafından olmak üzere kitinimsi tabaka dairevi şekilde kesildi (Şekil 16-B,C).
 - c) Bisturinin ucu ile iç organlarına zarar etmeyecek şekilde kenenin kesik yerinden arka bölgesine hafifce girilerek kitinimsi tabaka yukarı doğru kaldırıldı (Şekil 16-D). Yine tahriş etmeyecek şekilde kenenin vücudundan bu tabaka ayrılarak atıldı. Bu sayede kenenin abdomeni ortaya çıkartılmış oldu (Şekil 16-E).
3. Kenenin barsakları abdomen içerisinde koyu bir renkte görüldü (Şekil 16-F). İnce uçlu bir pens abdomenin içine sokularak bağırsak kısmı çekilerek alındı ve immüno floresans lamın üzerine yerleştirildi (Şekil 16-G,H).
4. Bu bağırsak materyaline 1 damla PBS damlatılarak iyice homojenize edildi.
5. Asetonla 15-20 dakika fikse edildi. Direkt floresan antikor testi yapılana kadar bu lamlar -20°C ile -70°C arasında uzun süre saklandı.
6. Boyama sırasında preparat üzerine florescein isothiocyanate (TITC) işaretli anti-B. burgdorferi antikorları konularak 30 dakika inkübe edildi.
7. PBS ile yıkandı.
8. Havada kurutularak floresan mikroskopunda incelendi (44,47,61,86).

Bu çalışmayı gerçekleştirmek için Kirgegaard and Perry Laboratories 'dan 'Fluorescein-Labeled Affinity Purified Antibody To Borrelia burgdorferi' isimli (Ürün kodu: LB 261 05, Katolok no:02-97-91) ticari bir direkt immüno floresan kiti sağlandı.



Şekil 16. Kenelerin diseksiyonu:

A:Kenenin zambk içine yerleştirilmesi.

B,C,D: Kitinimsi tabakanın kesilerek çıkarılması.

E,F,G:Abdomenin ortaya çıkarılarak bağırsaklarının alınması.

H: Barsakların immünofloresans lamın üzerine yerleştirilmesi

(136)

RİSK VE KONTROL GRUBUNDA LYME SEROPOZİTİFLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Yöremizde yaşayan insanlarda seropozitifliğin araştırılması amacı ile Temmuz-2001 ile Ocak-2002 tarihleri arasında risk grubu olarak 270 kişiden, kontrol grubu olarak ise 135 kişiden kan örneği alındı.

Risk grubu olarak yine kene toplanan köylerde yaşayan çoban, hayvan bakıcısı ve süt sağımı yapan kişiler gibi hayvancılıkla direkt teması olanlar seçildi.

Kontrol grubu olarak, Sivas'ta ikamet eden, hayatlarının hiçbir dönemlerinde hayvancılıkla ve kırsal kesimle ilgisi olmayan rastgele seçilmiş gönüllülerden kan örneği alındı. Kontrol grubunun seçiminde aynı zamanda yaş ve cinsiyet dağılımının risk grubu ile uyumlu olmasına özen gösterildi

Kan alma işlemi sırasında kan alınan kişilere çeşitli sorulardan oluşan bir anket uygulandı. Bu anket formunun örneği ek-1'de verilmiştir.

Risk ve kontrol gruplarından elde edilen kan örneklerinden, yöntemine göre steril şartlarda serumları ayrıştırılarak deney yapılıncaya kadar -20°C'de derin dondurucuda saklandı.

KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

1. Distile su
1. Mikroplak yıkayıcısı
2. Pipetler
3. Test tüpleri
4. Mikroplak okuyucu
6. B. burgdorferi ELISA Kiti

ELISA Deneyinin Çalışma İlkesi

Risk ve kontrol grubu serumlarında B. burgdorferi'ye karşı antikorların varlığını araştırmak amacıyla GenBio firmasının ürettiği ImmunoWELL marka Borrelia (lyme) Test (ürün kodu:3110) isimli ticari ELISA kiti kullanılmıştır.

Bu kitte antijen olarak saflaştırılmış *B. burgdorferi* hücre lizatı ve rekombinant 39 kilodalton (p39) proteini kullanılmıştır. Bu antijen sayesinde herhangi bir *B. burgdorferi* antijenine (41 kDa, OspA, OspB, vb) karşı serumda bulunabilecek antikorların saptanılması mümkün olabilmektedir. Bu kitte bulunan p39 antijeni, *B. burgdorferi* için özgül bir antijen olup, diğer bazı antijenler gibi çapraz reaksiyonlara neden olmazlar.

ImmunoWELL Borrelia (lyme) Test, serumda bulunan *B. burgdorferi*'ye karşı oluşan antikorların tayinini sağlayan bir mikro ELISA tekniğidir. Bu testte kullanılan rekombinat p39 antijeni (r-p39) *E. coli* üzerinde klonlanarak üretilmiştir. Bu yüzden *E. coli* proteinlerine karşı oluşmuş serumdaki nonspesifik reaksiyonların önlenmesi amacıyla, incelenecek serum *E. coli* proteinlerini içeren bloke edici bir çözelti ile absorbe edilmektedir. Bloke edilen serum, antijen kaplı mikro plaklara konularak antijene uygun antikor varsa birleşmeleri için bir süre beklenir. Yıkılarak, bağlanmamış antikorların uzaklaştırılmasından sonra at turpu peroksidaz işaretli anti-insan antikorları, bağlı antikorlarla reaksiyona sokulur. Bağlı peroksidaz, 2-2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulfanote] (ABTS) kromojen substratı ile renk meydana getirerek reaksiyona girer. Son olarak substrat reaksiyonu durdurulur ve oluşan renk 405 nm'de bir mikropalak spektrofotometresi ile okunur.

Kit İçeriğinde Bulunan Reaktifler

1. Reaksiyon kuyucukları: *B. burgdorferi sensu stricto* (strain B 31) ekstratı ve p39 rekombinat proteini ile kaplıdır.
2. Serum sulandırıcı: 0,001 M fosfat buffer solüsyonu (PBS, pH 6,2-7,6) ve %1 NaN₃ ihtiva eden taşıyıcı proteinden oluşur.
3. Kalibratör: Serum sulandırıcı içinde 1/20 titrede anti *B. burgdorferi* antikorlu bulunan solüsyondur.
4. Pozitif kontrol: %0,1 NaN₃ ihtiva eden insan anti-*B. burgdorferi* serumudur.
5. Negatif kontrol: %0,1 NaN₃ ihtiva eden ve reaktivitesi olmayan insan serumudur.
6. Borrelia blocker: Taşıyıcı protein ve %1 NaN₃ ihtiva eden 0,01 M PBS (pH 6,2-7,6) içindeki *E. coli* proteinlerinden oluşur.
7. Konsantre yıkama tamponu: 20 defa yoğunlaştırılmış 0,001 M PBS (pH 6,2-7,6) ve %0,05 Tween ihtiva eden solüsyondur.

8. Konjugat: İçinde peroksidaz işaretli keçi anti-insan antikorları (IgG, IgM, IgA) ve koruyucu olarak taşıyıcı protein bulunduran PBS solüsyonudur.
9. Substrat tamponu: 0,1 M Sodyum Sitrat (pH 4,4-4,6) ve %0,01 hidrojen peroksitten oluşur.
10. Substrat konsantre: İçinde %1,75 2-2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulfanote] (ABTS) bulunan 0,1 M Sodyum Sitrat (pH 4,4-4,6) çözeltisidir.
11. Stop solüsyonu: 0,25 M Oksalik asittir.
12. Konsantre yıkama solüsyonu: 20 defa yoğunlaştırılmış tamponlu çözelti.

Çözeltilerin Hazırlanması:

1. Yıkama solüsyonunun hazırlanışı :Konsantre(20x) yıkama solüsyonu şişesi (50ml) bir litre distile su içine ilave etmek suretiyle hazırlandı. Bu işlem sonunda 20 kez sulandırılmış oldu. Bu çözelti 2-8°C'de saklandı. Kit içeriğinin buzdolabında saklanması sırasında kristalleşme görülen konsantre yıkama solüsyonları 37°C su banyosunda arasına çalkalayarak tutulma suretiyle kristalleşmeler eritildikten sonra sulandırıldı.
2. Renk reaktifi: Her 8 kuyucuktan oluşan bir strip için 1 ml substrat sulandırıcısına bir damla yoğunlaştırılmış substrat eklenerek gereksinime göre hazırlandı. Bu çözelti kullanılmadan hemen önce hazırlanarak bekletilmeden kullanıldı. Arta kalan çözeltiler ise tekrar kullanılmayacağı için atıldı.

DENEYİN YAPILIŞI

1. Sulandırılmış yıkama solüsyonu dahil olmak üzere bütün kit içeriği çalışılmadan önce oda sıcaklığına getirildi.
2. Her çalışma için bir blank (kör), 2 kalibratör, 2 pozitif ve 2 negatif kontrol kullanıldı
3. Her bir kontrol ve serum örneği için temiz bir serolojik tüp alınarak içerisine 200µl serum sulandırıcı konuldu. Daha sonra her bir kontrolden ve serum örneğinden 10µl alınarak bu tüplere aktarıldı. Böylece 1:20 sulandırım yapılmış oldu. Kalibratörler önceden 1:20 oranında sulandırılmış olduğundan tekrar sulandırılmadı. Bu işlem sonunda tüm tüpler iyice çalkalandı.
4. Her bir hasta serumu ve kontroller için ayrı tüpler alınarak içerisine 200µl Borrelia blocker solüsyonu dağıtıldı. Sulandırılan hasta serumları ve

- kontrollerden bu tüplere 10µl aktarıldı. Kalibratörden ise 20µl alınarak 400µl *Borrelia blocker* içeren tüpe konuldu. Tüm tüpler kuvvetlice çalkalandı
5. Blank(kör), kalibratör, kontroller ve serum örnekleri için mikropalak üzerindeki kuyucukların yerleri belirlenerek üzerlerine numaralar yazıldı.
 6. Blank olarak ayrılmış kuyucuğa 100µl *Borrelia blocker* konuldu.
 7. Bloke edilmiş kalibratör, kontroller ve serum örneklerinden, kendileri için ayrılmış kuyucuklara 100 er µl aktarıldı.
 8. Oda sıcaklığında (22-27°C), 30 dakika (+, - 5 dakika) inkübe edildi
 9. İnkübasyon sonunda plak yıkama cihazına konuldu ve kuyucuklar yıkama solüsyonu ile tamamiyle doldurularak (yaklaşık 300µl) üç kez yıkandı.
 10. Bütün kuyucuklara 100µl Konjugat konuldu.
 11. Oda sıcaklığında (22-27°C) 30 dakika (+, - 5 dakika) inkübe edildi.
 12. Kuyucuklar yıkama solüsyonu ile tekrar 3 kez yıkandı.
 13. Taze renk reaktifi hazırlandı ve her bir kuyucuğa 100µl konuldu.
 14. Oda sıcaklığında (22-27°C'de) 30 dakika inkübe edildi.
 15. Her kuyucuğa 100µl stop solüsyonu konuldu.
 16. ELISA mikropalak okuyucusunda substrat blankı kullanarak ayar yapıldı ve kuyuların optik densitesi 405 nm'de okundu.

Çalışmalar arasındaki farklılıkların etkilerini yok etmek için örneklerin okuma değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplanarak standardize edildi.

$$A_n = A_s / A_c \times A_{Vc}$$

A_n = Serum örneğinin standardize edilmiş aktivitesi (U/ml)

A_s = Serum örneğinin absorbansı

A_c = Kalibratörün test çalışmasında elde edilen ortalama absorbansı

A_{Vc} = Kit içeriğinde verilmiş olan kalibratör değeri (U/ml)

Bu formüle göre çıkan absorbans sonuçları aşağıdaki kriterlere göre değerlendirildi.

- <120 U/ml :.....Negatif:.....B. burgdorferi antikoruna yoktur.
- 120-160 U/ml :.....Şüpheli:.....Test tekrar edilir. Aynı sonuç elde edilirse 'şüpheli' olarak rapor edilir
- >160 :.....Pozitif:.....B. burgdorferi antikorları bulunmuştur.

Değerlendirme sonucunda şüpheli çıkan örnekler tekrar çalışıldı. Son olarak pozitif çıkan serumlar ise çapraz reaksiyon olasılığını en aza indirmek amacıyla RPR testlerine tabi tutuldu. Bu test için Linear Chemical firmasının RPR Carbon Slide test isimli (Kod no:RP-100, LOT:41048) ticari kiti kullanılarak prospektüsüne uygun olarak çalışıldı.

İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel değerlendirmelerde khi-kare, çokgözlü düzenlerde khi-kare ve iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testleri uygulanmıştır

BULGULAR

Çalışmamızda, yöremizde *B. burgdorferi*'nin vektörlerini araştırmak amacıyla sığır, koyun ve keçilerden toplam 10303 kene toplanmıştır. Bu kenelerin konaklarına göre dağılımı tablo 3'de görülmekte olup bunlar arasında *B. burgdorferi*'nin vektörü olan *Ixodes* cinsine ait kenelere rastlanmamıştır.

Tablo 3. Yöremizde toplanan kenelerin cinslerine ve konak hayvanlara göre Dağılımı

KENE CİNSİ	CİNSİYET	KONAK		TOPLAM	%
		SIGIR	KOYUN VE KEÇİ		
Boophilus cinsi	D	5679	303	6249	60,6
	E	259	8		
Rhipicephalus cinsi	D	971	564	2195	21,3
	E	330	330		
Dermacentor cinsi	D	205	346	853	8,3
	E	70	232		
Hyalomma cinsi	D	223	19	512	5
	E	231	39		
Haemaphysalis cinsi	D	163	195	494	4,8
	E	16	120		
GENEL TOPLAM		8147	2156	10303	100

D:Dişi, E:Erkek

Toplam 10303 kenenin 8147(%79,1)'si sığırlardan, 2156(%20,9)'sı da koyun ve keçilerden elde edilmiş olup bu kenelerin 6249(%60,6)'unu *Boophilus*, 2195 (%21,3)'ini *Rhipicephalus*, 853(%8,3)'ünü *Dermacentor*, 512(%5)'sini *Hyalomma* ve 494(%4,8)'ünü *Haemaphysalis* cinsine ait keneler oluşturmaktadır.

Topladığımız 10303 kenenin 8668(%84,1)'ini dişiler, 1635(%15,9)'ini ise erkeklerin oluşturması bakımından dişi keneler erkeklere göre baskın oranlarda bulunmuştur.

Bölgemizde bulunan kene cinslerinin konaklarına göre dağılımında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmüştür ($p<0,05$). Boophilus cinsine ait keneler sığırlardan toplanan kenelerin %72,9'unu, koyunlardan toplananların %14,4'ünü oluşturmaktadır. Rhipicephalus cinsine ait keneler ise koyunlardan toplanan kenelerin %41,5'ini sığırlardan toplananların ise %16'sını oluşturmaktadır. Sonuç olarak sığırlarda Boophilus, koyunlarda ise Rhipicephalus cinsi daha yüksek oranda bulunmuş olup bu farklılıklar istatistiksel olarak da anlamlıdır ($p<0,05$).

Kene toplama işlemi Mayıs-Aralık 2001 tarihleri arasında yapılmış olup, aylara göre kene cinslerinin görülme oranları tablo 4'de verilmiştir. Buna göre bahar ve yaz başlangıcında Rhipicephalus cinsi, yaz ve sonbahar aylarında ise Boophilus cinsi daha yüksek oranlarda bulunmuştur.

