

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**KÖPEKLERDE LYME HASTALIĞI PREVALANSININ
ELISA İLE ARAŞTIRILMASI**

**MURAT VURUCU
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Yrd. Doc. Dr. Uğur PARIN**

AYDIN-2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Murat VURUCU tarafından hazırlanan “**Köpeklerde Lyme Hastalığı Prevalansının ELISA ile Araştırılması**” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 19/01/2016

Üye : Prof.Dr. Şükrü KIRKAN

ADÜ



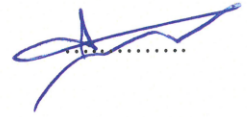
Üye : Doç.Dr. Esra ŞEKER

AKÜ



Üye(Tez Danışmanı):Yrd.Doç.Dr. Uğur PARIN

ADÜ



ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince destek ve yardımlarını gördüğüm Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Şükrü KIRKAN'a, ayrıca ilgi ve yardımlarını hiçbir zaman eksik etmeyen danışmanım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Uğur PARIN'a, Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve Araştırma Görevlilerine teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın numune toplama aşamasında yardımlarını esirgemeyen Uzm. Vet. Hek. Nur Çayır PEKOĞUZ eşi Emin PEKOĞUZ, Vet. Hek. Serdar AKÇAN ve Vet. Hek. Güzeli Altürk ÖCEK' teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca yardımlarını ve destekleri esirgemeyen Uzm. Vet. Hek. Albay Ahmet YILMAZ, Dr. Vet. Hek. Albay Fikret KİL, Uzm. Vet. Albay Kemal ÖZKAYA ve Uzm. Vet. Hek. Ümit Cenk KAHRAMAN'a teşekkür ederim.

En sıkıntılı anlarımda bana anlayış gösteren, her zaman destek olan, ne olursa olsun bana sevgi, şefkat ve güler yüz ile yaklaşan aileme, hayatıma yeni giren ve güler yüzüyle moral kaynağı olan kızıma çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Tarihçe	3
2.2. Etiyoloji	4
2.3. Epidemiyoloji	9
2.4. Patogenezis	14
2.5. Bulgular	16
2.5.1. Klinik Bulgular	16
2.5.2. Laboratuvar Bulguları	19
2.5.2.1. <i>Borrelia burgdorferi</i> 'nin Doğrudan Saptanması	19
2.5.2.1.1. Mikroskopi	19
2.5.2.1.2. Kültür	20
2.5.2.1.3. Boyama Yöntemleri	21
2.5.2.1.4. PCR	22
2.5.2.1.5. Ribotipleme	23
2.5.2.2. Serolojik Tanı	23
2.5.2.2.1. IFA	23
2.5.2.2.2. IHA	24
2.5.2.2.3. ELISA	24
2.5.2.2.4. Western Blot	25
2.5.2.2.5. BOS Serum Antikor İndeksi	25
2.6. Tedavi ve Korunma	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30

3.1. Hayvan Materyali	30
3.2. Laboratuvar Muayeneleri	30
3.2.1. Testte Kullanılan Materyaller	31
3.2.2. ELISA Testinin Uygulanması	32
3.2.3. Sonuçların Yorumlanması	34
3.3. Spesifite ve Sensitivite	34
4. BULGULAR	35
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ.....	53

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat Derece
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
BSKII	: Barbour Stoener Kellys II
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
DEET	: Diethyl-meta-toluamide
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EIA	: Enzyme Immuno-Assay
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EM	: Eritema Migrans
HRP	: Horseradish peroxidase
IFA	: Indirect Immunofluorescence Assay
IgM	: İmmunglobülin M
IHA	: Indirect Hemagglutination Assay
IM	: Inner Membran
İm	: İntramuskuler
İv	: İntravenöz
Kg	: Kilogram
LB	: Lyme Borreliozis
LPS	: Lipopolisakkarit
Mg	: Miligram
MNL	: Mononükleer Lenfosit
OM	: Outer Membrane
Osp	: Outer surface protein
P	: Protein
PCR	: Polimeraze Chain Reaction
RNA	: Ribonükleik Asit
Sc	: Subkutan
TMB	:Tetramethylbenzidine
TNF	: Tümör Nekrosis Faktör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>B. burgdorferi</i> ve <i>E. coli</i> 'nin membranlarının karşılaştırması.....	6
Şekil 2. Lyme hastalığının vektörü <i>Ixodes</i> türü kenelerin dünyadaki dağılımı.....	9
Şekil 3. Amerika Birleşik Devletlerinde 2010, 2011 ve 2012 yıllarında <i>Borrelia burgdorferi</i> pozitif bulunan köpeklerin bölgelere göre yüzde dağılımları.....	10
Şekil 4. <i>Borrelia burgdorferi</i> 'nin enzootik döngüsü.....	13
Şekil 5. Yüzey proteinlerinin durumu.....	14
Şekil 6. AŞISIZ ve tedavi edilmemiş köpeklerde OspA, OspC ve OspF'ye karşı antikor yanıtları.....	28

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> 'nun genotipleri ve yayılımı.....	7
Tablo 2. Patojen, az patojen ve nonpatojen <i>Borrelia</i> etkenlerine ait vektör ve görüldükler bölgeler.....	8
Tablo 3. <i>Borrelia burgdorferi</i> 'nin teşhis yöntemleri.....	19
Tablo 4. Lyme Borreliozis tanısı için kullanılan mikrobiyolojik teşhis yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları.....	26
Tablo 5. Numenelerin toplandığı bölgeler, araştırılan köpek sayısı, seropozitif köpek sayıları ve yüzdeleri.....	35
Tablo 6. Hayvanlara ait tür, yaş, cinsiyet, klinik şikayet, kene enfestasyonu anamnezi, numunenin alındığı mevsim, alındığı yer ve ELISA sonuçları.....	37
Tablo 7. Farklı yaş gruplarına göre <i>Borrelia burgdorferi</i> seropozitifliği.....	41

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. <i>B. burgdorferi</i> görüntüleri	5
Resim 2. <i>B. burgdorferi</i> 'nin elektromikroskopta dış membran kabarcıkları	6
Resim 3. Işık mikroskobunda <i>Ixodes ricinus</i>	12
Resim 4. Lyme hastalığı vektörü <i>I. Scapularis</i>	12
Resim 5. Lyme hastalıklı bir köpekte artrit bulgusu	17
Resim 6. İnsanlarda Lyme hastalığında görülen eritema migrans	18
Resim 7. Alcian Mavisiyle boyanan <i>B. burgdorferi</i> hücresinin ince kesitinin elektromikroskopta görünümü	21
Resim 8. Serum tüpleri ve ependorflara aktarılmış serumlar	31
Resim 9. ELISA kit içeriği	32
Resim 10. Otomatize Mikropleyt Yıkama Cihazı	33
Resim 11. ELISA Mikropleyt Okuyucu Cihaz	33
Resim 12. ELISA reaksiyonunda kullanılan mikropleyt	33

ÖZET

KÖPEKLERDE LYME HASTALIĞI PREVALANSININ ELISA İLE ARAŞTIRILMASI

**Vurucu M. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2015.**

Lyme hastalığı Amerika ve Avrupa'da en sık görülen kene kaynaklı multisistemik hastalıktır. Ülkemizde de yaygın olduğu düşünülmekte bununla birlikte yapılan seroprevalans çalışmaları oldukça az sayıdadır. Bu çalışmada, İzmir ve çevresinde Lyme borreliyosis seroprevalansının tespit edilmesi ve hastalığın yerleşim yerleri, cinsiyet, yaş grupları, ırksal yatkınlığın belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya İzmir ve çevresinden toplanan 92 adet serum dahil edilmiştir. Örnekler anti-*Borrelia* IgG antikorlarının belirlenmesi amacıyla ELISA yöntemi ile test edilmiştir. ELISA ile, örneklerin 5 adedinde (% 5,4) IgG pozitifliği bulunmuştur. Elde edilen bulgular, İzmir ilinde bulunan genç ve ırk köpeklerin Lyme hastalığına yakalanma riskinin bulunduğunu, hastalığın engellenmesi ve halk sağlığının korunması için gerekli tedbirlerin alınması gerektiğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Köpek, Borreliosis, Lyme hastalığı, *Borrelia burgdorferi*, ELISA, *Ixodes*.

ABSTRACT

DETERMINATION OF PREVALENCE OF CANINE LYME DISEASE WITH ELISA

Vurucu M. Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Department of Microbiology, Master Thesis, Aydın, 2015.

Lyme disease is a multisystemic disease and frequently seen in Europe and United States. The disease is considered to be prevalent in our country, however, the seroprevalence studies are insufficient. For this reason, it is aimed to detect the seroprevalence and aerial distribution, gender and age specificity and species predisposition for Lyme Borreliosis in İzmir region. A total of 92 sera samples are tested in this study by ELISA method in order to detect anti-*Borrelia* IgG antibodies. As a result, 5 (5.4 %) of the samples were found to be seropositive. The results indicate that there is an infection potential in young and full bred dogs in İzmir region and the appropriate precautions has to be taken for prevention of the disease and protection of public health.

Keywords: Dog, Borreliosis, Lyme Disease, *Borrelia burgdorferi*, ELISA, *Ixodes*.

1. GİRİŞ

Lyme hastalığı veya Lyme Borreliozis, bir spiroket olan *Borrelia burgdorferi sensu lato* tarafından insanlarda ve hayvanlarda oluşturulan, multisistemik ve zoonotik karakterde kene kaynaklı bir enfeksiyondur (Skotarczak, 2014). Lyme hastalığı ilk kez çocuklar ve yetişkinlerde alışılmadık sayıda artritis salgını olarak 1976 yılında Connecticut'ta rapor edilmiştir. Daha sonradan hastalığa kene kaynaklı spiroket bakterilerinin neden olduğu bulunmuştur (Beltz, 2011). Lyme hastalığının tanımlanmasından sonra, birçok evcil ve yabani memeli hayvan türünde de *B. burgdorferi* enfeksiyonu ve buna bağlı hastalık olguları saptanmıştır. Yabani memeli hayvanlarda görülen asemptomatik enfeksiyonların aksine köpek, sığır, koyun, keçi, at ve kedi gibi birçok evcil memeli hayvanda *B. burgdorferi* enfeksiyonuna bağlı hastalık olguları meydana gelmektedir (İzgür ve ark, 1997).

Borrelia burgdorferi izole edildiğinden itibaren biyolojisi ve patogenezi mekanizmaları, bugüne kadar yoğun araştırmalara konu olmuştur. Ayrıca hastalığa karşı aşı ve tedavinin geliştirilmesi için dikkate değer finansal yatırımlar yapılmıştır. Buna rağmen birçok konu açıklığa kavuşturulmamıştır. Lyme hastalığına duyulan bu ilgi hastalığın birçok bilinmeyişi olması ve sağlık sektöründe yarattığı korkudan kaynaklanmaktadır. (Şen, 2006).

Ülkemizde ilk kez saf kültür olarak tespitinin yapılabilmesi 2003 yılında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada İstanbul çevresi ve Trakya'dan toplanan *Ixodes ricinus* türü kenelerden *Borrelia burgdorferi*'nin Lyme Borreliozise neden olduğu bilinen tüm türleri (*Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, *Borrelia lusitaniae*, *Borrelia valasiana*) moleküler yöntemlerle yapılan analizlerin sonucunda tespit edilmiştir. Elde edilen türlerin antijen yapıları incelenmiş ve yurdumuzdaki varlığı kesinleştirilmiştir (Şen,2003; Şen, 2006).

Lyme hastalığı çoğunlukla Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya ülkelerinde görülmektedir. Vektörle bulaşan diğer hastalıklarda olduğu gibi Lyme hastalığının epidemiyolojisi de vektörü olan kenenin yaşayabildiği iklim ve ekolojik şartlara göre belirlenir (Wormser 1998, Little ve ark, 2014; Pintore, 2014). Ülkemizde çeşitli bölgelerde Lyme hastalığına yönelik prevalans çalışmaları ve olgu bildirimleri olmasına karşın (Uslu, 2008; Bhide, 2008) geniş epidemiyolojik araştırma bulunmamaktadır. Sağlık Bakanlığı verilerine göre ülkemizde 2010 yılına kadar yaklaşık 60 olgu bildirilmiştir (Sağlık Bakanlığı, 2011).