Tablo 4. Toplanan kene cinslerinin aylara göre görülme oranları

KENE TÜRÜ	AYLAR							
	%							
	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık
Boophilus cinsi	2,1	30,9	53,9	91,4	73,1	73,8	83,4	100
Rhipicephalus cinsi	80,0	52,2	35,1	0,6	0,5	0	0	0
Dermacentor cinsi	2,6	2,7	6,6	6,2	16,3	19,5	4,5	0
Hyalomma cinsi	9,9	14,0	4,4	1,8	1,1	0,6	0	0
Haemaphysalis cinsi	5,4	0,2	0	0	9	6,1	12,1	0

Toplamış olduğumuz 10303 kene içerisinde B. burgdorferi'nin vektörü olan Ixodes cinsi keneye rastlayamadığımız için vektör kenelerde floresan antikor tekniği ile B. burgdorferi taşıyıcılığı araştırması yapılamamıştır.

Çalışmamızda Sivas yöresinde Lyme seropozitifliğini belirlemek amacıyla risk grubundan 270 kontrol grubundan ise 135 kişi deneye alınmış olup, kan alma işlemi sırasında kendilerine çeşitli sorulardan oluşan bir anket uygulanmıştır. Bu anket sonuçları çeşitli yönlerden değerlendirilerek tablolar halinde verilmiştir.

Çalışmaya alınan risk grubuna ait 270 kişinin 153(%56.7)'ü kadın, 117(%43,3)'si erkek idi. Yaş dağılımı risk grubunda 13-80 arası olup yaş ortalaması 38,2'dir. Toplam 135 kişiden oluşan kontrol grubunun 77(%57)'si kadın, 58(%43)'i erkek idi. Bu grubun yaş dağılımı 12-76 arası olup yaş ortalaması ise 37,9'dur. Risk ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı tablo 5 ve tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 5. Risk grubunu oluşturan kişilerin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

Cinsiyet	YAŞ GRUPLARI											
	11-20		21-30		31-40		41-50		51 + ↑		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Kadın	22	14,4	38	24,8	25	16,3	22	14,4	46	30,1	153	100
Erkek	26	22,2	29	24,8	14	12	25	21,4	23	19,6	117	100
Toplam	48	17,8	67	24,8	39	14,4	47	17,4	69	25,6	270	100

Tablo 6. Kontrol grubunu oluşturan kişilerin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

Cinsiyet	YAŞ GRUPLARI											
	11-20		21-30		31-40		41-50		51 + ↑		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Kadın	10	13	20	26	12	15,6	11	14,3	24	31,1	77	100
Erkek	11	19	16	27,6	7	12	12	20,7	12	20,7	58	100
Toplam	21	15,5	36	26,7	19	14,1	23	17	36	26,7	135	100

Risk grubu kişilerden kan alınırken ankette sorulan kene tarafından ısırılıp ısırılmadıkları ve EM benzeri lezyonu geçirip geçirmediikleri sorularına verilen cevaplar değerlendirildiğinde kırsal kesimde oturan kişilerin 81(%30)'inin kene tarafından ısırılmış olduğu, 36(%13,3)sının ise EM benzeri bir lezyon geçirmiş olduğu görülmektedir. Ayrıca EM benzeri lezyon geçiren toplam 36 kişinin 35(%97,2)'sinin kene tarafından ısırıldığı görülmüştür. Kene tarafından ısırılma ve EM benzeri lezyon geçirenlerin yaş gruplarına göre dağılımı tablo 7'de görülmektedir. Kene ısırığı ve EM benzeri lezyonlarının yaş gruplarına göre dağılımları incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 7. Risk grubunda kene tarafından ısırılma ve EM benzeri lezyon geçirme olgularının yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş grupları	Sayı	Kene ısırığı öyküsü Var		EM benzeri lezyon öyküsü var	
		Sayı	%	Sayı	%
11-20	48	14	29,2	4	8,3
21-30	67	21	31,3	9	13,4
31-40	39	10	26,6	5	12,8
41-50	47	16	34,1	8	17,1
51 + ↑	69	20	28,9	10	14,4
TOPLAM	270	81	30	36	13,3

Kene tarafından ısırılma ve EM benzeri lezyon görünüm öykülerinin cinsiyete göre dağılımı tablo 8'de verilmiştir. Buna göre risk grubuna ait kadınların 41(%26,8)'i, erkeklerin 40(%34,2)'i kene tarafından ısırılmış olup, kadınların 17(%11,1)'si, erkeklerin ise 20(%17,1)'sinde EM benzeri lezyon görülmüştür. Kene ısırığı ve EM benzeri lezyon geçirme öykülerinin cinsiyete göre dağılımları yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 8. Risk grubunda kene ısırığı ve EM öyküsünün cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	Sayı	Kene Isırığı öyküsü var		EM benzeri lezyon öyküsü var	
		Sayı	%	Sayı	%
Kadın	153	41	26,8	17	11,1
Erkek	117	40	34,2	20	17,1
Toplam	270	81	30	37	13,8

Risk grubunu oluşturan kişiler çobanlar ve hayvancılıkla uğraşanlar olmak üzere iki farklı meslek grubunu oluşturmaktadırlar. Bu grupların kene ısırığı ve EM benzeri lezyon geçirme öykülerinin dağılımı tablo 9’da verilmiştir. Buna göre çobanların 23(%51,1)’ü, hayvancılıkla uğraşanların ise 58(%25,7)’i kene tarafından ısırıldıklarını ifade etmişlerdir. Çobanlarda kene ısırılma öyküsü hayvancılıkla uğraşanlara göre daha yüksek bulunmuş olup, bu farklılık istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur($p<0,05$). EM benzeri lezyon geçirme öyküsü yönünden anket sonuçları incelendiğinde çobanların 13(%28,9)’ü, hayvancılıkla uğraşanların ise 24(%10,7)’ü bu lezyonu geçirdiklerini söylemişlerdir. EM benzeri lezyon geçirme sıklığı çobanlarda daha yüksek olup bu farklılık istatistiksel olarak da anlamlıdır ($p<0,05$).

Tablo 9. Risk grubunda kene ısırığı ve EM lezyonu öyküsünün mesleklere göre dağılımı

Meslek grupları	Sayı	Kene Isırığı öyküsü var		EM benzeri lezyon öyküsü var	
		Sayı	%	Sayı	%
Çoban	45	23	51,1	13	28,9
Hayvancılıkla uğraşanlar	225	58	25,7	24	10,7
Toplam	270	81	30	37	13,7

Yöremizde *Borrelia burgdorferi*'ye karşı antikor pozitifliğini saptamak için yaptığımız deneyde risk grubuna ait 270 serum örneğinin birinde(%0,37) pozitiflik ve birinde(%0,37) de şüpheli pozitiflik görülmüştür. Kontrol grubuna ait 135 serum örneğinin ise birinde(%0,74) pozitiflik gözlenirken ikisinde(%1,48) şüpheli pozitiflik saptanmıştır. Bu serumlar, çapraz reaksiyona bağlı olarak seropozitiflik göstereceği düşünülerek Rapid Plazma Reagin (RPR) deneyine tabi tutulmuş olup, hepsinin de RPR pozitifliği verdiği bulunmuştur. Ayrıca kontrol amacıyla Lyme seropozitifliği yönünden negatif bulunan 10 serum örneği de RPR deneyine alınmış olup, yapılan deneyler sonucunda yalnızca bir serumda RPR pozitifliğine rastlanılmıştır.



TARTIŞMA

Lyme hastalığı, B. burgdorferi tarafından oluşturulan bir hastalık olup, yayılmasında Ixodes cinsine ait keneler vektör olarak rol oynarlar. Bu nedenle B. burgdorferi'nin bulaşı ve dolayısı ile Lyme hastalığının oluşması için kene ile doğrudan temas gereklidir. O halde bir yöredeki Lyme insidansını başta Ixodes cinsi keneler olmak üzere çeşitli unsurlar belirlemektedir. Hastalığın epidemiyolojisinde bu unsurlar birbirleriyle etkileşim içindedir ve bu etkileşim o bölgenin Lyme hastalığı açısından risk düzeyini belirlemektedir. Bu unsurları şu şekilde sıralayabiliriz.

1. Bir bölgede Ixodes cinsi kenelerin prevalansı.
2. Ixodes cinsi kenelerin bulunduğu uygun konakların o bölgedeki durumu.
3. B. burgdorferi'nin o bölgedeki rezervuarlarının durumu.
4. Vektör kenelerdeki B. burgdorferi prevalansı.
5. İklim ve coğrafik yapı.
6. İnsan-kene ilişkisi.
7. İnsan-kene taşıyan hayvan ilişkisi
8. İnsanlarda Lyme seroprevalansı.

İster araziden isterse hayvanlar üzerinden toplansın, Ixodes türlerinin bir bölgedeki prevalans düzeyi ile o bölge halkındaki Lyme hastalığının seroprevalans düzeyi doğru orantılıdır. Örneğin Robertson ve arkadaşları İrlanda'da kenelerin bol bulunduğu bölgelerde %8,7 Lyme seropozitifliği saptarken, kenelerin ve rezervuarların az bulunduğu bölgelerde Lyme seropozitifliği saptayamamışlardır (137). Avusturya'da Prier ve arkadaşları sağlıklı kan verici kişilerde kenelerin bol bulunduğu yerlerde %7,7 Lyme seropozitifliği saptarken, az bulunduğu yerlerde %3,8 seropozitiflik bulmuşlardır(138). Bu konuda Staffort ve ark. kapsamlı bir çalışma yapmışlardır. Bu araştırmacılar 1989-1996 yılları arasında Eski Lyme (Old Lyme), Lyme, Doğu Haddam ve Connecticut'ta bulunan 12 şehirdeki ormanlık ve çayır arazilerinden I. scapularis türüne ait 3866 kene toplamışlardır. Bu araştırmacıların hektar başına topladıkları keneler en sık olarak 1996 yılında, en az olarak ta 1993 yılında görülmüştür (139). CDC'nin raporuna göre ABD'de ki toplam Lyme vakası sayısı 1996 yılında 16455, 1993 yılında ise 8257'dir (3).

Yurdumuzda da benzer çalışmalar yapılmıştır. Tuncer ve ark. Antalya'nın kırsal kesimlerindeki keçi ve koyunlardan topladıkları 153 kenenin 123(%80,4)'ünü *I. ricinus*, 24(%15,6)'ünü *H. anatolicum* ve 3(%2)'ünü de *R. bursa* olarak tiplendirmişlerdir (140). Yine aynı yörede Mutlu ve ark. hayvancılıkla uğraşan 89 kişinin 32(%35,9)'sinde *B. burgdorferi*'ye karşı antikor pozitifliği saptamışlardır (34). Yine, Antalya'ya coğrafik olarak yakın bir şehir olan Denizli'de Çelik ve ark. 1998 yılında yaptığı çalışmalarda bazı dağ köylerinde yaşayan insanlardan topladıkları 95 serumun 16(%16,7)'sında *B. burgdorferi* antikorları saptamışlardır (141).

Güney, İstanbul Belgrad Ormanları'nda sığır ve köpeklerden topladığı 466 kenenin 179(%38,4)'unu *I. ricinus*, 182(%39,1)'sini *R. sanguineus*, 105(%22,5)'ini *R. bursa* olarak tiplendirmiştir. Aynı araştırmacı araziden topladığı 118 kenenin ise 107(%90,6)'sini *I. ricinus*, 7(%5,9)'sini *R. sanguineus* ve 4(%3,4)'ünü de *R. bursa* olarak tiplendirmiştir (142). İstanbul'a coğrafik olarak yakın olan Bilecik'te ise 1993 yılında Göral ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 106 köylünün 38(%35,8)'inde Lyme seropozitifliği bulunmuştur (143).

Birinci, 1995 yılında yaptığı çalışmasında Artvin, Giresun ve Trabzon illerine bağlı bazı köylerindeki evcil hayvanlardan topladığı toplam 200 adet keneden 48(%24)'inin *I. ricinus* ve 152(%76)'sinin de *B. annulatus* olduğunu belirtmiştir (144). Aynı yörede Aydın ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, 1996 yılında Trabzon'un dağlık ve kıyı kesimde oturan 90 kişinin 6(%6,6)'sında Lyme seropozitifliği bulunmuşlardır (145).

Bizim çalışmamızda ise sığır, koyun ve keçilerden topladığımız toplam 10303 kenenin 6249(%60)'u *Boophilus*, 2195(%21,3)'i *Rhipicephalus*, 853(%8,3)'ü *Dermacentor*, 512(%5)'si *Hyalomma* ve 494(%4,8)'ü *Haemaphysalis* cinslerine ait olup *Ixodes* cinsi keneye hiç rastlanmamıştır. Aynı zamanda yöremizdeki Lyme seropozitifliğini araştırmak için yaptığımız ELISA deneyinde risk grubuna ait 270 serum örneğinin 1(%0,37)'inde ve kontrol grubuna ait 135 serum örneğinin de 1(%0,74)'inde Lyme seropozitifliği bulunmuştur. Yine aynı şekilde risk grubuna ait 1(%0,34)'i ve kontrol grubuna ait 2(%1,48) serumda şüpheli Lyme seropozitifliğine rastlanmıştır. *Borrelia burgdorferi* ile treponemal hastalıklar en sık olmak üzere diğer birçok spiroket, bakteri ve protozoon hastalıklarına bağlı çapraz reaksiyonlar olabilmektedir (19,82,100). Lyme ELISA gibi birçok serolojik deneylerde bu çapraz

reaksiyonlar görülebilmeye karşın RPR, WDRL ve ANA testleri Lyme hastalarında genellikle negatiftir (85). Bu nedenle rutin uygulamalarda Lyme tanısı konulmasında çapraz reaksiyon olasılığını en aza indirmek için bu testler sıklıkla kullanılmaktadır. Biz de çapraz reaksiyon olasılığını en aza indirmek için Lyme seropozitifliği ve şüpheli Lyme seropozitifliği veren serumları RPR deneyine tabi tuttuk. Hem seropozitiflik hemde şüpheli seropozitiflik veren bütün serumlar RPR deneyinde de pozitif sonuç verdiği için, bunların büyük bir olasılıkla yalancı Lyme seropozitifliği olduğuna karar verdik. Bu serumlar yalancı pozitif olarak kabul edilmese dahi risk grubunda %0,37, kontrol grubunda ise %0,74 gibi çok düşük düzeylerde seropozitiflik bulunacaktı.

Bütün bu çalışmalar gösteriyor ki, vektör keneler ile insanlardaki Lyme seropozitifliği arasında tam bir ilişki vardır. Bu ilişkisi açısından bizim bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar da birbirini desteklemektedir. Yöremizde *I. ricinus*'un bulunmaması yöremizde Lyme seropozitifliğinin bulunmamasını desteklediği gibi, şüpheli seropozitifliğe bağlanamayacak gerçek bir Lyme seropozitifliğinin bulunmaması da yöremizde *I. ricinus*'ların ya hiç olmadığını ya da olsa bile çok düşük düzeylerde olabileceği görüşünü desteklemektedir. Bu veriler doğrultusunda yöremizin Lyme hastalığı yönünden riskli bir yer olmadığını söyleyebiliriz.