Köpeklerde görülen ve insan sağlığı açısından da risk oluşturan Lyme hastalığı Dünya çapında yaygın olarak bilinmesine karşın ülkemizde veteriner sahada yapılan çalışmalar oldukça az sayıdadır. Bu alışma ile İzmir ve çevresinde insanlarla i içe yaşayan sahipli ve sahipsiz köpeklerde Lyme hastalığının tespiti yapılarak hastalığın bölgedeki seroprevalansının araştırılması, hastalığın saptandığı bölgelerde gerekli önlemlerin alınması amacıyla veteriner hekimler ile beşeri hekimlere literatür işığında bölgesel bir veri sunulması ve ileriki çalışmalara yön verilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

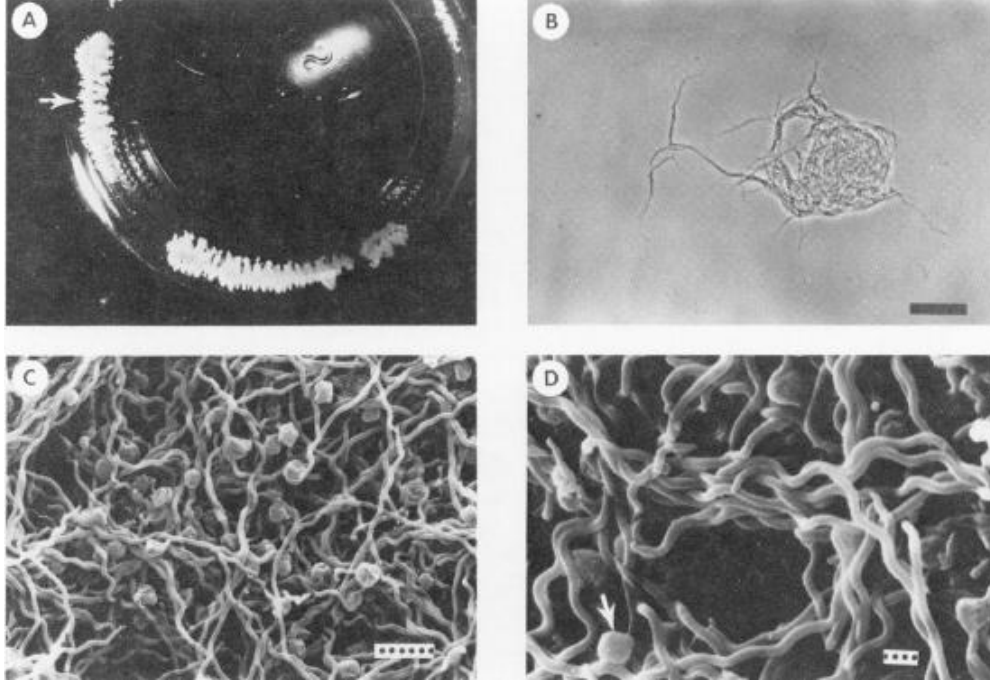
Ekim 1975'te ABD'nin Connecticut Eyaletinin Lyme kasabasında birbirlerine yakın yaşayan iki anne juvenil romatoid artrit olduğu düşünülen çocuklarını Connecticut Eyalet Sağlık Dairesine bildirmiştir. Old Lyme ve Doğu Haddam Connecticut'ta iltihabi eklem hastalığı olan tüm çocukları tespit etmek amacıyla bir denetim sistemi organize edilmiştir. Bir yıllık süre içerisinde bulunan artrit olgularında büyük eklemlerde şişlik (özellikle diz eklemi) ve ağrı ile tekrarlayan benzer tipte kısa ataklar karakteristik olmuştur (Baranton ve ark, 1992). Veliler ve etkilenen komşu çocuklarında görülen artrit tiplerinin benzer olduğu bulunmuştur. Ayrıca juvenil romatoid artrite göre görülme sıklığı 100 kat fazla saptanmıştır. Hastalığın çoğunlukla yaz ve sonbahar dönemlerinde başladığı ayrıca artrit başlangıcından 4 hafta önce deride ürtikerler görüldüğü kaydedilmiştir. Bu cilt lezyonlarının onlarca yıl önce Avrupa'da açıklanan eritema migrans ile uyumlu olduğu bulunmuştur. Ancak Lyme sakinlerinde görülen Lyme artritini denenen hastalığın önceden tanınmayan klinik bir durum olduğu düşünülmüştür. Yale araştırmacıları eritema migrans hastalarını ileriye dönük izlemiştir. Birçoğunda sonradan artrit gelişmiş ve bazılarında da nörolojik ve kardiyolojik anormallikler görülmüştür. Böylece karmaşık multi-sistem bozukluğu tanınmış ve Lyme artrit adı Lyme hastalığı olarak değiştirilmiştir. Ayrıca hastalığın vektörü *Ixodes scapularis* olarak tespit edilmiştir (Kahl ve ark, 2002).

Lyme hastalığı ajanının keşfi beklenmedik bir şekilde New York Long Island'da kene ve Riketsiyaların araştırması (Burgdorfer ve ark, 1982) sırasında yapılmıştır. *Dermacentor variabilis* kenelerinde Rocky Mountain benekli ateş hastalığının etkeni bulunamamış ve araştırmacılar bu etkeni taşıma ihtimali olan ve bolca bulunan *I. scapularis (dammini)* gibi diğer kenelerde bulunabileceğini tahmin etmişlerdir. Sindirim sistemi incelenen bir kısım kenede Riketsiyalar bulunamamıştır. Fakat oldukça uzun kötü lekeli düzensiz sarmal spiroketler gözlenmiştir. Bu bakteri Barbour Stoener Kellys II (BSK II) agar olarak bilinen ve modifiye Kelly's agarda izole ve kültüre edilmiştir. Bu organizmanın immunofloresans deneyleri yapılan Lyme hastalarının serumlarıyla etkileşimi görüldükten sonra bu bakteri Lyme hastalığı ile ilişkilendirilmiştir (Burgdorfer ve ark, 1982; Barbour, 1984). Kısa bir süre sonra spiroketler Lyme hastalarının bir kısmının serebrospinal sıvı, deri ve kanından izole edilmiştir (Kahl ve ark, 2002).

2.2. Etiyoloji

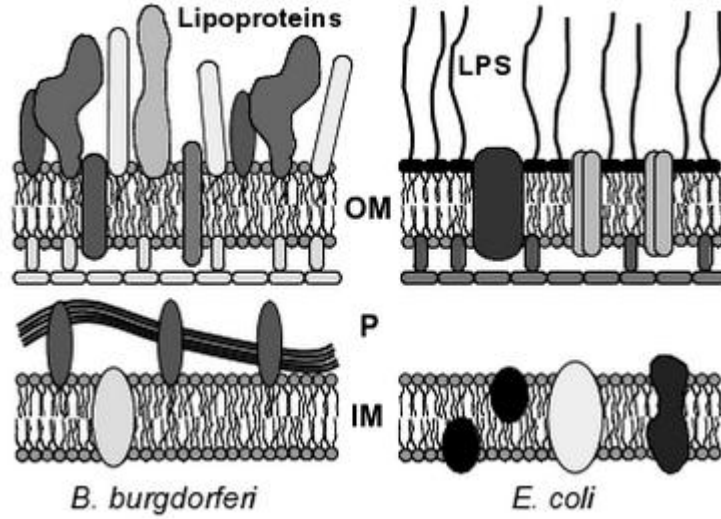
Lyme Hastalığı veya Lyme Borreliozis etkeni bir spiroket olan *Borrelia burgdorferi sensu lato*'dur. *Borrelia burgdorferi* 0,2-0,5 x 3-20 µm boyutlarındadır. Gram negatif, sporsuz, kapsülsüz, hareketli ve mikroaerofilik bir mikroorganizmadır (Cunha ark, 2000). Gram negatif olmasına karşın anilin boylarıyla boyanmayan etken Giemsa ve gümüşleme teknikleri ile ise iyi boyanır (Arda ve ark, 1997). Etken karanlık saha mikroskopunda oldukça büyük ve sarmal bir yapıda görülmektedir. Üretilmesi için özel besiyerine ihtiyaç duyan *B. burgdorferi*, en iyi Barbour-Stoenner-Kelly-II (BSK-II) besiyerinde 30-35 °C arasında ve mikroaerobik koşullarda üreme gösterir (Barbour, 1984; Van Dam ve ark, 1993; Arda ve ark, 1997). Kolonilerin besi yeri üzerinde kabarıklık meydana getirmediği ve ortalama çapı 0,8 mm olan iki farklı koloni oluşturduğu bildirilmektedir. Birisi düzgün kenarlı, çok yüzlek, konveks yapıda düz koloniler; diğeri ise granüler ve diffuz yapıda olan kaba kolonilerdir. Bunların dışında intermedier formların da varlığı rapor edilmektedir (Sargın, 2007).

Borrelia diğer spiroketlerle ortak özelliklere sahiptir. Hücreler helezon şeklindedir. Hücre duvarı protoplazmik silindir kompleksi sarar, ve bu kompleks sitoplazma membran ve peptidoglikandan oluşur. Flagellası diğer bakterilerde olduğu gibi dış yüzeyde konumlanmamıştır. Protoplazmik yüzeyde hücre zarı ile protoplazmik silindir arasında konumlanmıştır (Burgdorfer, 1986). Bakterinin dış yüzeyinde, S-tabakası adı verilen mukopolisakkarit örtü görülür (Jonsson ve ark, 1992). Bu örtünün altında, 6-14 adet iç kamçının bulunduğu periplazmik boşluğu çevreleyen üç katmanlı dış zar vardır. İç kamçılar spiroketin yılan şeklinde olmasını ve burğu hareketi ile yer değiştirmesini sağlarlar (Hayes ve ark, 1988). *Borrelia*'lar en küçük genoma sahip bakteriler arasındadır ve DNA'ları linear yapıdadır (Tokdemir, 2012). *B. burgdorferi*, düşük G+C içeriği (% 30 mol), 910,7 kb uzunluğunda lineer kromozomu ve lineer veya yuvarlak plazmidleri ile diğer bakterilerden farklı bir genoma sahiptir (Şen, 2006). *Borrelia* türleri, ortam sıcaklığı 2°C üzerinde olduğunda bütün bir yıl boyunca aktif kalabilmektedir. Kurutma ve ultraviyole ışığı ile hızla öldükleri halde -73 °C'de aylarca canlılık ve virulansını koruduğu tespit edilmiştir (Meço ve Birengel, 2000).

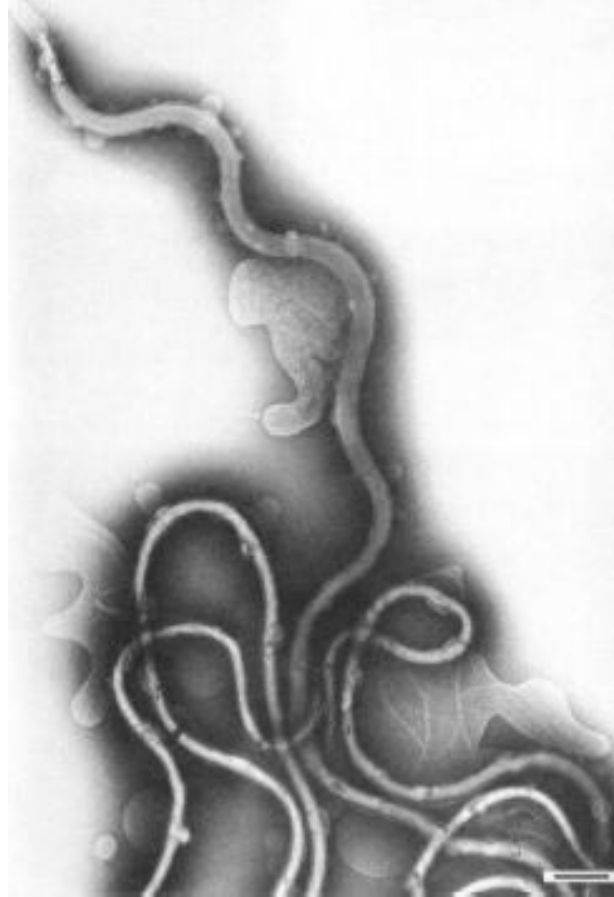


Resim 1. *B. burgdorferi* görüntüleri: A) İnsan kanından izole edilen etkenin BSK-II ihtiva eden ortamda karakteristik dalları okla gösterilmiştir. B) *Ixodes ricinus*'dan elde edilen etkenin erken pasajının faz kontrast mikroskobunda görüntüsü. C) Toplanan fare Spiroket izolatlarının elektromikroskopla görüntülenmesi. D) Tarama elektro fotomikrografi görüntüsü. Ok ile dış zar kabarcığı gösterilmiştir (Alan ve Barbour, 1984).