B. burgdorferi yabani ve evcil birçok hayvanda Lyme hastalığına neden olabilmektedir(146). *Ixodes* cinsi kenelerin bir bölgedeki prevalansı ile hayvanlardaki Lyme seroprevalansının da benzerlik göstermesi beklenir. Bu nedenle bir bölgedeki hayvanlar ve insanlardaki seroprevalansın da birbiriyle uyumlu olması doğaldır. Yapılan çeşitli araştırmaların sonuçları da bu fikri doğrular niteliktedir. Magnarelli ve ark, Connecticut'ta irili ufaklı 656 hayvanın 433(%66)'ünde *I. scapularis*'e rastlanmış olup bu yöredeki bu hayvanlardan elde edilen 961 serumun 197(%20,5)'sinde antikor pozitifliği saptamışlardır (41). Connecticut'ta insanlarda yıllık Lyme hastalığı yüzbinde 100 kadardır ve dünyada en riskli bölgelerdendir (3). Gill ve ark, ABD'nin Minnesota eyaletinde *I. scapularis* kenelerinin bol bulunduğu bölgelerdeki 317 beyaz kuyruklu geyiğin 254(%80)'ünde, *I. scapularis*'in az bulunduğu bölgelerde ise 150 geyiğin 8(%5)'inde seropozitiflik bulmuşlardır (53). Minnesota'da Lyme olgularının insanlardaki yıllık insidansı yüzbinde 4,5'dir. Bu rakam da önemli bir risk oluşturmaktadır ve Minnesota ABD'de Lyme hastalığı riski yönünden 10'uncu sırada bulunmaktadır (3). Fridriksdottir ve ark, Norveç'teki

değişik şehirlerden elde edilen 327 koyun serumunun %10'da Lyme antikor pozitifliği bulunmuşlar ve *I. ricinus*'un bol bulunduğu yerlerde hayvanlardaki pozitiflik oranının arttığını bildirmişlerdir (147).

Yurdumuzda İzgür ve ark, 1998 yılında, Sakarya'daki 51 sığırın 9((%17,6)'unda, Samsun'da 30 sığırın 6(%20)'sında *B. burgdorferi*'ye karşı antikor seropozitifliği bulunmuşlardır. Aynı araştırmacılar Tokat'ta ise 30 sığırın hiçbirinde seropozitiflik saptayamamışlardır (148).

İzgür ve ark'nın *Ixodes ricinus*'un bulunduğu Karadeniz bölgesindeki sığırlarda belirli oranlarda seropozitiflik bulunması ve Tokat'taki sığırlarda hiç seropozitiflik bulunmaması bizim bulgularımızı destekler niteliktedir. Tokat ve Sivas birbirlerine çok yakın şehirlerdir ve Sivas'ta *I. ricinus* bulunmuyorsa Tokat'ta da bulunmaması muhtemeldir. Bu nedenle bu yöredeki hayvanlarda seropozitiflik saptanmamış olabilir. İzgür ve bizim bulgularımız yöremizde bulunan hayvanlarda da *B. burgdorferi*'ye karşı antikor seropozitifliği'nin olmadığını, olsa bile çok düşük düzeylerde olabileceğini düşündürmektedir.

Bizim çalışmamız ve diğer araştırmacıların çalışması, Türkiye'de sahil ve sahile yakın kesimlerin *I. ricinus* yönünden riskli bölgeler olduğunu, sahilden iç kesimlere doğru girildikçe ise *I. ricinus*la karşılaşma riskinde azalma olduğunu göstermektedir. Lyme hastalığı vektör kaynaklı bir hastalık olduğuna göre sahil şeridinden iç kesimlere doğru hayvan ve insanlardaki Lyme seropozitifliğinde azalma görülmesi beklenir. Bizim çalışmamızda hem risk ve kontrol gruplarında çapraz reaksiyon olasılığına bağlanamayacak gerçek bir seropozitifliğin bulunmaması, hem de 10303 kene içinde *Ixodes ricinus*'a rastlayamayışımız bu varsayımı doğrular niteliktedir.

Kene cinslerinin dağılımını ortaya koyan çalışmalar incelendiğinde şu çarpıcı durum karşımıza çıkmaktadır. Eğer bir yörede *Ixodes* cinsi kenelere rastlanıyorsa, bu kenelerin toplam tüm keneler içerisindeki oranı %20 ve yukarısında bulunmaktadır. Başka bir deyişle, bir bölgede *Dermacentor*, *Haemophysalis* gibi diğer sert kene cinslerine %1-100 gibi oranlarda rastlamak mümkün iken, *Ixodes* cinsi kenelere genellikle %20-100 oranlarında rastlanılmaktadır. Bu konuda yapılan çalışmalarda Magnarelli ve ark, Connecticut'ta küçük ve büyük baş 656 hayvanın 433(%66)'ünde *I. scapularis*'e rastlamışlardır (41). Peter ve ark. İsviçre'de Valais şehri civarındaki araziden 1987 yılında toplam 825 kene toplamışlardır. Bu kenelerin

727(%88,1)'sinin *I. ricinus*, 72(%8,7)'sinin *D. marginatus* ve 26(%3,2)'sının da *Haemaphysalis punctata* olduğunu bildirmişlerdir (149). Wan ve ark. Çin'de 20 farklı şehirden 1987-1997 yılları arasında topladıkları 17.000 kenenin %80'den fazlasının *I. persulcatus* olduğunu belirtmişleridir (40). Frusteri ve ark. 1993 yılında İtalyanın Roma şehri civarlarındaki arazilerden topladıkları 2.494 kenenin 2392(%95,9)'sini *I. ricinus*, 55(%2,2)'sini *H. inermis*, 45(%1,8)'ini *R. bursa* ve 2(%0,1)'sini *D. marginatus* oluşturmuştur (36). Daha önce de belirtildiği gibi, Türkiye'de yapılan çalışmalardan Tuncer ve ark. Antalyada topladıkları kenelerin %80,4'ünün, Güney, İstanbul Belgrad Ormanlarından topladığı kenelerin %38'inin ve Birinci karadeniz bölgesinden topladığı kenelerin %52'sinin *Ixodes ricinus* olduğunu belirtmişlerdir (140,142,144). Taşçı'nın, 1987 ve 1988 yıllarında Van ilinde sığır ve koyunlardan topladığı keneler içerisinde hiç *I. ricinus* rastlamadığı görülmüştür (150). Yine Sayın ve Dumanlı, Elazığ bölgesinde yaptıkları çalışmada da sığır, koyun ve keçilerde *I. ricinus*'a rastlamamışlardır (151). Yani bir yörede kenelerin dağılımı incelendiğinde genellikle ya hiç *Ixodes ricinus* rastlanmamakta ya da %20'nin üzerinde rastlanılmaktadır.

Yukarıdaki çalışmalarda görüldüğü gibi *Ixodes* cinsi kenelerin yüksek oranlarda bulunması, bu kenelerin diğer cinslere göre daha saldırgan oluşuna bağlanabilir (29,30,152). Bu saldırganlık özelliklerinden dolayı insanları da ısırılmaktadırlar. Bu konuda ilginç bir çalışma Falko ve Fish tarafından yapılmıştır. Bu araştırmacılar 1985 yılında yaptıkları çalışmalarında, New York ve Armonk bölgesindeki kene ısırığı şikayeti ile gelen insanlar üzerinden topladıkları 126 kenenin 96(%76,2)'sini *I. scapularis*, 26(%20,6)'sini *D. variabilis* ve 2(%1,6)'sini *A. americanum* olarak tiplendirmişlerdir (153).

Buldukları yörelerde toplam keneler içerisinde yüksek oranlarda temsil edilen *Ixodes* cinsi kenelere topladığımız 10303 kene içerisinde rastlayamayışımız, yöremizde *Ixodes* cinsi kenelerin bulunmadığını düşündürmektedir.

Bir yörede bulunan *Ixodes* cinsi kenelerdeki *B. burgdorferi* prevalansı, o bölgedeki lyme seroprevalansını etkileyen faktörlerdendir. Kenelerdeki *B. burgdorferi* prevalansı yöreden yöreye değişebilir. Bu değişimde en önemli faktör rezervuar hayvanların ve *Ixodes* cinslerinin o bölgedeki dağılımıdır. Diğer bir etmen ise vektör kenelerin konakları ile rezervuar hayvanların aynı hayvan grubunu oluşturmasıdır.

Eğer bir bölgede *B. burgdorferi* için yeterli rezervuar yoksa o bölgedeki *Ixodes* cinslerinde bulunan *B. burgdorferi*'nin prevalansında da düşüş gözlenir. Stafford ve ark. ormanlık araziden topladıkları kenelerin %13,1'de otlak arazilerden topladıklarının ise %4,7'sinde *B. burgdorferi* taşıyıcılığı saptamışlardır (139). Bunun nedeni ormanlık alanlarda *B. burgdorferi*'nin rezervuarlarının daha fazla bulunmasıdır. *Ixodes* cinsi kenelerin yaklaşık %95 ile %100'ü *B. burgdorferi*'yi rezervuar konaklardan almaktadır. Buna kanıt olarak *Ixodes* cinsi kenelerin *B. burgdorferi*'yi düşük oranlarda transovaryal olarak larvalarına aktardığını gösterebiliriz. Magnarelli ve Anderson, *Ixodes scapularis*'in larvalarına transovaryal olarak *B. burgdorferi*'yi ne oranda aktardığını gösteren bir çalışma yapmışlardır. Bu araştırmacılar Connecticut ve New York bölgesinden topladıkları 43 keneden elde ettikleri 2297 larvayı *B. burgdorferi* yönünden incelemişler ve sadece 44(%1,9)'ünden spiroket izole etmişlerdir (57). Oysa bu bölgelerdeki *I. scapularis*'in *B. burgdorferi* taşıma oranı %11-64 arasında değişmektedir (43,44,57). Bu araştırma sonuçları, kenelerin spiroketi büyük oranlarda rezervuarlarından kazandığını göstermektedir.

B. burgdorferi'nin vektör kenedeki prevalansında rezervuar hayvanların önemli olduğunu araziden toplanan larva, nimf ve erişkin aç kenelerdeki *B. burgdorferi* taşıyıcılığındaki farklılıklara bakarak da gözleyebiliriz. Örneğin Zhioua ve ark. İsviçrede araziden topladıkları *I. ricinus*'un larvalarının %3,1'inde, nimflerinin %12,8'inde ve erişkinlerinin %14,5'inde *B. burgdorferi* saptadıklarını bildirmişlerdir (59). Başka bir çalışmada Fingerle ve ark ise Almanya'da araziden topladıkları *I. ricinus* larvalarının %1,2'sinde, nimflerinin %9,3'ünde ve erişkinlerinin %19,7'sinde *B. burgdorferi* bulmuşlardır (58). Larva, nimf ve erişkinlerde bulunan *B. burgdorferi* infeksiyonundaki bu farklılık rezervuarların önemini ortaya koymaktadır. Bu farklılığa neden olan etmenlerden birisi larvaların nimflere ve erişkinlere, nimflerin ise erişkinlere göre daha az oranlarda rezervuar hayvanlarla temas kurmalarıdır. Bunun sonucu olarak da *B. burgdorferi*'yi taşıma oranı larvalarda en az, erişkinlerde ise en fazladır.

Kenelerdeki *B. burgdorferi* prevalansı ile kene cinsiyeti arasındaki ilişkiyi araştıran farklı araştırmacılar farklı sonuçlar bulmuşlardır. Örneğin Sinski ve ark. *I. ricinus* erkeklerinde %23, dişilerinde %22,2 *B. burgdorferi* taşıyıcılığı bulmuşlardır (38). Fingerle ve ark. *I. ricinus* erkeklerinin %20,5'inde, dişilerinin %19'unda *B.*

burgdorferi saptamışlardır (58). Başka bir çalışmada Strle ve ark. *I. ricinus*'ların erkeklerinin %22, dişilerinin %35'inde *B. burgdorferi* bulduklarını belirtmişlerdir (154). Walker ve ark. ise *I. scapularis* dişisinin %31,8, erkeğinin ise %30,4 oranında *B. burgdorferi* taşıdığıını belirtmişlerdir (155).

Bizim çalışmamızda topladığımız 10303 kenenin 8668(%84)'ini dişi, 1635(%16)'ini erkek keneler oluşturmakta olup, *I. ricinus*'a rastlamadığımızdan erkek ve dişi arasındaki *B. burgdorferi* taşıyıcılığı hakkında bir sonuca da ulaşamadık. Bu çalışmaların da gösterdiği gibi erkek ve dişi keneler arasında *B. burgdorferi* taşıyıcılığı konusunda pek fark bulunmamaktadır. Oysa dişi keneler erkeklere göre daha büyüktürler ve daha fazla kan emmektedirler. Bizim dişi keneleri daha fazla oranda bulmamızın da en büyük sebebi budur. Dişi keneler daha fazla kan emdikleri için rezervuar hayvanlardan *B. burgdorferi* ile karşılaşma olasılıklarının da artması gerekir. Dişi ve erkek kenelerdeki taşıyıcılık oranlarının birbirlerine neden bu kadar yakın olduğu sorusunun cevaplanması için daha ileri epidemiyolojik araştırmaların yapılması gerektiğine inanıyoruz.

Bir bölgedeki *Ixodes cinsi* kenelerdeki *B. burgdorferi* prevalansının durumunu belirleyen diğer bir etmen ise o bölgedeki *Ixodes cinsi* kenelerin ne oranda bulunduğudur. Stafford ve ark. yaptıkları çalışmada *I. scapularis*'in bol bulunduğu 1996 yılında bu kenelerde %24,4 oranında *B. burgdorferi* taşıyıcılığı saptarken, az bulunduğu 1993 yılında %8,6 taşıyıcılık saptamışlardır (139). Eğer bir bölgede *Ixodes cinsi* fazla miktarda ise rezervuar konaklar fazla miktarlarda *Ixodes türleri* ile enfestasyona uğrayacak ve dolayısı ile *B. burgdorferi* taşıyıcısı rezervuar sayısı da artacaktır. Bu sayede *Ixodes cinsi* kenelerin bir sonraki evrim dönemlerinde infekte rezervuar konaklarla karşılaşma olasılığı da artacaktır.

Ixodes cinsi kenelerin konaklarının ve *B. burgdorferi*'nin rezervuarlarının aynı hayvan grubunu oluşturması da bu kenelerdeki *B. burgdorferi* taşıyıcılığını etkileyen etmenlerdendir. Örneğin Batı Amerikada dağılım gösteren *I. pacificus*'un tercihli konakları küçük sürüngenlerdir. Bu sürüngenler *B. burgdorferi*'nin rezervuarı değildir. Bu nedenle *I. pacificus*'un *B. burgdorferi* ile infeksiyon oranı %1-1,5 gibi çok düşük rakamlardadır (46).

Bu veriler, bir bölgede *B. burgdorferi*'nin vektörünün bolluğu, vektörlerindeki *B. burgdorferi* prevalansı ve *B. burgdorferi*'nin rezervuarlarının birbirleri ile etkileşim içinde olduğunu göstermektedir. Bu etkileşim artı yönde

geliştikçe o yöre insanında Lyme riski de artar, eksi yönde geliştikçe ise azalır. Bu unsurlardan vektör veya rezervuarlardan birinin olmaması durumunda ise etkileşim olmayacağı için Lyme riski de olmaz. Biz bu çalışmamızda hiç *Ixodes cinsi* keneye rastlayamadığımız için *B. burgdorferi*'nin vektörlerindeki prevalansını da araştıramadık. Bunun yanısıra risk ve kontrol grubundan oluşan 405 kişiden hiçbirinde kesin antikor pozitifliği saptayamadık. Bu çalışmamız doğrultusunda yöremizde Lyme riski ya yoktur ya da yok denecek kadar azdır diyebiliriz.