Spiroketin dış zarının kese veya balon benzeri çıkıntı yaptığı ve yüzey proteinlerini içeren plazmidler görülmektedir. Plazmidler üzerindeki genler tarafından dış yüzey proteinleri kodlanır. *B. burgdorferi sensu lato*'nun dış zarından 10'un üzerinde polipeptit tanımlanmıştır. Bu dış yüzey proteinleri (Osp) üzerinde yapılan araştırmalar sonucu 6 tane Osp belirlenmiştir. Bunlar Osp A-F'dir (Fikrig ve ark, 1992). *B. burgdorferi sensu lato*'nun dikkat çekici özelliği ise diğer bakterilerin yavaş ya da hareketsiz oldukları bağ doku gibi yapışkan ortamlarda etkili biçimde yüzme yeteneğidir (Guiqing ve ark, 1999). *B. burgdorferi sensu lato* hareketliliği için intersitisyel sıvı gibi benzer ortamlar gereklidir. Ayrıca virulans çalışmalarında; kendiliğinden oluşan flagellasız ve hareketsiz mutant türler, hareket özelliğinin organizmada patojenite açısından önemini göstermektedir. *B. burgdorferi*'nin membran yapısı Gram negatif bakterilerden farklılık gösterir. Örneğin *B. burgdorferi sensu lato*'nun membran proteinleri kovalent bağla lipitlere bağlanmıştır ve bol miktarda bulunmaktadır. Diğer karakteristik özelliği ise fosfatidiletionalamine ve lipopolisakkaritin olmaması ve LPS dışındaki antijen varlığıdır (Kahlve ark, 2002).



Şekil 1. *B. burgdorferi* ve *Escherichia coli*'nin membranlarının karşılaştırması (Kahl ve ark, 2002).



Resim 2. *B. burgdorferi*'nin elektromikroskofta dış membran kabarcıkları (Barbour ve ark, 1986).

Lyme hastalığına *Borrelia burgdorferi sensu lato* türlerinin asgari 11 farklı genomik türü neden olmaktadır. Bu genomik türlerin adlandırılması, benzer protein kalıplarının karakterizasyonu, monoklonal antikorların reaktivitesi, yüzey proteinlerinin aminoasit

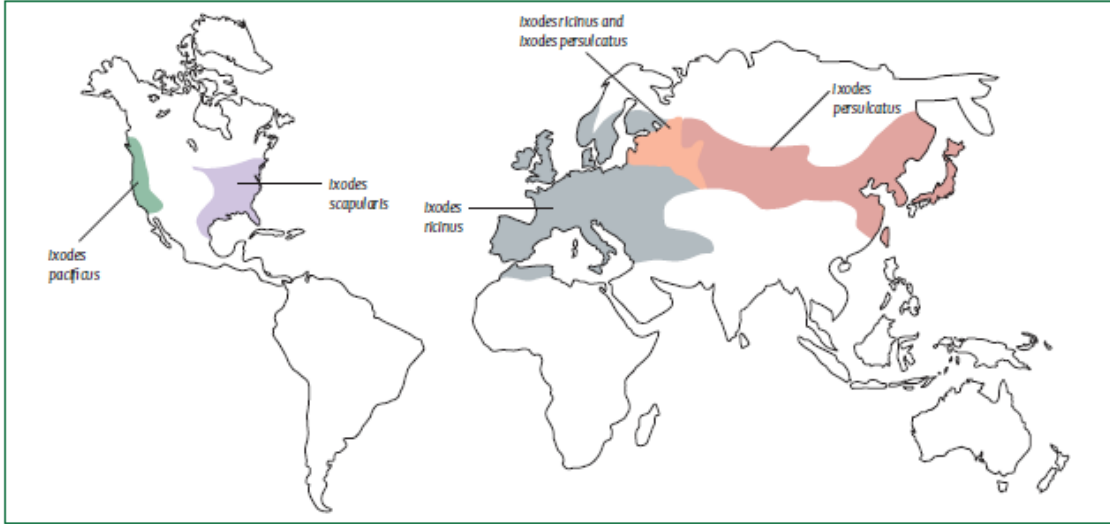
sekansı, 16S rRNA analizi, Southern Blot ve Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) analizleri, 16S rRNA, flab B ve 5S-23S rRNA intergenik ara halka sekansı ile olmaktadır. Lyme hastalığı ile ilgili yapılan çalışmalarda *B. burgdorferi*'den başka *B. garinii* ve *B. afzelii*'nin de bu hastalığa neden oldukları tespit edilmiştir (Wang ve ark, 1999).

Tablo 1. *Borrelia burgdorferi sensu lato*'nun genotipleri ve yayılımı (Kahl ve ark, 2002).

<i>Borrelia</i> Türleri	Coğrafi Dağılımı
<i>Borrelia burgdorferi s.s.</i>	Avrupa ve Kuzey Amerika
<i>Borrelia garinii</i>	Avrupa ve Asya'nın bir bölümü
<i>Borrelia afzelii</i>	Avrupa ve Asya'nın bir bölümü
<i>Borrelia valaisiana</i>	Orta Avrupa, İngiltere, Hollanda ve İrlanda
<i>Borrelia lusitaniae</i>	Portekiz, Tunus, Orta ve Doğu Avrupa
<i>Borrelia bissettii</i>	Slovenya ve Kuzey Amerika
<i>Borrelia japonica</i>	Japonya
<i>Borrelia tanuci</i>	Japonya
<i>Borrelia sinica</i>	Çin
<i>Borrelia turdii</i>	Japonya
<i>Borrelia andersoni</i>	Kuzey Amerika

Tablo 2. Patojen, az patojen ve nonpatojen *Borrelia* etkenlerine ait vektör ve görüldükleri bölgeler (Steere ve ark, 2004).

Patojenik Türler	Başlıca kene vektörleri	Bölgeler
<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Ixodes scapularis</i> <i>Ixodes pacificus</i> <i>Ixodes ricinus</i>	Kuzeydoğu ve Kuzey Amerika Birleşik Devletleri, Batı Amerika Devletleri Avrupa
<i>Borrelia garinii</i>	<i>Ixodes ricinus</i> <i>Ixodes persulcatus</i>	Avrupa Asya
<i>Borrelia afzelii</i>	<i>Ixodes ricinus</i> <i>Ixodes persulcatus</i>	Avrupa Asya
Az patojenik ve nonpatojenik türler		
<i>Borrelia andersonii</i>	<i>Ixodes dentatus</i>	Doğu Amerika Birleşik Devletleri
<i>Borrelia bissettii</i>	<i>Ixodes spinipalpis</i> <i>Ixodes pacificus</i>	Batı Amerika Birleşik Devletleri
<i>Borrelia valaisiana</i>	<i>Ixodes ricinus</i>	Avrupa ve Asya
<i>Borrelia lusitaniae</i>	<i>Ixodes ricinus</i>	Avrupa
<i>Borrelia japonica</i>	<i>Ixodes avatus</i>	Japonya
<i>Borrelia tanukii</i>	<i>Ixodes tanukii</i>	Japonya
<i>Borrelia turdae</i>	<i>Ixodes tardus</i>	Japonya
<i>Borrelia sinica</i>	<i>Ixodes persulcatus</i>	Çin



Şekil 2. Lyme hastalığının vektörü *Ixodes* türü kenelerin dünyadaki dağılımı (Stanek ve ark, 2011).

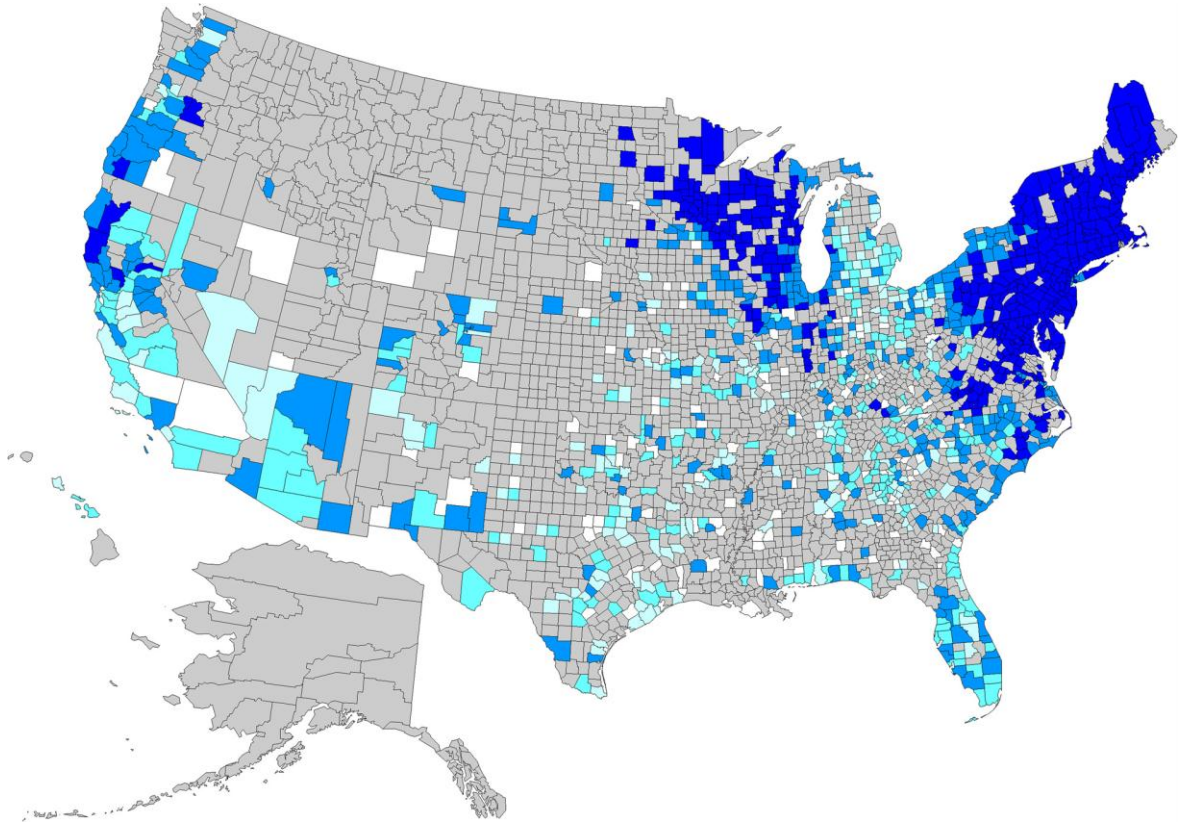
2.3. Epidemiyoloji

Lyme hastalığı bir spiroket olan *B. burgdorferi sensu lato* tarafından oluşturulmaktadır. Son çalışmalarda özellikle Avrupa, Asya ve Amerika'da kenelerle bulaşan en önemli hastalıklardan biri olduğu belirlenmiştir (Little ve ark, 2014; Pintore, 2014; Nadelman ve Wormser, 1998). Hastalığın varlığı İsveç ve Norveç başta olmak üzere İskandinav ülkeleri, Hollanda, Almanya, İngiltere, İtalya, İspanya, Fransa, Polonya, Avusturya, Eski Yugoslavya ülkeleri, Bulgaristan ve Eski Sovyetler Birliği'nde rapor edilmiştir. Bunların dışında Çin, Japonya ve Avustralya'dan da vakalar bildirilmiştir (Doby ve ark, 1988; McKenna ve ark, 1995; Wormser, 1998; Bauerfeind ve ark, 1998; Goossens ve ark, 2000; Speck S. ve ark, 2002; Little ve ark, 2014; Pintore, 2014; Dziegiel ve ark, 2015).

Lyme hastalığının Amerika'da rapor edilen kene kaynaklı hastalıklardan en yaygını olduğu, 1982'de Amerika'da Lyme hastalığı için bir takip sistemi kurulduğundan beri 100.000 den fazla vaka rapor edilmiş olup her yıl vaka sayısında 20 kat artış olduğu bildirilmiştir. ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (CDC) tarafından 1982'de başlatılan araştırmalarda 1997'ye kadar seropozitifliğin 25 kat arttığına görüldüğü belirtilmiştir. Avrupa ve Amerika'da, çeşitli karakterlerde ortaya çıkan bu hastalıkta üzerinde uzlaşmamış birçok önemli vakanın da bulunduğu düşünülüyor ifade edilmiştir (Özeren, 2009). Lyme hastalığının başta ABD (50 eyaletin 47'sinde olmak üzere), Avrupa, Rusya ve komşu ülkeleri, Çin, Japonya ve Avustralya'da da varlığı saptanmıştır. ABD'de vektör

kaynaklı infeksiyon hastalıklarından en çok karşılaşılanıdır ve yılda yaklaşık 30 bin yeni vaka kaydedilmektedir (Kahl ve ark, 2002). Vakaların % 95'i toplam 12 eyaletten bildirilmesine rağmen, en sık kuzeydoğu bölgesini etkilemekte ve vaka sayısı her yıl giderek artmaktadır (CDC, 2011).