Bir bölgede Lyme riski yoksa, o bölgede *B. burgdorferi*'nin vektör-konak ikilisinden birinin olmadığı düşünlür. Sivas yöresinde irili ufaklı kemirici, vahşi ve evcil hayvanlar bulunmaktadır. O halde yöremiz insanında Lyme seropozitifliği bulamayışımızın sebebi, yöremizde *B. burgdorferi*'nin vektörünün yokluğundan kaynaklanmaktadır. Çalışmamızda zaten bunu doğrulamıştır.

Bir bölgede *Ixodes cinsi* kenelerin bulunup bulunmamasını, o bölgenin coğrafik yapısı ve iklim koşulları da etkilemektedir. Bir bölgenin deniz seviyesinden yüksekliği bu özelliklerden biri olabilir. Örneğin Aeschlimann ve ark., İsviçrede *I. ricinus*'la ilgili son derece önemli epidemiyolojik bir çalışma yapmışlardır. Bu araştırmacılar deniz seviyesinden 600 metre yüksekliklere kadar *I. ricinus*'un en bol, 1000-1500 metre yüksekliklerde nadir bulunduğunu ve 1500 metreden daha fazla yüksekliklerde ise bulunmadığını belirtmişlerdir (156). Bizim yöremiz de deniz seviyesinden ortalama 1300 metre yükseklikte bulunmaktadır. Yöremizde *Ixodes cinsi* kenelere rastlayamayışımızın nedenlerinden birisi bu rakım yüksekliği olabilir.

Ixodes cinsi kenelerin yaşam siklusunu etkileyen yükseklik dışında başka etmenler de vardır. Bu etmenlerden yağış miktarı ve sıcaklık önemlidir. Fingerle ve ark. Almanya'nın 8 şehrinin kırsal alanlarından 1985-1986 yılları arasında toplam 2802 *Ixodes ricinus* toplamışlar ve bu şehirlerde bulunan keneleri ve şehirlerin iklim durumunun tam bir dökümanını çıkartmışlardır. Bu araştırmacıların verilerine göre *I. ricinus*'ların yoğunluk olarak en fazla bulunduğu yer München'dir. Bu şehirdeki yıllık yağış miktarı ve yıllık izotermal sıcaklık diğerlerinden fazladır (58). Bu sonuca göre bir bölgedeki yıllık yağış miktarı ve o bölgenin sıcaklığı arttıkça o bölgedeki kene yoğunluğu da artmaktadır. Bizim bölgemiz sahil ve sahile yakın bölgelere göre hem daha az yağış almakta hem de daha soğuk bulunmaktadır. Yöremiz hayvanlarında *Ixodes ricinus*'a rastlayamayışımızın önemli nedenlerinden birisi de

bu olabilir. Nitekim, yapılan çalışmalarda Karadeniz, Ege ve Akdeniz bölgelerinde *I. ricinus* bulunduğu halde Van ve Elazığ'da görülmemesi de bunu doğrulamaktadır.

Araştırmacılar, *Ixodes* cinsinden başka diğer sert kene cinsleri ve bazı sinek türlerinin de az oranlarda *B. burgdorferi* taşıdığını belirtmektedirler. Örneğin Magnarelli ve ark. 1986 yılında yaptıkları çalışmalarında, Connecticut'ta *Aedes* cinsi sivri sineklerin %7-8, geyik ve at sineklerinin ise %1-21 oranlarında *B. burgdorferi* taşıdıklarını belirtmişlerdir (51).. Başka bir çalışmada Hubalek ve ark. Çek Cumhuriyeti'nde *I. ricinus*'un %23, Culicidae ailesine bağlı 6 sivrisinek türünün toplam %4,1 oranında *B. burgdorferi* taşıdıklarını belirtmişlerdir. Bu araştırmacılar *D. reticulatus* ve *H. concinna*'da *B. burgdorferi*'ye rastlamamışlardır (37). Feir ve ark. 1994 yılında Missouri'de yaptıkları çalışmalarında *A. amaricanum*'ların %1,92'sinde, *D. variabilis*'lerin %2'sinde *B. burgdorferi*'nin olduğunu belirtmiştir (157). Sinski ve ark. Polonya'da 1994 yılında yaptıkları bir çalışmada *I. ricinus*'ların %23'ünde *B. burgdorferi* buldukları halde, *D. reticulatus* ve *Argas reflexus* türü kenelerde *B. burgdorferi*'ye rastlamamışlardır (38). Peter ve ark. İsviçre'de 1992 yılında yaptıkları benzer bir çalışmada *I. ricinus*'ta %30,4 *B. burgdorferi* taşıyıcılığı saptarken, *D. marginatus* ve *H. punctata*'da *B. burgdorferi* taşıyıcılığı bulamamışlardır (149). Bu sonuçlar *Ixodes* dışındaki keneler ve diğer artropodların bu bakteri için vektör olmadıklarını göstermektedir. *Ixodes* türlerinin olduğu bölgelerdeki bazı sinek türleri düşük oranlarda *B. burgdorferi* taşıyabilirler. Bu taşıyıcılık mekanik taşıyıcılıktır. Sinekler uçucu özelliklerinden dolayı bir gün içinde çok sayıda rezervuardan kan emebilmektedirler. Bu sayede *B. burgdorferi* ile infekte hale gelebilirler. Aynı şekilde infekte rezervuardan kan emen diğer keneler de *B. burgdorferi* için taşıyıcı duruma gelebilir. Taşıyıcı olmaları *B. burgdorferi*'nin vektör'ü olduğu anlamına gelmez. Bu nedenlerden dolayı bu tür artropodlar yalnızca *Ixodes* kenelerinin olduğu yörelerde taşıyıcılık görevini yüklenirler ve bu yörelerde insanlar için belirli düzeyde bir risk oluştururlar.

İnfekte bir kenenin bir omurgalı hayvanda infeksiyon yapma olasılığı ve infekte bir konağın da üzerlerinde kan emen kenelere spiroketi bulaştırma olasılığı transmisyon katsayısı olarak tanımlanır. Konaktan vektörlere taşınım, bir konaktan kan emen kenelerin *B. burgdorferi* ile infekte olma yüzdeleridir. Bu teorik olarak 0 ile 1 arasında değişir. Bu katsayı, vektör konak ikilisinin birlikteliğinde 1'e yakın bulunduğu halde, bu ikiliden uzaklaştıkça katsayı 0'a yaklaşır. Deneysel

çalışmalarda *I. ricinus* ve bir kemirici olan gerbillerin birlikteliğinde bu katsayının 1'e yakın olduğunu göstermiştir (66,158). *Ixodes* cinsi kenelerin diğer artropodlara göre daha fazla oranda spiroket taşımalarının sebebi de bu katsayının yůksekliđinden kaynaklanmaktadır. Örneđin Dolan ve ark. 1997 yılında Colorado'da yaptıkları çalışmada, enfekte olmayan *I. scapularis*, *I. spinipalpis* ve *D. andersoni*'yi enfekte fareler üzerinde beslemiş ve bu kenelerin ne derecede enfekte olduklarını araştırmışlardır. Araştırmalarının sonucunda *I. scapularis*'in %75, *I. spinipalpis*'in %69 ve *D. andersoni*'nin de %8,5 oranında enfekte oldukları bulunmuştur (135). Bu sonuca göre Colorado'da *B. burgdorferi*'nin temel vektörü *I. scapularis* diyebiliriz. Bu veriler doğrultusunda řunu söyleyebiliriz. Bir bölgede *B. burgdorferi*'nin vektörlerinin olması durumunda diğer artropodların taşıyıcılığı önem kazanabilir ve incelenmesinin gerekliliği ortaya çıkar. Bu nedenle, biz bu çalışmamızda *Boophilus*, *Rhipicephalus*, *Demacentor*, *Hyalomma* ve *Haemaphysalis* cinsi keneleri bulduğumuz halde, bunlarda *B. burgdorferi* prevelansını araştırmadık. Çünkü bu keneler *B. burgdorferi*'nin vektörleri değildir ve yöremizde *Ixodes* cinsi keneler bulunmadıkları için bu kenelerin mekanik taşıyıcılık özellikleri yoktur. Eđer yöremizde *Ixodes* cinsi kenelere rastlayabilseydik belki o zaman bu kenelerin de insanlarda Lyme serolojisi yönünden önemi olabilirdi.

Lyme seropozitifliği bir bölge toplumunda Lyme hastalığının azlığı veya çokluğu yönünden fikir verebilmesine karşın, Lyme serolojisine bakılarak bir kişiyi hasta veya sağlıklı kabul etmek yanlış olur. Çünkü Lyme hastası kişilerde yalancı seronegatiflik ve yalancı seropozitiflik sık görůlmektedir. Kısacası her seropozitif bulgu o kişinin *B. burgdorferi* ile enfeksiyonunu göstermediği gibi her seronegatif bulgu da o kişinin Lyme hastası olmadığını göstermez. Tanı genellikle hastalığın EM ve ACA gibi klinik belirtilerinin görůlmesi veya PCR deneyi gibi çok duyarlı deneyler tarafından konulmakta olup serolojik deneyler tanıyı destekleyici olarak kullanılır. Tanıyı destekleyici başka bir veri de hastanın kene ısırığı öyküsüdür.

Lyme hastalığı vektör kenelerle bulaştırılan bir hastalık olduğuna göre, kene ısırığı ile Lyme seropozitifliği arasında tam bir bağlantı olmalıdır. Maiwald ve ark. 1998 yılında yaptıkları bir çalışmada kene ısırığı şikayeti ile gelen 730 hastadan keneleri ıkarttıktan sonra hem kenelerdeki taşıyıcılığı incelemişler hem de bu hastaları klinik takibe alarak, araştırma sonunda kenelerin %11,3'ünün taşıyıcı olduğu, hastaların ise 19(%2,6)'unda kene ısırığı sonrası antikor pozitifliği geliştiğini

gözlemişlerdir. Antikor pozitifliği infekte kenelerin ısırıldığı kişilerde daha yüksek çıkmıştır. Bu araştırmacılar kene ısırığı öncesi seronegatif olan ve infekte kenelerin ısırıldığı 60 kişinin 16(%26,4)'sında antikor pozitifliği saptamışlardır (125). Kene ısırığı ve Lyme seropozitifliğini ortaya koyan bulgulara yurdumuzda yapılan çalışmalardan da örnekler verebiliriz. Demirci ve ark. Isparta yöresinde kene ısırığı öyküsü olan 82 kişinin 14(%17)'ünde, kene ısırığı olmayan 42 kişilik kontrol grubunun ise 1(%2)'inde B. burgdorferi seropozitifliği saptamışlardır (159). Çelik ve ark. ise antikor pozitifliği bulunan 16 kişinin 10(%66,2)'unda kene ısırığı öyküsünün olduğunu belirtmiştir (141).

Bizim çalışmamızı oluşturan 270 kişilik risk grubunun 81(%30)'i kene tarafından ısırıldıklarını söylemişlerdir. Biz ne kene tarafından ısırıldığını söyleyen, ne de kene ısırığını hatırlamayan çalışma grubumuzun hiç birinde kesin seropozitiflik saptayamadık. Bu sonuca göre yöremizdeki kene ısırığı öyküsü ile Lyme seropozitifliği arasında ilişki yoktur diyebiliriz. Yöremizde Ixodes ricinus'un bulunmaması da bunu desteklemektedir. Bu bulgumuz aynı zamanda yöremizde bulunan diğer kenelerin B. burgdorferi taşıyıcısı olmadığını da kanıttır.

Lyme hastalığı, en bariz klinik belirtisi EM olmakla beraber, diğer birçok organ ve sistemin tutulumu şeklinde ortaya çıkan bir hastalıktır. Bu nedenle kene ısırığı, antikor pozitifliği, EM, artrit, nöroborreliyoz ve kardit gibi birçok olgu birbirleriyle bağıntılı oranlarda görülür.

Örneğin Berglund ve ark. İsveç'te yaptıkları çalışmada 1992-1993 yılları arasında Lyme hastalığı teşhisi konmuş toplam 1471 kişide görülen klinik bulguların dökümünü yapmışlardır. Bu araştırmacıların yaptığı çalışmaya göre 1471 kişinin 1157(%79)'si kene ısırığını hatırlıyordu ve 731(%50)'inde antikor pozitifliği bulunmakta idi. Klinik bulgularında, bu hastaların 1139(%77)'unda EM, 235(%16)'inde nöroborreliyoz, 98(%6)'inde artrit, 47(%3)'sinde ACA ve 7(%0,6)'sinde kardit görülmüştür (76). Benzer bir çalışmada Smith ve ark. 1986-1998 yılları arasında İngiltere'de görülen Lyme hastası olgularının bulgulara göre dağılımını çıkartmışlardır. Bu rapora göre İngiltere'deki bu yıllarda görülen toplam olgu sayısı 796'dır. Bu hastaların 255(%32)'i kene ısırığını hatırlıyordu. Bu hastaların 325(%41)'inde EM, 118(%15)'inde nöroborreliyoz, 82(%10)'sinde diğer nörolojik semptomlar, 32(%4)'sinde artrit ve 5(%0,6)'inde kardit görülmüştür (71). Bu konudaki ABD'de yapılan çalışmaya da Ciesielski ve ark.'nın çalışmasını örnek

verebiliriz. Bu araştırcılar 1993 ile 1986 yılları arasında ABD'nin 7 eyaletinde görölen lyme olgularının bulgularına göre tasnifini yapmışlardır. Bu yıllar arasında görölen toplam 5016 lyme hastasının 2608(%52)'si kene ısırığını hatırlıyordu. Bu hastaların 4565(%91)'inde EM, 2559(%57)'sinde artrit, 903(%18)'ünde nörolojik bozukluk ve 502(%10)'sinde de kardit görölmüştür (69).

Yukarıdaki örneklerde de göröldüğü gibi lyme hastalığında kene ısırığının yanısıra EM lezyonunun görölüp görölmemesi de önemli bir bulgudur. Hatta lyme hastalığının teşhisinde en önemli bulgudur diyebiliriz. Bu sebepten kan örneği aldığımız 270 kişiden EM benzeri bir lezyon geçirip geçirmediikleri öyküleri'ni de aldık. Bu kişilerin 36(%13,3)'sı EM benzeri bir lezyon geçirdiklerini ifade etmişlerdir. Çalışma grubumuzun hiçbirinde kesin antikor pozitifliği saptayamadığımız için bu lezyonlarla lyme hastalığının klinik belirtilerinden olan EM arasında bir ilişki yoktur diyebiliriz. Diğer kanla beslenenler gibi keneler de kan emerken antikoagulan bazı maddeler salgırlar. Bu maddelere karşı kişinin direncine göre değişen farklı tepkiler oluşur. Bunlardan biri de kene ısırığı yerinde görölen kızarıklıkla karakterize allerjik deri reaksiyonlarıdır (160). Bu nedenle bölgemizde kene ısırığı sonrası görölen EM benzeri lezyonların asıl sebebi allerjik kızarıklar olabilir. Ayrıca kene ısırığı yeri çeşitli bakteri ve mantar enfeksiyonları için iyi bir giriş kapısı olduğundan, kene ısırığı sonrası görölen EM benzeri kızarıklıkların nedeni bu mikrobik etkenlere de bağlı da olabilir.

Lyme hastalığının insidansında kentte ve kırsal alanda oturan kişilerde farklılık göröldüğü gibi aynı coğrafik alandaki farklı meslek gruplarında da farklılıklar görölmektedir.

Çiftçiler ve kentte oturanlardaki lyme seropozitifliğini saptamak için Arzouni ve ark. Fransa'da yaptıkları çalışmalarında 212 çiftçinin 53(%25)'ünde, kentte oturan kontrol grubuna ait 100 kişinin 10(%10)'unda B. burgdorferi antikorunu bulmuşlardır (161). Burek ve ark Yugoslavya'nın Croatia bölgesinde yaptıkları çalışmalarında 70 orman işçisinin 30(%43)'ünde, endemik yörelerde yaşayan 50 kişinin 22(%44)'sinde, endemik olmayan yörelerde yaşayan 50 kişinin 4(%8)'ünde ve Croatia bölgesine gelen 93 sağlıklı yolcuların ise 9(%10)'unda antikor pozitifliği bulmuşlardır (162). Başka bir çalışmada ise Arteaga ve ark. İspanyanın Biskay yöresindeki çobanlarda %42, arıcılarda %41 ve bu bölge kırsalında oturan kişilerde %35 oranında antikor pozitifliği bulmuşlardır (163). Bu farklı meslek gruplarında

görülen antikor pozitifliklerindeki farklılık bu meslek gruplarının kene ile temas olasılıklarındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır. Köyde oturanların kene ile temas olasılığı kentte oturanlardan daha fazladır. Hem köyde oturan hem de hayvancılıkla uğraşanların kene ile temas olasılığı da köy sakinlerinden daha fazladır. Aynı şekilde çobanların ve orman işçilerinin kene ile temas olasılığı da diğer meslek gruplarından daha fazladır. Kene ile temas olasılığı arttıkça B. burgdorferi'nin bulaşı ve dolayısıyla Lyme seropozitifliği de arttığı için kene ile temas olasılığı yönünden farklı meslek dallarında farklı seropozitiflik görülmektedir.

Biz bu çalışmamızda çobanlar ve hayvancılıkla uğraşanlar olmak üzere iki farklı meslek grubunu seçtik. 270 kişiden oluşan risk grubumuzun 225'i sadece hayvancılıkla uğraşıyordu, 45'i ise sadece çobanlık yapıyordu. Anketimize verdikleri cevaplarında, hayvancılıkla uğraşanların 58(%25,7)'i, çobanların ise 23(%51,1)'ü kene tarafından ısırıldıklarını söylemişlerdir. Kene ısırığı öyküsü çobanlarda daha yüksek bulunmuş olup, bu farklılık istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Her ne kadar seropozitiflik bulamasak ta, bizim bu çalışmamız da Lyme hastalığının farklı meslek gruplarında farklı oranlarda görülebileceğini desteklemektedir. Çobanlar hayvancılıkla uğraşanlara göre hem daha uzun süre arazide kalmaktadırlar hem de aç kenelerin bulunduğu bölgelerde daha fazla bulunmaktadırlar. Aynı zamanda çobanlar hayvancılıkla uğraşanlardan daha fazla hayvanlarla birlikte dirler. Bu nedenle hem araziden hem de hayvanlar üzerindeki keneler tarafından ısırılma olasılıkları çobanlarda daha fazladır ve anket sonucumuz da bunu doğrulamıştır. Eğer yöremizde Ixodes cinsi keneler bulunsa idi çobanlarda görülen Lyme seropozitifliği doğal olarak hem hayvancılıkla uğraşanlardan hem de kontrol grubundan daha fazla çıkması beklenebilirdi.

Her ne kadar risk grubumuzu oluşturan kişilerin ifade ettikleri lezyonların Lyme hastalığında görülen EM'la ilişkisinin olmadığını kanıtlasak da, bu ifade edilen lezyonların çobanlarda ve hayvancılıkla uğraşanlarda farklı oranlarda görülmesi, Lyme hastalığının mesleki yönünü kanıtlayıcı başka bir delil oluşturur. Çalışmamızda 45 çobandan 13(%28,9)'ü, hayvancılıkla uğraşan 225 kişiden ise 24(%10,7)'ü EM benzeri lezyon geçirdiğini söylemiştir. İfade edilen lezyon çobanlarda hayvancılıkla uğraşanlara göre daha fazla oranda görülmüştür ve bu fark istatistiksel olarak da önemlidir ($p<0,05$). Bu lezyonun üzerinde durmamız gereken yönü kene ısırığı öyküsüyle paralellik göstermesidir. Zaten anket sorularımıza verdikleri cevapta da

kene ısırığı sonrası bu lezyonları geçirdiklerini söylemişlerdir. O halde bu lezyonlar da kene ısırığı ile doğru orantılı olarak görülmektedir diyebiliriz. Lyme hastalığının en bariz klinik görünümü olan EM'da kene ısırığı ile doğru orantılı görüldüğüne göre, Ixodes cinsi kenelerin bulunduğu yörelerde beyan edilen bu lezyonlarla EM arasında da doğru bir orantının olabileceği anlamına gelir. Bizim bu çalışmamızda çobanlarda bu lezyonların daha fazla oranlarda görünüşü, çobanlar gibi kene ile temas olasılığı fazla olan meslek gruplarında Lyme hastalığının daha fazla sıklıkta görülebileceğinin başka bir delilini oluşturmaktadır.

Lyme hastalığının insidansının yaş gruplarına dağılımında da farklılıklar gözükmemektedir. Smith ve ark. yaptıkları retrospektif taramalarında İngilterede 1986-1998 yılları arasında görülen toplam 796 Lyme olgusunun 85(%10,6)'ini 15 yaş altı, 45(%5,7)'ini 15-24 yaş grubu, 220(%27,6)'sini 25-44 yaş grubu, 300(%37,7)'ünü 45-64 yaş grubu ve 129(%16,2)'unu da 65 ve üstüne ait yaş grubundan kişiler oluşturmuştur (71). Berglund ve ark. 1471 Lyme olgusunun yaş gruplarına dağılımları ile ilgili verdiği bilgiler de yukarıdaki çalışma ile benzerlik göstermektedir. Bu araştırmacılar 45 yaşın üzerinde Lyme insidansında genel bir artış olduğunu, 4-9 ve 65-74 arası yaşlardaki kişilerde en fazla, 15-25 yaşları arasında da en az oranda bu hastalığın görüldüğünü belirtmişlerdir (76). Bu sonuçlara göre 15 yaşın altındaki çocuklarda Lyme hastalığının 15-24 yaş grubundakilere göre sık görülmesinin nedenlerinden biri, 15 yaşın altındaki çocukların daha aktif ve oyun çağında olmalarına bağlı olarak kene ile temas olasılıklarının fazla olmasına bağlanabilir. Nedenlerden diğeri ise çocukların bağışıklık mekanizmalarının tam gelişmemesi olabilir. Nitekim, en yüksek Lyme insidansının 65-74 yaş gruplarında görülmesinin nedeni de buna bağlanabilir. 45 yaş sonrası Lyme insidansında artışın görülmesinin nedeni olarak yaş ilerledikçe kene ile temas olasılıklarının artışı ve bu hastalığın uzun seyrine bağlayabiliriz. Bu düşüncemizi destekleyecek çeşitli çalışmaları gösterebiliriz. Weber, ACA'lı hastalarda B. burgdorferi'nin 10 yıl kadar eski lezyonlardan bile izole edilebileceğini belirtmiştir (164). Kalış ve ark. ise yaptıkları bir çalışmada erken Lyme hastası tanısı konmuş 40 kişinin 10(%25)'ünde, Lyme artritli 39 hastanın ise 24(%62)'ünde 10-20 yıl sonrası bile IgG antikoruna saptamışlardır. Aynı çalışmada yine 10-20 yıl sonrası erken dönem hastalarının 4(%10)'ünde ve artritli hastaların ise 6(%15)'sinde IgM pozitifliği görülmüştür (83). 10-20 yıl sonraki IgG pozitifliği belki uzun süreli bir bağışık yanıtla bağlanabilir.

Fakat, 10-20 yıl sonra bile IgM pozitifliğinin görülmesi, bu bakterilerin semptomatik veya asemptomatik de olsa bu kişilerde bulunduğunu düşündürmektedir. Bu kadar uzun seyirli bir hastalığın da 45 yaş üzerinde artış göstermesinin doğal olduğunu düşünüyoruz.

Yurdumuzdaki bazı araştırmacılar ise yaptıkları çalışmalarında yaş ve Lyme seropozitifliği arasında anlamlı farklılıklar görmediklerini belirtmişlerdir (165-167). Biz risk ve kontrol grubumuzda kesin bir seropozitiflik saptayamadığımız için sadece çalışma grubumuzdaki yaş dağılımı ile kene ısırığını ve EM benzeri öykülerini kıyaslayabildik. Bizim çalışmamızda da hem kene ısırığı, hemde EM benzeri lezyon öyküleri ile yaş dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Değerlendirmeye alınan çalışmalar ve örnek sayısı ele alındığında yurt dışındaki araştırmacıların yaptığı Lyme hastalığı dokümanları yurdumuzdaki çalışmalara göre hem daha kapsamlıdır hem de örnek sayısı bakımından daha fazladır. Bu nedenle yurdumuzda görülen Lyme insidansı ile yaş grupları arasında farkın olup olmadığının kesin ortaya konulması için daha fazla çalışmaya gerek olduğuna inanmaktayız.

Yapılan çalışmalarda cinsiyet ile Lyme hastalığı arasında çelişkili sonuçlar da bildirilmiştir. Bir kısım araştırmacılar cinsiyet ve Lyme hastalığı arasında fark bulamazken, bir kısım araştırmacılar erkeklerde, bir kısmı ise kadınlarda daha yüksek seropozitiflik bulmuşlardır. Örneğin Smith ve ark. Lyme hastası 796 kişi üzerinde yaptığı istatistikte, bu hastalığın kadın ve erkeklerde benzer oranlarda görüldüğünü belirtmişlerdir (71). Berglund ve ark.'nın 1471 Lyme hastası üzerinde yaptığı çalışmada da cinsiyet ile Lyme hastalığı arasında farkın bulunmadığı görülmektedir (76). Yurdumuzda yapılan çalışmalarda Mutlu ve ark. Antalya yöresine çoban ve hayvancılıkla uğraşan 29 erkeğin 5(%17,2)'inde, hayvanlardan süt sağma gibi direk teması olan 60 kadının 22(36,6)'sinde IgG pozitifliği bulmuştur (34). Çelik ve ark. Denizli yöresinde kene ısırığı öyküsü olan 48 erkeğin 10(%20,8)'unda, 47 kadının 6(%12,8)'sında IgG antikorunu saptamışlardır (141). Birengel ve ark.'nın yaptıkları çalışmada olduğu gibi, Aydın ve ark.'nın yaptığı çalışmalarda da kadın ve erkek arasında Lyme seropozitifliği arasında anlamlı farklılıklar bulamamışlardır (145,165). Biz çalışmamızda ne erkeklerde ne de kadınlarda kesin bir antikor pozitifliği bulamadığımız için yalnızca cinsiyet ile kene ısırığı ve EM benzeri lezyon öykülerini kıyaslayabildik. Bizim çalışmamızda risk grubundaki 117 erkeğin 40(%34,2)'i, 153 kadının ise 41(%26,8)'i kene tarafından ısırıldıklarını söylemişlerdir. Yine aynı

şekilde erkeklerin 20(%17,1)'si, kadınların 17(%11,1)'si EM benzeri bir lezyon geçirdiklerini belirtmiş olup, istatistiksel olarak ne kene ısırığı ile ne de EM benzeri bir lezyon yönünden cinsiyetler arasında fark bulunmamıştır. Bizim bu konudaki kanımız da bulgularımız yönündedir. Kene ısırığı öyküsü her ikisi de risk kabul edilen çobanlar ve hayvancılıkla uğraşanlarda bile farklı oranlarda görüldüğüne göre cinsiyet ve lyme insidansını kıyaslarken bu kişilerdeki mesleki sınıflandırmanın çok detaylı yapılması gereklidir. Cinsiyete göre kıyaslama yapılırken aynı meslek grubundaki erkek ve kadınlar arasındaki yapılan kıyaslamamızın daha bilimsel temele dayanacağını düşünmekteyiz.

Diğer bir üzerinde duracağımız nokta da bir bölgede görülen lyme hastalığının gerçek insidansı ile o bölgedeki kan donörü kişilerin seropozitifliği arasında çok büyük farkların görülmesidir. Avrupa ülkelerine göre değişmek üzere kan donörlerinde %0-18, risk gruplarında ise %5,7-71 arasında lyme seropozitifliği görülmektedir (168). Avrupa ülkelerindeki yıllık olgu sayısı ise yüz binde 0,3 ile 130 arasında değişmektedir (31). Avusturya'yı örnek verecek olursak Prier ve ark. endemik olmayan alanlardaki kan donörü kişilerin %3,8'inde lyme seropozitifliği bulmuştur (138). Avusturya'daki yıllık lyme vakası ise %0,13'dür (31). Her ikisini kıyasladığımızda bu ülkedeki lyme seropozitifliğinin yıllık lyme olgusundan 29 kez fazla olduğu görülmekte olup, bu oran diğer ülkelerde de benzerlik göstermektedir. Kan donörleri bir toplumun genel popülasyonunu yansıtmaktadır. Bu bulgulara göre lyme hastalığında asemptomatik olguların semptomatik olgulardan çok daha fazla görüldüğünü ve bu hastalığın sanılandan çok daha fazla risk oluşturduğunu söyleyebiliriz. Bu nedendir ki, Avrupa'daki birçok ülkedeki sağlık örgütleri ve kan bankaları bu hastalığı yakın takibe almışlardır.

Yurdumuzda kan donörlerinde lyme seropozitifliğinin görülmesine ilişkin bir çalışmaya rastlayamadık. Bunun yanı sıra, yurdumuzda yapılan çalışmalarda kontrol grubunda görülen seropozitiflikle yurdumuzdaki kan donörlerinde görülebilecek lyme seropozitifliğinin benzer sonuç verebileceğini düşünebiliriz. Türkiyede yapılan çalışmalarda kontrol gruplarında %1,4-6,4 arasında seropozitiflik görülmektedir (140,143,145,165). Bu sonuçlar lyme hastalığı için endemik kabul edilen Avrupa ülkelerindeki kan donörlerinde de görülebilen oranlardır. Bu doğrultuda Ixodes cinsi kenelerin bulunduğu bölgelerimizin lyme hastalığı yönünden yüksek riskli bölgeler olduğunu düşündürmektedir. Nitekim bu bölgelerde oturan

risk grubuna ait vatandaşlarımızdaki Lyme seropozitifliği de Avrupa'daki riskli bölgelerle benzerlik göstermektedir.

Bizim bulgularımızda risk grubumuzda %0,37, kontrol grubumuzda ise %0,74 seropozitiflik bulunmuş olup bu pozitiflikler RPR pozitifliği nedeniyle değerlendirme dışına alınmıştır. Değerlendirme dışına alınmaması durumunda bile risk grubumuzda bulunan seropozitiflik oranı diğer araştırmacıların kontrol grubunda bulduğu seropozitiflik oranlarından bile çok düşüktür. Oysa risk grubundan kişilerde daha fazla seropozitiflik görülmesi beklenir. Bizim kontrol grubumuzun risk grubumuzla benzer sonucu vermesi de yöremizin Lyme hastalığı için endemik bir yer olmadığını desteklemektedir.