2010 ve 2012 yılları arasında Amerika birleşik devletlerinde 6 996 197 köpekten toplanan sonuçlar *Borrelia burgdorferi* açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada eş zamanlı olarak *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia ewingii*, *B. burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, ve *Anaplasma platys*, ve *Dirofilaria immitis* antijenleri için de çalışılmıştır. *Borrelia* en çok kuzeydoğu bölgesinde elde edilmiştir. Tüm bu numuneler 50 şehir ve 1 778 ilçede bulunan 30 milyonu aşkın veri noktalarından alınan köpeklerden elde edilmiştir. Tüm bölgelerde ortalama seroprevalans % 7,2 bulunmuştur (Little ve ark, 2014).



Şekil 3. Amerika Birleşik Devletlerinde 2010, 2011 ve 2012 yıllarında *Borrelia burgdorferi* pozitif bulunan köpeklerin bölgelere göre yüzde dağılımları. Sonuç bulunmayan bölgeler gri renkte, pozitif sonuç alınamayan bölgeler (Pozitif % 0) beyaz renkte, % 0,1-% 0,5 bölgeler açık mavi %0,5- %1 mavi, % 1,1- %5 koyu mavi ve >%5 çok koyu mavi (Little ve ark, 2014).

Lyme hastalığı etkeni olan *B. burgdorferi*'ye baslıca *Ixodes* türleri vektörlük yapar. Hastalığın görüldüğü bölgelerde, keneler için rezervuar olan beyaz ayaklı fareler (*Peromyscus leucopus*), geyikler ve çeşitli kemirgenlerin yaşadığı ormanlık, kırlık bölgeleri kapsar. *Ixodes* türlerinin yeryüzündeki dağılımı ile bu durum uygunluk gösterir (Satır, 2006; Radolf ve ark, 2012).

Yurdumuzda ilk Lyme vakaları 1990 yılında iki farklı araştırmacı grubu tarafından yayınlanmıştır. Lyme konusunda yurdumuzda yapılan çalışmalar toplu olarak 1995 yılında VI. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresinde Yücel ve arkadaşları tarafından tartışılmıştır. Öztürk ve arkadaşları ise 1997 yılında İstanbul'dan bir Lyme olgusu bildirmişlerdir. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından 1995 yılında başlatılan çalışma kapsamında, Trakya, Marmara ve Karadeniz bölgelerinden toplanan kenelerin tür tayini yapılarak *B. burgdorferi* varlığı araştırılmış ve ilk *Borrelia* izolasyonu, Polat ve arkadaşları (2010) tarafından Karadeniz bölgesinden (Ünye-Bartın) toplanan *Ixodes ricinus* türü kenelerin ikisinden gerçekleştirilmiştir. Çalışır ve arkadaşları 2000 yılında İstanbul Belgrad ormanlarından topladıkları *I. ricinus* türü kenelerden *Borrelia* türlerini izole etmişler ve ayrıca 2002 yılında Türkiye'nin iki değişik bölgesinden topladıkları kenelerde *Borrelia spp.* varlığını araştırmışlardır (Polat ve ark, 2010).

Lyme hastalığının Avrupa ülkelerinin çoğunda, bildirilmesi zorunlu bir hastalık olduğu belirtilmektedir. Ülkemizde ise az bilinen ve bildirilmesi zorunlu olmayan bir infeksiyon hastalığı olması nedeniyle hastalığın az görüldüğünün veya insidansının ve prevalansının düşük olduğunun ileri sürülmesinin yanlış olacağı ifade edilmektedir (Şen, 2006).

Lyme hastalığı köpek, at, sığır ve koyun gibi hayvan türleri ile birlikte insanlarda görülür. Hastalık keneler aracılığı ile bulaştırılır. Hastalığın yayılmasında öncelikli vektör *Ixodes* keneleridir. *Ixodes* cinsi sert keneler birçok memeli, kuş ve sürüngen konakçıya yapışarak ve onlardan beslenerek *Borrelia* türünü naklede (Arda ve ark, 1997).

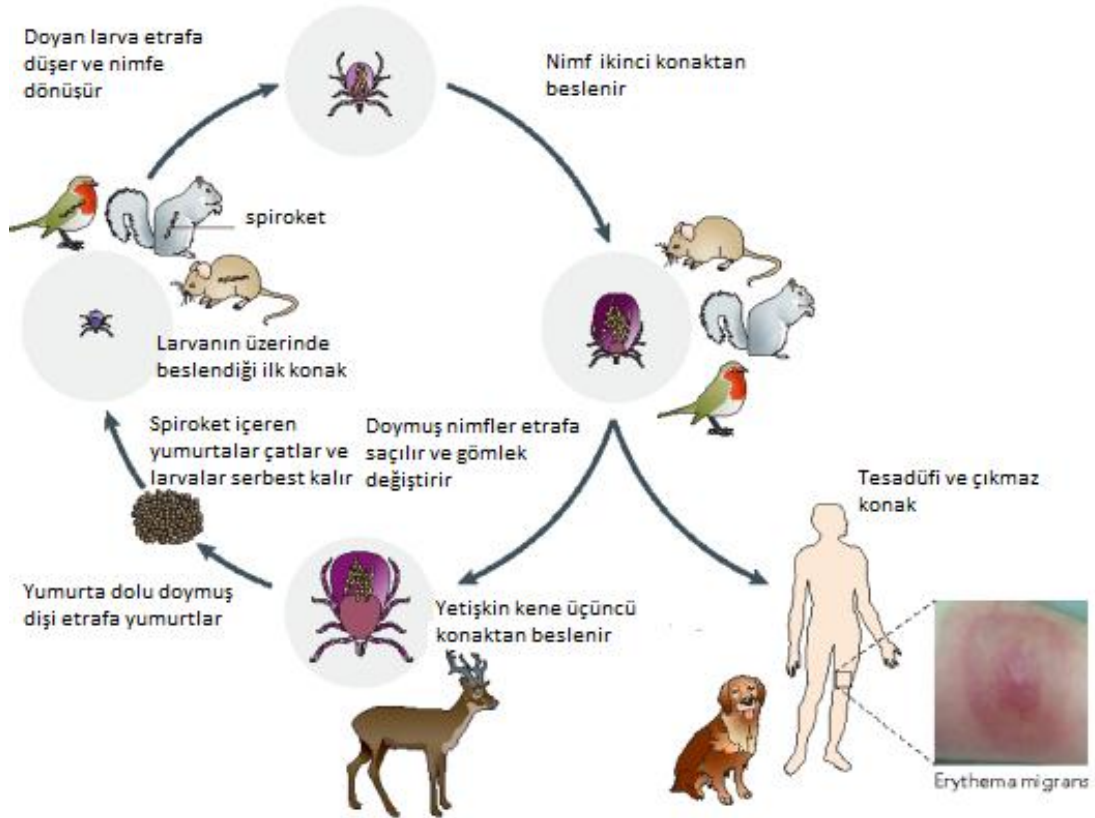


Resim 3. Işık mikroskopunda *Ixodes ricinus* (Hengge ve ark 2003).