Sivas yöresinin Lyme için endemik olmaması, Sivas'ta hiç Lyme hastalığının olmayacağı anlamına da gelmez. Bir bölgede yapılan barajlar o bölge iklimini değiştirebilmektedir. Örneğin, Keban barajı 1974'de faaliyete geçmiştir. Buna yakın bir yıl olan 1982'de Sayın ve Dumanlı, Elazığ bölgesindeki yaptıkları çalışmada da sığır, koyun ve keçilerde *I ricinus*'a rastlayamamasına karşın (151), Erensoy'un 1995'de yaptığı çalışmada aynı yöre kırsalında oturan risk gruplarında %6 antikor pozitifliği saptaması düşündürücüdür (169). Bazı yıllardaki yıllık yağış ve nem miktarı mevsim normallerinin üzerine de çıkabilir. İşte bu gibi durumlarda göçmen kuşlarının vektör keneleri taşıyıcılığı önem kazanabilir ve endemik bölgelere göre yok denecek kadar az oranlarda da olsa Lyme olgularına rastlanılabilir.

Sonuç olarak, Sivas Lyme hastalığı yönünden endemik bir bölge olmadığından ne yöremiz insanların, ne de yöremizde bulunan hayvanlarımız için risk teşkil etmemektedir. Bunun yanı sıra bölgemiz nüfusunun bir kısmını yurdumuzun çeşitli yörelerinden gelen kamu kuruluşlarında çalışan personel ve Cumhuriyet Üniversitesi'nde okuyan öğrenciler oluşturmaktadır. Aynı zamanda Sivas'ta oturan vatandaşlarımızın bir kısmı tatillerini Lyme yönünden riskli bölgelerde de geçirebilmektedir. Bu yönler dikkate alındığında Sivas'ta da Lyme hastalığının görülebilmesi olasıdır. Bu nedenle Sivas'taki çeşitli sağlık kuruluşlarında çalışan hekimler artrit, kardit, Lenfositoma, menenjit ve konjonktivit gibi Lyme olgularında da görülen bir semptomla karşılaştıklarında hastaların Lyme yönünden endemik olabilecek bir bölgede bulunup bulunmadığı öyküsünü alması, bu hastalar Sivas dışına hiç çıkmamışlarsa en son olarak Lyme hastalığından şüphelenmesi gerektiği kanısındayız.

SONUÇLAR

Yöremizde B. burgdorferi'nin vektörlerinin araştırılması ve yöremiz insanında Lyme seropozitifliğinin ortaya konulması amacıyla yapılan çalışmalarda;

1. Sığır, koyun ve keçilerden toplanan 10303 kene içinde B. burgdorferi'nin vektörü olan I. ricinus'a rastlanmamıştır. Bu kenelerden 6249 (%60,6)'u Boophilus, 2195(%21,3)'i Rhipicephalus, 853(%8,3)'ü Dermacentor, 512(%5)'si Hyalomma ve 494(%4,8)'ini Haemaphysalis cinsi keneler olarak tiplendirilmişlerdir.
2. Kenelerin konaklara göre dağılımları incelendiğinde Sığırlardan toplanan kenelerde en bol olarak Boophilus cinsine(%72,9), koyun ve keçilerden toplanan keneler içinde de en bol olarak Rhipicephalus cinsine rastlanılmış olup, kene cinsleri ve konaklara göre dağılımlarında istatistiksel olarak da anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,05$).
3. Kenelerin aylara göre dağılımları incelendiğinde bahar ve yaz başlangıcında Rhipicephalus cinsi, yaz ve sonbahar aylarında ise Boophilus cinsi daha yüksek oranda bulunmuştur.
4. Toplanan kenelerin cinsiyetlerine göre dağılımı incelendiğinde 10303 kenenin 8668(%84,1)'inin dişi, 1635(%15,9)'inin erkek olması bakımından dişi keneler erkeklere göre daha fazla bulunmuş olup, farklılık istatistiksel olarak da anlamlıdır ($p<0,05$).
5. Yöremizde yaşayan risk ve kontrol grupları arasında Lyme seropozitifliği yönünden fark olmadığı görülmüş olup, 270 kişilik risk grubu ve 135 kişilik kontrol grubuna ait serum örneklerinin hiç birisinde kesin seropozitifliğe rastlanmamıştır. Risk ve kontrol grubunda saptanan düşük düzeydeki seropozitifliklerin ise çapraz reaksiyona bağlı olabileceği düşünülmektedir.
6. Anket sonuçları değerlendirildiğinde risk grubunda EM benzeri lezyon görülme durumu ile kene ısırığının cinsiyet ve yaş grupları arasında dağılımında istatistiksel yada anlamlı farklılığın olmadığı görülmüştür ($p>0,05$).
7. Anket sonuçları meslek grupları yönünden değerlendirildiğinde hem kene ısırığı hem de EM benzeri lezyon geçirme öykülerinin çobanlarda daha

yüksek görüldüğü ve bu farklılığın da istatistiksel yönden anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

Sonuç olarak, yöremizde hem *I. ricinus*'un bulunmaması, hem de risk ve kontrol guruplarında kesin diyebileceğimiz Lyme seropozitifliğinin görülmemesi, her iki bulgunun da birbiriyle uyumlu olduğunu göstermektedir. Bu bulgular Sivas'ın Lyme hastalığı yönünden endemik bir bölge olmadığını ortaya koymakta olup, benzer çalışmaların yurdumuzun diğer illerinde de yapılması gerektiği inancındayız. Yurdumuzda sınırlı sayıda yapılmış olan çalışmaların çoğalması sayesinde gelişmiş ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de Lyme yönünden bir risk haritası oluşturmak ve hastalıkla mücadelede strateji belirlemek mümkün olabilecektir.



ÖZET

Lyme hastalığı, vektör kaynaklı bir hastalık olduğundan, bu hastalığın epidemiyolojik araştırmalarında hem bir bölgedeki vektörlerinin durumu hem de o bölge insanlarındaki seropozitifliğin araştırılması daha bilimsel temele dayanmaktadır. Bu nedenle bu çalışma hem *B. burgdorferi*'nin vektörü olan *Ixodes ricinus*'un bölgemizdeki yaygınlığının, hem de bölgemiz insanındaki Lyme seropozitifliğinin ne düzeyde olduğunun ortaya konulması olmak üzere iki yönde gerçekleştirilmiştir.

Yöremizde *Ixodes ricinus*'un ne düzeyde bulunduğunu araştırmak için 2001 yılının Mayıs-Aralık ayları arasında Sivas merkez ilçeye bağlı 109 köy ile temasa geçilerek, bu köyde bulunan sığır, koyun ve keçilerden toplam 10303 adet kene toplanmıştır. Yapılan cins düzeyinde sınıflandırmalar sonucunda bu kenelerin 6249 (%20,9)'unu *Boophilus*, 2195 (%21,3)'ünü *Rhipicephalus*, 853 (%8,3)'ünü *Dermacentor*, 512 (%5)'ini *Hyalomma* ve 495 (%4,8)'ini *Haemaphysalis* cinsine ait keneler oluşturmuş olup, yöremizde *B. burgdorferi*'nin vektörü olan *Ixodes ricinus*'a rastlanmadığı görülmüştür.

Yöremizde yaşayan insanlarda seropozitifliğin araştırılması amacı ile Temmuz-2001 ile Ocak-2002 tarihleri arasında risk grubu olarak 270 kişiden, kontrol grubu olarak ise 135 kişiden kan örneği alındı ve serumları ayrıştırılarak ELISA yöntemi ile çalışıldı. Çalışma sonunda risk grubuna ait 270 serum örneğinin birinde (%0,37) ve kontrol grubuna ait 135 serum örneğinin de birinde (%0,74) Lyme seropozitifliği bulunmuştur. Seropozitif çıkan serumlarda RPR deneyi yapılmış olup, bu serumlar RPR deneyinde de pozitif sonuç vermiştir. Bu nedenle bu Lyme seropozitifliklerinin muhtemelen çapraz reaksiyona bağlı olabileceği kanısına varılmıştır.

Sonuç olarak Sivas yöresinde hem *Ixodes ricinus*'un bulunmaması, hem de risk ve kontrol grubuna ait serum örneklerinde kesin seropozitifliğe rastlanmaması, yöremizin Lyme hastalığı yönünden endemik bir yer olmadığını düşündürmektedir.

SUMMARY

Because of the fact that lyme disease is a kind of vector-borne one, in the epidemiological researches of this disease, both the position of the vector in a region and seropositive researchment of the people in that area are based on a more scientific basis. For this reason, this study is divided into two parts of which the first is *Ixodes ricinus* which is *B. burgdorferi*'s vector whether it is common or not in our district and the second one is done to find out the lyme seropositivity level of our local people.

To find out the level of *I. ricinus* in our district, contacts were made with 109 villages which belong to the centre of Sivas in 2001 from May to December, in total 10303 ticks were collected from the oxen, sheep and goats in those villages. At the end of the classifications which were done on the level of genus, it was figured out that 6249 (%20,9) ticks of the total number is *Boophilus*, 2195 (%21,3) is *Rhipicephalus*, 853 (%8,3) is *Dermacentor*, 512 (%5) is *Hyalomma* and 495 (%4,8) is *Haemaphysalis*. It has seen that there was no *Ixodes ricinus* which is vector *B. burgdorferi* in our district.

Aiming to research the seropositivity of the people in our district from June 2001 to January 2002, blood samples were taken from 270 people within a risk group and 135 people within a control group, thus decomposing the sera and studied on with ELISA method. At the end of the study, 1(%0,37) out of 270 sera samples and 1(%0,74) out of 135 sera samples showed lyme seropositivity. A RPR assay was done on the sera which were found positive for lyme and all those sera have been found positive in the RPR assay. For this reason, it was thought that these lyme seropositivities may be cross reaction

Consequently, in Sivas; neither *Ixodes ricinus* nor certain seropositivity in sera samples taken from risk and control groups was found and so that brings to a mind that our region isn't an endemic one in terms of lyme disease.

KAYNAKLAR

1. Steere AC, Malawista SE, Hardin JA, Ruddy S, Askenase W, Andiman WA. Erythema chronicum migrans and lyme arthritis. The enlarging clinical spectrum. *Ann Intern Med* 86(6):685-689, 1977.
2. Steere AC, Malawista SE. Erythema chronicum migrans and lyme arthritis: cryoimmunoglobulins and activity of skin and joint. *Science* 196(4294):1121-1122, 1977.
3. CDC. Surveillance for lyme disease-United States, 1992-1998. *MMWR* 49(SS-3):1-11, 2000.
4. Scrimenti RJ. Acrodermatidis chronica atrophicans: Historical and clinical overview. *J Spiro Tick Diseases* 2:97-100, 1995.
5. Steere AC. Lyme disease. *N Engl J Med* 321:586-596, 1989.
6. Weber K. Cutaneous manifestations of lyme borreliosis in Europe. *J Spiro Tick Diseases* 1(2):57-60, 1994.
7. Barbour AG, Hayes SF. Biology of borrelia species. *Microbiological Reviews*. 50(4):381-400, 1986.
8. Burgdorfer W, Hayes SF, Corvin D. Pathophysiology of lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, in Ixodes tick. *Rev Infect Dis Vol-2 (Suppl 6):1442-1450*, 1989.
9. Parola P, Raoult D. Tick and tickborne bacterial diseases in humans: An emerging infectious threat. *Clin Infect Dis* 32(8):897-928, 2001.
10. Shapiro ED, Gerber MA. Lyme disease. *Clin Infect Dis* 31:533-542, 2000.
11. Barbour AG. Lyme disease. In Hoepflich PD(ed): *Infectious Disease*. 5th Ed. J.B Lippincott Company, Philadelphia, p:1327-1332, 1994.
12. Mursic VP, Wanner G, Reinhardt S, Wilske B, Busch U, Marget W. Formation and cultivation of *Borrelia burgdorferi* spheroplast L-form variant. *Infection* 24(3):218-225, 1996.
13. American Society Microbiology. Morfologia de *Borrelia burgdorferi*: <http://www.microbelibrary.org/images/jnelson/images/borrelia.jpg>
14. Wang G, van Dam AP, Schwartz I, Dankert J. Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: Taxonomic, epidemiological, and clinical implication. *Clin Microbial Reviews* 12(4):633-653, 1999.

15. Marconi RT, Samuels DS, Schwan TG, Garon CF. Identification of a protein in several *Borrelia* species which is related to OspC of the lyme disease spirochetes. *J Clin Microbiol* 31(10):2577-2583, 1993.
16. Callister SM, Schell RF. Laboratory serodiagnosis of lyme borreliosis. *J Spiro Tick Diseases* 5(1):7-10, 1998.
17. Callister SM, Jobe DA, Schell RF, Lovrich SD, Onheiber KL, Korshus JB. Dedection of borreliacidal antibodies in dogs after challenge with *Borrelia burgdorferi*-infected *Ixodes scapularis* tick. *J Clin Microbiol* 38(10): 3670-3674, 2000.
18. Ryffel K, Peter O, Rutti B, Suard A, Dayer E. Scored antibody reactivity determined by immunoblotting shows an association between clinical manifestation and presence of *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. afzelii*, and *B. valasiana* in human. *J Clin Microbiol* 37(12):4086-4092, 1999.
19. Harris NS. An undarstanding of laboratory testing for lyme disease. *J Spiro Tick Diseases* 5(1):16-20, 1998.
20. Pasteur Enstitute. Welcome to *Borrelia burgdorferi sensu lato* Molecular and Genetic Server!: <http://www.pasteur.fr/recherche/borrelia>
21. Shih CM, Chang HM, Chen SL, Chao LL. Genospecies identification and characterization of lyme disease spirochetes of genospecies *Borrelia burgdorferi sensu lato* isolated from rodents in Taiwan. *J Clin Microbiol* 36(11):3127-3132, 1988.
22. Jaulhac B, Heller R, Limbach FX, Hansmann Y, Lipsker D, Monteil H, Sibilia J, Piemont Y. *Borrelia burgdorferi sensu lato* species in synovial samples from patiens with lyme arthritis. *J Clin Microbiol* 38(5):1895-1900, 2000.
23. Wilske B, Busch U, Fingerle V, Jauris-Heipke S, Preac Mursic V, Rossler D, Will G. Immunological and molecular variability of OspA and OspC. Implications for *Borrelia* vaccine development. *Infection* 24(2):208-212, 1996.
24. Wilske B, Jauris-Heipke S, Lobentanzer R, Pradel I, Preac-Mursic V, Rossler D, Soutschek E, Johnson RC. Phenotypic analysis of outer surface protein C (OspC) of *Borrelia burgdorferi sensu lato* by monoclonal antibodies: relationship to genospecies and OspA serotype. *J Clin Microbiol* 33(1):103-109, 1995.
25. Karaer Z, Yukarı BA, Aydın L. Türkiye keneleri ve vektörleri. İçinde Özcel MA, Daldal N(ed): Parazitoloji'de artropod hastalıkları vektörler. Türkiye Parazitoloji

- Derneği yayın no:13, İzmir., s:363-434, 1997.
26. College of Veterinary Medicine Chonnam National University. Tick key to genera: <http://vetmed.chonnam.ac.kr/lectures/parasitol/Tickkey/genuskey.htm>
 27. Merdivenci A. Türkiye keneleri üzerinde araştırmalar. İst Üni. Cer.Tıp.Fak.Yay. Rektörlük No:1488, Dekanlık No:8. Kurtuluş Matbası-İstanbul, 1969.
 28. The paralytic tick of Australia: <http://members.ozemail.com/~norbertf>
 29. Anderson JF. Epizootiology of lyme borreliosis. Scand J Infect Dis 77:23-34, 1991.
 30. Anderson JF. Epizootiologi of Borrelia in Ixodes tick vectors and reservoir host. Reviews of Infectious Disease Vol-2(suppl 6):1451-1459, 1989.
 31. ECUBAL (European Union Concerted Action on Lyme Borreliosis): http://www.dis.strath.ac.uk/vie/LymeEU/prevention_index.html
 32. Hubbard MJ, Baker AS, Cann KJ. Distribution of Borrelia burgdorferi s.l. spirochaete DNA in British ticks (Argasidae and Ixodidae) since the 19th century, assessed by PCR. Med Vet Entomol 12(1):89-97, 1998.
 33. Humair PF, Turrian N, Aeschlimann A, Gern L. Borrelia burgdorferi in a focus of lyme borreliosis: epizootiologic contribution of small mammals. Folia Parasitol (Praha) 40(1):65-70, 1993.
 34. Mutlu G, Gültekin M, Ergin Ç, Sayın F, Kurşun AE. Antalya yöresinde Borrelia burgdorferi antikorlarının ve vektörlerinin araştırılması. Microbiol Bülteni 29:1-6, 1995.
 35. Fingerle V, Hauser U, Liegl G, Petko B, Preac-Mursic V, Wilske B. Expression of outer surface protein A and C of Borrelia burgdorferi in Ixodes ricinus. J Clin Microbiol 33(7):1867-1869, 1995.
 36. Frusteri L, Khoury C, Maroli M. Temporal distribution of ticks (Acarina: Ixodidae) in “Macchia Grande” park in Manziana in the province of Rome. [Article in Italian] . Parassitologia 36(3):295-300, 1994.
 37. Hubalek Z, Halouzka J, Juricova Z. Investigation of haematophagous arthropods for borreliae—summarized data, 1988-1996. Folia Parasitol (Praha) 45(1):67-72, 1998.
 38. Sinski E, Karbowski G, Siuda K, Buczek A, Jongejan F. Borrelia burgdorferi infection of ticks in some regions of Poland. [Article in Polish] Przegl Epidemiol 48(4):461-465, 1994.

39. Wegner Z, Stanczak J, Racewicz M, Kruminis-Lozowska W, Kubica-Biernat B. Occurrence of *Borrelia spirochaetes* in ticks (Acari, Ixodidae) collected in the forest areas in Olsztyn province (north central Poland). *Bull Inst Marit Trop Med Gdynia* 44-45(1-4):51-59, 1993-1994.
40. Wan K, Zhang Z, Dou G. Investigation on primary vectors of *Borrelia burgdorferi* in China. [Article in Chinese] *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 19(5):263-266, 1988.
41. Magnarelli LA, Anderson JF, Burgdorfer W, Chappell WA. Parasitism by *Ixodes dammini* (acari:Ixodidae) and antibodies to spirochetes in mammals at lyme disease foci in connecticut, USA. *J Med Entomol* 21(1):52-57, 1984.
42. Stafford KC 3rd, Bladen VC, Magnarelli LA. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds (Aves) and white-footed mice in Lyme, CT. *J Med Entomol* 32(4):453-466, 1995.
43. Anderson JF, Magnarelli LA, Burgdorfer W, Barbour AG. Spirochetes in *Ixodes dammini* and mammals from connecticut. *Am J Trop Med Hyg* 32(4):818-824, 1983.
44. Magnarelli LA, Anderson JF, Apperson CS, Fish D, Johnson RC, Chappell WA. Spirochetes in ticks and antibodies to *Borrelia burgdorferi* in white-tailed deer from connecticut, New York State, and North Carolina. *J Wildlife Dis* 22(2):178-188, 1986.
45. Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN, Craft JE, Barbour AG, Burgdorfer W, Schmid GP, Johnson E, Malawista SE. The spirochetal etiology of lyme disease. *N Engl J Med* 308(13):733-740, 1983.
46. Lane RS, Lavoie PE. Lyme borreliosis in California. Acarological, clinical, and epidemiological studies. *Ann N Y Acad Sci* 539:192-203, 1988.
47. Telford SR, Spielman A. Enzootic transmission of the agent of lyme disease in rabbits. *Am J Trop Med Hyg* 41(4):482-490, 1989.
48. Masuzawa T, Suzuki H, Kawabata H, Ishiguro F, Takada N, Yano Y, Yanagihara Y. Identification of spirochetes isolated from wild rodents in Japan as *Borrelia japonica*. *J Clin Microbiol* 33(5):1392-1394, 1995.
49. Angelov L, Dimova P, Berbencova W. Clinical and laboratory evidence of the importance of the tick *D. marginatus* as a vector of *B. burgdorferi* in some areas of sporadic lyme disease in Bulgaria. *Eur J Epidemiol* 12(5):499-502, 1996.

50. Barbour AG, Maupin GO, Teltow GJ, Carter CJ, Piesman J. Identification of an uncultivable *Borrelia* species in the hard tick *Amblyomma americanum*: Possible agent of a lyme disease-like illness. *J Infect Dis* 173(2):403-409, 1996.
51. Magnerelli LA, Barbour AG, Anderson JF. The etiological agent of lyme disease in deer flies, horse flies, and mosquitoes. *J Infect Dis* 154(2):355-358, 1986.
52. Talleklint L, Jaenson TG. Transmission of *Borrelia burgdorferi* s.l. from mammal reservoirs to the primary vector of lyme borreliosis, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae), in Sweden. *J Med Entomol* 31(6):880-886, 1994.
53. Gill JS, McLean RG, Shriner RB, Johnson RC. Serologic surveillance for the lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, in Minnesota by using white-tailed deer as sentinel animals. *J Clin Microbiol* 32(2):444-451, 1994.
54. Olsen B, Duffy DC, Jaenson TG, Gylfe A, Bonnedahl J, Bergstrom S. Transhemispheric exchange of lyme disease spirochetes by seabirds. *J Clin Microbiol* 33(12):3270-3274, 1995.
55. Humair PF, Turrian N, Aeschlimann A, Gern L. *Ixodes ricinus* immatures on birds in a focus of lyme borreliosis. *Folia Parasitol (Praha)* 40(3):237-242, 1993.
56. Bruno P, Bruno G, Claudine PE. Detection of spirochaetes of *Borrelia burgdorferi* complexe in the skin of cervids by PCR and culture. *Eur J Epidemiol* 16(9):869-73, 2000.
57. Magnerelli LA, Anderson JF, Fisch D. Transovarial transmission of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes dammini* (Acari:Ixodidae). *J Infect Dis* 156(1):234-236, 1987.
58. Fingerle V, Bergmeister H, Liegl G, Vanek, E, Wilske B. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* in southern Germany: *Borrelia* infection in *Ixodes ricinus*. *J Spiro Tick Diseases* 1:41-45, 1994.
59. Zhioua E, Aeschlimann A, Gern L. Infection of field-collected *Ixodes ricinus* (Acari:Ixodidae) larvae with *Borrelia burgdorferi* in Switzerland. *J Med Entomol* 31(5):763-766, 1994.
60. Balashov LS, Amusiva LI, Grigor LA. Transovarially and transphasic transmission of *Borrelia* by the taiga tick *Ixodes persulcatus* (Ixodidae). *Parazitologia* 32(6):489-494, 1998.
61. Ribeiro JMC, Mather TN, Piesman J, Spielman A. Dissemination and salivary delivery of lyme disease spirochetes in vector ticks (acari:Ixodidae). *J Med Entomol* 24(2):201-205, 1987.

62. Eving C, Scorpio A, Nelson DR, Mather TN. Isolation of *Borrelia burgdorferi* from saliva of the tick vector, *Ixodes scalpularis*. *J Clin Microbiol* 32(3):755-758, 1994.
63. Piesman J, Dolan MC, Happ CM, Luft BJ, Rooney SE, Mather TN, Golde WT. Duration of immunity to reinfection with tick-transmitted *Borrelia burgdorferi* in naturally infected mice. *Infect Immun* (10):4043-4047, 1997.
64. Haake DA. Spirochaetal lipoprotein and pathogenesis. *Microbiology* 146:1491-1504, 2000.
65. Guo BP, Norris SJ, Rosenberg LC, Hook M. Adherence of *Borrelia burgdorferi* to the proteoglycan decorin. *Infect Immun* 63(9):3467-3472, 1995.
66. Kurtenbach K. Transmission of *Borrelia burgdorferi sensu lato* by reservoir host. *J Spiro Tick Diseases* 3(1):53-61, 1996.
67. Krause A, Burmester GR, Rensing A, Schoerner C, Schaible UE, Simon MM, Herzer P, Kramer MD, Wallich R. Cellular immune reactivity to recombinant OspA and flagellin from *Borrelia burgdorferi* in patients with lyme borreliosis. Complexity of humoral and cellular immune responses. *J Clin Invest* 90(3):1077-1084, 1992.
68. Schwan TG, Piesman J. Temporal changes in outer surface proteins A and C of the lyme disease-associated spirochete, *Borrelia burgdorferi*, during the chain of infection in tick and mice. *J Clin Microbiol* 38(1):382-388, 2000.
69. Ciesielski CA, Markowitz LE, Horsley R, Hightower AW, Russell H, Broome CV. Lyme disease surveillance in the United States, 1983-1986. *Rev Infect Dis Suppl* 6:1435-1441, 1989.
70. Lyme Organon. <http://www.lyme.org/img/galary/empatmas.jpg>
71. Smith R, Palmer S. Lyme disease surveillance and Wales, 1986-1998. *Emerg Infect Dis* 6(4):404-407, 2000.
72. Strle F, Nelson JA, Ruzic-Sabljić E, Cimperman J, Maraspin V, Lotric-Furlan S, Cheng Y, Picken MM, Trenholme GM, Picken RN. European lyme borreliosis: 231 culture-confirmed cases involving patients with erythema migrans. *Clin Infect Dis* 23(1):61-65, 1996.
73. Nadelman RB, Nowakowski J, Forseter G, Goldberg NS, Bittker S, Cooper D, Agüero-Rosenfeld M, Wormser GP. The clinical spectrum of early lyme borreliosis in patients with culture-confirmed erythema migrans. *Am J Med* 100(5):502-508, 1996.

74. Yeğenoğlu Y, Saylan T. *Borrelia burgdorferi* ve morphea. *Klinik Derg* 8(2): 89-91, 1995.
75. Shapiro ED. Tick-borne infections. In Laura De Young(ed): *Krugman's Infectious Diseases of Children*. Mosby-Year Book, Inc. St.Louis, Missouri, p:508-515. 1998.
76. Berglund J, Eitrem R, Ornstein K, Lindberg A, Ringer A, Elmrud H, Carlsson M, Runehagen A, Svanborg C, Norrby R. An Epidemiologic study of lyme disease in southern Sweden. *N Engl J Med* 333(20):1319-1325, 1995.
77. Gerber MA, Shapiro ED, Burke GS, Parcels VJ, Bell GL. Lyme disease in children in southeastern Connecticut. Pediatric Lyme Disease Study Group. *N Engl J Med* 335(17):1270-1274, 1996.
78. Halperin JJ. Nervous system lyme disease. *Infect Med* 17(8):556-560, 2000.
79. Asch ES, Bujak DI, Weiss M, Peterson MG, Weinstein A. Lyme disease: an infectious and postinfectious syndrome. *Rheumatol* 21(3):454-461, 1994.
80. McMannus BM, Babul S. Cardiovascular manifestation of lyme disease. *J Spiro Tick Diseases* 2(4):92-95, 1995.
81. Craft JE, Grodzicki RL, and Steere AC. Antibody response in lyme disease: Evaluation of diagnostic test. *J Infect Dis* 149(5):789-795, 1984.
82. Dattwyler RJ. New Serologic Approaches to the Diagnosis of LD. 10'th annular international scientific confarence on lyme disease and other tick-borne disorders. National Institutes of Healt. Bethesta, MD April 28-30, 1997.
83. Kalish RA, McHugh G, Granquist J, Shea B, Ruthazer R, Steere AC. Persistence of immunoglobulin M or immunoglobulin G antibody responses to *Borrelia burgdorferi* 10-20 years after active lyme disease. *Clin Infect Dis* 33(6):780-785, 2001.
84. Schell RF, Callister SM, Jobe DA. The borreliacidal antibody test. *J Spiro Tick Diseases* 4(1/2):4-6, 1997.
85. Berg D, Abson G, Prose NS. The laboratory diagnosis of lyme disease. *Archives of Dermatology* 127:866-870, 1991.
86. Aberer E, Duray Y. Morphology of *Borrelia burgdorferi*: Structural pattern of cultured *Borrelia* in relation to staining methods. *J Clin Microbiol* 29(4):764-772, 1991.
87. Hizel K. Lyme hastalığı. *Klinik Dergisi*. 10(1): 7-11, 1997.

88. Magnarelli LA, Anderson JF, Stafford III K. Detection of *Borrelia burgdorferi* in urine of *Peromyscus leucopus* by inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 32(3):777-782, 1994.
89. Nowakowski J, Schwartz I, Liveris D, Wang G, Aguero-Rosenfeld ME, Girao G, McKenna D, Nadelman RB, Cavaliere LF, Wormser GP. Laboratory diagnostic techniques for patients with early Lyme disease associated with erythema migrans: A comparison of different techniques. *Clin Infect Dis* 33(12):2023-2027, 2001.
90. Kuiper H, Van Dam AP, Spanjaard L, et al. Isolation of *Borrelia burgdorferi* from biopsy specimens taken from healthy-looking skin of patients with Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol* 32(3):715-720, 1994.
91. Barbour AL. Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. *Yale J Biol Med* 57:521-525, 1984.
92. Anderson JF, Magnarelli JA. Epizootiology of Lyme disease and methods of cultivating *Borrelia burgdorferi*. *Annals New York Academy of Sciences*. 653:52-63, 1992.
93. Kurtti TJ, Munderloh UG, Johnson RC, et al. Colony formation and morphology in *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol* 25(11):2054-2058, 1987.
94. Phillips SE, Mattman LH, Hulinska D, Moayad H. A proposal for the reliable culture of *Borrelia burgdorferi* from patients with chronic Lyme disease, even from those previously aggressively treated. *Infection* 26(6):364-367, 1998.
95. Marques AR, Stock F, and Gill V. Evaluation of new culture medium for *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol* 38(11):4239-4241, 2000.
96. Pahl A, Kuhlbrandt U, Brune K, Rollinghoff M, Gessner A. Quantitative detection of *Borrelia burgdorferi* by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 37(6):1958-1963, 1999.
97. Persing DH, Telford SR 3rd, Spielman A, Barthold SW. Detection of *Borrelia burgdorferi* infection in *Ixodes dammini* ticks with the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 28(3):566-572, 1990.
98. Padula SJ, Dias F, Sampieri A, Craven RB, Ryan RW. Use of recombinant OspC from *Borrelia burgdorferi* for serodiagnosis of early Lyme disease. *J Clin Microbiol* 32(7):1733-1738, 1994.
99. Magnarelli LA, Anderson JF. Absorption and biotin-streptavidin amplification in serologic tests for diagnosis of Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol* 29(9):1761-1764, 1991.

100. Russel H, Sampson JS, Schmid GP, Wilkinson HW, Plikaytis B. Enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunofluorescence assay for lyme disease. *J Infect Dis* 149(3):465-470, 1984.
101. Cutter SJ, Wright DJM. Predictive value of serology in diagnosing lyme borreliosis. *J Clin Pathol* 47: 344-349, 1994.
102. Grodzicki RL, Steere AC. Comparison of immunoblotting and indirect enzyme-linked immunosorbent assay using different antigen preparations for diagnosing early lyme disease. *J Infect Dis* 157(4):790-797, 1988.
103. Karlsson M. Western immunoblot and flagellum ELISA for serodiagnosis of lyme borreliosis. *J Clin Microbiology* 28(9):2148-2150, 1990.
104. Berger BW, Johnson RC, Kodner C, Coleman L. Cultivation of *Borrelia burgdorferi* from erythema migrans lesions and perilesional skin. *J Clin Microbiol* 30(2): 359-361, 1992.
105. Pavia CS, Kissel V, Bittker S, Cabello F, Levine S. Antiborrelial activity of serum from rats injected with the lyme disease spirochete. *J Infect Dis* 163(3):656-659, 1991.
106. Callister SM, Schell RF, Lovrich SD. Lyme disease assay which detects killed *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol* 29(9):1773-1776, 1991.
107. Hyde FW, Johnson RC, White TJ, Shelburne CE. Detection of antigens in urine of mice and humans infected with *Borrelia burgdorferi*, etiologic agent of lyme disease. *J Clin Microbiology* 27(1):58-61, 1989.
108. Coyle PK, Deng Z, Schutzer SE, Belman AL, Benach J, Krupp LB, Luft B.. Detection of *Borrelia burgdorferi* antigens in cerebrospinal fluid. *Neurology* 43(6):1093-1098, 1993.
109. Coyle PK, Schutzer SE, Deng Z, Krupp LB, Belman AL, Benach JL, Luft BJ. Detection of *Borrelia burgdorferi*-specific antigen in antibody-negative cerebrospinal fluid in neurologic lyme disease. *Neurology* 45(11):2010-2015, 1995.
110. Harris NS, Boyd GS. Detection of *Borrelia burgdorferi* antigen in urine from patients with lyme borreliosis. *J Spiro Tick Diseases* 2(2):37-41, 1995.
111. Burkot TR, Wirtz RA, Luft B, Piesman J. An OspA Antigen-Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for detecting North American isolates of *Borrelia burgdorferi* in larval and nymphal *Ixodes dammini*. *J Clin Microbiol* 31(2): 272-

- 278, 1993.
112. Burkot TR, Patrican L, Piesman J. Field trial of an outer surface protein A (OspA) antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes scapularis*. *Am J Trop Med Hyg* 50(3):354-358, 1994.
 113. Malloy DC, Nauman RK, Paxton H. Detection of *Borrelia burgdorferi* using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 28(6):1089-1093, 1990.
 114. Moter SE, Hofmann H, Wallich R, Simon MM, Kramer MD. Detection of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in lesional skin of patients with erythema migrans and acrodermatitis chronica atrophicans by ospA-Specific PCR. *J Clin Microbiol* 32(12):2980-2988, 1994.
 115. Schmidt BL, Aberer E, Stockenhuber C, Wagner Ch, Klade H, Breier F, Luger A. Detection of *Borrelia burgdorferi*-DNA in urine from patients with lyme disease. *J Spiro Tick Diseases* 2(4):76-81, 1995.
 116. Artsob H, Huibner S. Complement fixation test for the diagnosis of lyme disease. *J Clin Microbiol* 28(3):637-638, 1990.
 117. Pavia CS, Wormser GP, Bittker S, Cooper D. An indirect hemagglutination antibody test to detect antibodies to *Borrelia burgdorferi* in patients in lyme disease. *J Clin Microbiol* 40(2):163-173, 2000.
 118. Wong SJ, Brady GS, Dumler JS. Serological Responses to *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Borrelia burgdorferi* in Patients from New York State. *J Clin Microbiol* 35(9):2198-2205, 1997.
 119. Klade H, Aberer E. Late complaints after erythema migrans. *J Spiro Tick Diseases* 1(2):52-56, 1994.
 120. Steere AC. *Borrelia burgdorferi*(Lyme Disease, Lyme Borreliosis). In Mandel GL, Douglas RG, Bennet JB (ed). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Churchill Livingstone Inc-New York, p:1819-1827, 1990.
 121. Hofmeister EK, Childs JE. Ear biopsy location influences detection of *Borrelia burgdorferi* by PCR, but not by culture in naturally infected *Peromyscus leucopus*. *J Wildl Dis* 31(3):345-351, 1995.
 122. Goddard J. Tick Paralysis. *Infect Med* 15(1):28-31, 1998
 123. Couch P, Johnson CE. Prevention of lyme disease. *Am J Hosp Pharm* 49(5):1164-1173, 1992.

124. Sood SK, Salzman MB, Johnson BJ, Duration of tick attachment as a predictor of the risk of lyme disease in an area in which lyme disease is endemic. *J Infect Dis* 175(4):996-999, 1997.
125. Maiwald M, Oehme R, March O, Petney TN, Kimmig P, Naser K, Zappe HA, Hassler D, von Knebel Doeberitz M. Transmission risk of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from *Ixodes ricinus* ticks to humans in southwest Germany. *Epidemiol Infect* 121(1):103-108, 1998.
126. Wormser GP. Lyme disease: Insights into the use of antimicrobials for prevention and treatment in the context of experience with other spirochetal infections. *Mt Sinai J Med* 62(3):188-195, 1995.
127. Fikrig E, Barthold SW, Kantor FS, Flavell RA. Long-term protection of mice from lyme disease by vaccination with OspA. *Infect Immun* 60(3):773-777, 1992.
128. Sadziene A, Barbour AG. Experimental immunization against lyme borreliosis with recombinant Osp proteins: an overview. *Infection* 24(2):195-202, 1996.
129. Probert WS, Crawford M, Cadiz RB, LeFebvre RB. Immunization with outer surface protein (Osp) A, but not OspC, provides cross-protection of mice challenged with North American isolates of *Borrelia burgdorferi*. *J Infect Dis* 175(2):400-405, 1997.
130. Hagman KE, Lahdenne P, Popova TG, Porcella SF, Akins DR, Radolf JD, Norgard MV. Decorin-binding protein of *Borrelia burgdorferi* is encoded within a two-gene operon and is protective in the murine model of lyme borreliosis. *Infect Immun* 66(6):2674-2683, 1998.
131. Hanson MS, Cassatt DR, Guo BP, Patel NK, McCarthy MP, Dorward DW, Hook M. Active and passive immunity against *Borrelia burgdorferi* decorin binding protein A (DbpA) protects against infection. *Infect Immun* 66(5):2143-2153, 1998.
132. Cerillo C. Immune serum from rabbits infected with *Borrelia burgdorferi* B31 confers complete passive protection against homologous challenge. *J Spiro Tick Diseases*. 7(1):3-9, 2000.
133. Levine JF, Wilson ML, Spielman A. Mice as reservoirs of the lyme disease spirochete. *Am J Med Hyg* 34(2):355-360, 1985.
134. Straubinger R.K, Chang Y, Jacobson RH, Appel MJ. Sera from OspA-vaccinated dogs, but not those from tick-infected dogs, inhibit in vitro growth of *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol* 33(10):2745-2751, 1995.

135. Dolan MC, Maupin GO, Panella NA, Golde WT, Piesman J. Vector competence of *Ixodes scapularis*, *I. spinipalpis*, and *Dermacentor andersoni* (Acari:Ixodidae) in transmitting *Borrelia burgdorferi*, the etiologic agent of Lyme disease. *J Med Entomol* 34(2):128-35, 1997.
136. Iowa State University Entomology Department: <http://www.ent.ioastate.edu/imagega/tick/iscap/tickdissection>
137. Robertson JN, Gray JS, MacDonald S, Johnson H. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in blood donors and park rangers in relation to local habitat. *Zentralbl Bakteriol* 288(2):293-301, 1998.
138. Pierer K, Kock T, Freidl W, Stunzner D, Pierer G, Marth E, Lechner H, Mose JR. Prevalence of antibodies to *Borrelia burgdorferi* flagellin in Styrian blood donors. *Int J Med Microbiol Virol Parasitol Infect Dis* 279(2):239-243, 279.
139. Stafford KC 3rd, Cartter ML, Magnarelli LA, Ertel SH, Mshar PA. Temporal correlation between tick abundance and prevalence of tick infected with *Borrelia burgdorferi* and increasing incidence of lyme disease. *J Clin Microbiol* 36(5):1240-1244, 1998.
140. Tuncer D, Ögünç D, Çolak D, Öngüt G, Sayın F, Ergin Ç, Tuncer B, Mutlu G. Yüksek risk bölgeler ve şehirlerde *Borrelia burgdorferi* antikor prevalansı. *İnfeksiyon Derg* 13(3):325-328, 1999.
141. Çelik AF, Turgut H, Çetin ÇB, Yalçın AN, Kaleli İ. Denizli yöresinde *Borrelia burgdorferi* antikor sıklığının araştırılması. *İnfeksiyon Derg* 15(4):439-441, 2001.
142. Güney GA, İstanbulda Belgrad Ormanı'nda kenelerin incelenmesi ve *Ixodes ricinus*'larda *Borrelia burgdorferi* varlığının araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. İstanbul, 1999.
143. Göral G, Kılıçturgay K, Aydın L. Antibody prevalence against *Borrelia burgdorferi* in some villages in the province of Bilecik. *Tr J Med Sciences* 27:51-53, 1997.
144. Birinci F. Lyme hastalığı etkeni olan kene faunasının bölgemizde taksonomik ve biyolojik yönden araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı-Trabzon. 1995.
145. Aydın K, Köksal I, Çaylan R, Karagüzel A, Volkan S, Kaygusuz S, Öksüz R, Kostakoğlu U. Trabzon yöresinde lyme seropozitifliği. *İnfeksiyon Derg* 15(2):141-144, 2001.

146. Bushmich SL. Lyme borreliosis in domestic animals. J Spiro Tick Diseases 1(1):24-28, 1994.
147. Fridriksdottir V, Nesse LL, Gudding R. Seroepidemiological studies of *Borrelia burgdorferi* infection in sheep in Norway. J Clin Microbiol 30(5):1271-1277, 1992.
148. İzgür M, Arda M, Akay Ö, Esendal ÖM, Keskin O. Sığır kan serumlarında *Borrelia burgdorferi* antikorlarının floresan antikor tekniği ile Türkiye’de ilk kez saptanması. Ankara Üniv Vet Fak Derg 44:1-4, 1997.
149. Peter O, Bretz AG, Bee D. Occurrence of different genospecies of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in ixodid ticks of Valais, Switzerland. Eur J Epidemiol 11(4):463-467, 1995.
150. Taşçı S. Van bölgesinde sığır ve koyunlarda görülen kene türleri ile bunların taşıdığı kan parazitleri (protozoon) arasında ilişkiler. A Ü Vet Fak Derg 36(1):53-63, 1989.
151. Sayın F, Dumanlı N. Elazığ bölgesinde evcil hayvanlarda görülen kene (Ixodidae) türleri ile ilgili epizootiyolojik araştırmalar. A Ü Vet Fak Derg 29(3-4):344-362, 1982.
152. Yücel A, Çalışır B. Lyme hastalığı ve vektörleri. İçinde Özcel MA, Daldal N(ed): Parazitoloji’de artropod hastalıkları vektörler. Türkiye Parazitoloji Derneği yayın no:13, İzmir., s:335-357, 1997.
153. Falco RC, Fish D. Ticks parasitizing humans in a lyme disease endemic area of southern New York State.. Am J Epidemiol 128(5):1146-1152, 1988.
154. Strle F, Cheng Y, Nelson JA, Picken MM, Bouseman JK, Picken RN. Infection rate of *Ixodes ricinus* ticks with *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, and *Borrelia burgdorferi sensu stricto* in Slovenia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 14(11):994-1001, 1995.
155. Walker ED, Smith TW, DeWitt J, Beaudou DC, McLean RG. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* in host-seeking ticks (Acari: Ixodidae) from a lyme disease endemic area in northern Michigan. J Med Entomol 31(4):524-528, 1994.
156. Aeschlimann A, Chamot E, Gigon F, Jeanneret JP, Kessler D, Walther C. *Borrelia burgdorferi* in Switzerland. Zentralb Bakteriolog Mikrobiol Hyg (A) 263:450-458, 1986.
157. Feir D, Santanello CR, Li BW, Xie CS, Masters E, Marconi R, Weil G. Evidence

- supporting the presence of *Borrelia burgdorferi* in Missouri. *Am J Trop Med Hyg* 51(4):475-482, 1994.
158. Patrican LA. Acquisition of lyme disease spirochetes by cofeeding *Ixodes scapularis* ticks. *Am J Trop Med Hyg* 57(5):589-593, 1997.
159. Demirci M. Isparta yöresinde kene ısırığı öyküsü olanlarda lyme hastalığı seropozitifliği. *İnfeksiyon Derg* 15(1):17-20, 2001.
160. Saygı G. Temel tıbbi parazitoloji. Esnaf Ofset Matbacılık, Sivas, 1998.
161. Arzouni JP, Laveran M, Beytout J, Ramousse O, Raoult D. Comparison of western blot and microimmunofluorescence as tools for lyme disease seroepidemiology. *Eur J Epidemiol* 9(3):269-273, 1993.
162. Burek V, Misic-Mayerus L, Maretic T. Antibodies to *Borrelia burgdorferi* in various population groups in Croatia. *Scand J Infect Dis* 1992;24(5):683-684, 1992.
163. Arteaga F, Perez F. Risk factor associated with the presence of antibodies against *Borrelia burgdorferi*. *Rev Clin Esp* 199(3):136-141, 1999.
164. Weber K, Burgdorfer W. The cradle of lyme borreliosis. *J Spiro Tick Diseases* 1(2):35-36, 1994.
165. Birengel S, Boşca A, Kurt H, Tekeli E. Sağlıklı bireylerde ve bazı hasta gruplarında lyme seropozitifliği. *Flora*. 4(1):51-57, 1999.
166. Hızal K, Ulutan F, Aktaş F. Lyme hastalığı ile uyumlu bulgusu olan hastalarda *Borrelia burgdorferi* antikörlerinin araştırılması. *İnfeksiyon Derg* 11(2):87-91, 1997.
167. Utaş S, Kardeş Y, Doğanay M. *Borrelia burgdorferi* ile ilişkili olabilecek semptomları olan hasta grubunun lyme serolojisi yönünden değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bülteni* 28:106-112, 1994.
168. Flisiak R, Zabicka J. Epidemiologic situation of lyme borreliosis in Europe. *Przegl Epidemiol* 49(4):375-379, 1995.
169. Erensoy A. Elazığ Yöresinde lyme (*Borrelia burgdorferi*)'nin Yaygınlığının Araştırılması(Doktora Tezi). Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü-ELAZIĞ. 1995.

Ek-1

ANKET FORMU

Sıra No.	Tarih.	Adı Soyadı.	Adresi.	Cinsiyeti	Yaşl.	İşl.	Kene ısırığı öyküsü	E.M. benz. lezyon öyküsü
1.								
2.								
3.								
4.								
5.								
6.								
7.								
8.								
9.								
10.								
11.								
12.								
13.								
14.								
15.								
16.								
17.								