Resim 4. Lyme hastalığı vektörü *I. scapularis* (Nadelman and Wormser 1998).

Ixodes spp. üç hayat döngüsüne sahiptir. Bunlar larva, nimf ve ergindir (Schwan ve ark, 1995). Devamlı ateş nedeni olan bazı *Borrelia* türleri yetiştikten yumurtaya geçmesine rağmen, *Borrelia burgdorferi* için bu mümkün değildir. Her yeni jenerasyon yeni infeksiyonu almalıdır. Larvalar fare sincap ve kuşların olduğu *Peromyscus* türlerinden pek çok farklı hayvandan beslenir. *Borrelia burgdorferi* infeksiyonu infekte taşıyıcı hayvandan beslenmesi yoluyla edinilir. Bu bakteri beslenme ve değişim aşamaları boyunca korunur. Nimfler larva konaklarının bulunduğu bölgelerde beslenir. Bir sonraki larvalara enzotik döngü için spiroketlerin bulaştırılması ve nimflerin etkin taşıyıcı konaklardan beslenmesi gerekir. Lyme hastalığı için genellikle birinci rezervuar küçük memeliler olduğu düşünülmesine rağmen; çalışmalarda geniş mesafelerde Lyme spiroketlerinin yayılmasında göçmen kuşların öneminin olduğuna dikkat çekilmiştir. Vahşi hayatta *Borrelia burgdorferi*'nin korunmasında yetiştik kenelerin pek önemi yoktur. Çünkü baskın olarak geyik gibi *B. burgdorferi* için etkisiz konaklardan beslenirler. Ancak geyikler kene popülasyonunun devamlılığı için önemlidir çünkü yetiştik keneler geyiklerin üstünde çiftleşir (Radolf ve ark, 2012).

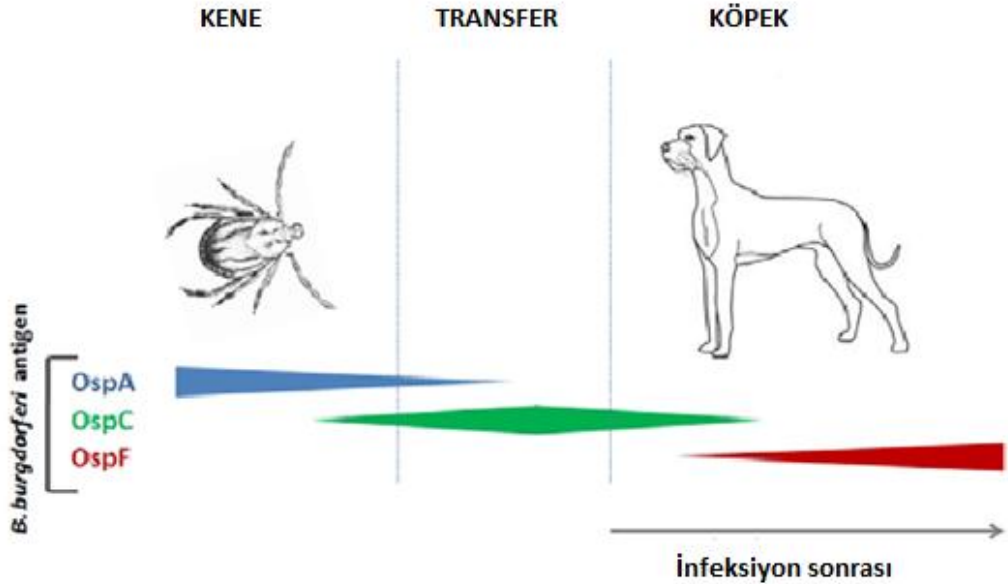


Şekil 4. *Borrelia burgdorferi*'nin enzootik döngüsü (Radolf ve ark, 2012).

Kenelerin üç formunun da insanlardan beslenmesine rağmen, spiroketlerin bulaştırılmasında büyük oranda nimfler sorumludur. İnsanlarda larva formunun beslenmesi sırasında spiroketlerin bulaşıp bulaşmadığı bilinmemektedir. İnsanlar son konak olarak düşünülmüştür ve enzootik döngünün bir parçası değildir. Muhtemelen köpekler de tesadüfi konaktır ve enzootik döngünün bir parçası değildirler (Radolf ve ark, 2012).

2.4. Patogenesiz

Ixodes kenelerinin *B. burgdorferi* ile enfekte olabilmeleri için enfekte rezervuar konaklardan beslenmelidir. Bunlar genellikle rodentlerdir (Merrill ve ark, 2012). *B. burgdorferi* sensu lato, enfekte kenelerin duyarlı bir hayvan üzerinde beslenmesi sırasında bu duyarlı hayvana bulaşır (Arda ve ark, 1997). Keneler beslenmeye başlamadan önce, *Borrelialar* kenelerin midesinde bulunur ve beslenme sırasında kenenin kan emmesiyle birlikte etkenler kenenin tükürük bezlerine geçer. Bulaşmanın gerçekleşmesi için kenenin konakta asgari 48 saat kan emmesi gerekmektedir (Merrill ve ark, 2012). Kenenin kan emmesini takiben etkenin dış yüzey proteinlerinin (outer surface protein, Osp) ekspresyonunda bir değişiklik meydana gelir. (Arda ve ark, 1997).



Şekil 5. Yüzey proteinlerinin durumu (Cornell Üniversitesi, 2014).

Yüzey proteinleri kenenin midesinde ospA seklindedir. Bakteri kenenin beslenmesi sırasında mideyi terk eder ve OspC'ye ekprese olur. OspC infeksiyondan önce korunma amacıyla rol oynar (Cornell Üniversitesi, 2014). OspA'nın OspC'ye ekprese olması şeklinde meydana gelen bu değişiklik etkenin virulans kazanması için çok önemli bir basamaktır (Arda ve ark, 1997). Köpeğin vücudundaki çevresel yanıtlardan sonra bakteri yüzey proteinini değiştirir. Kronik infeksiyon sırasında OspC zamanla kaybolur ve OspF'ye ekprese olur (Cornell Üniversitesi, 2014). Alışılmadık yüzey proteinlerinin, hem memeli konakta hemde kenede hayatta kalma yeteneği ve memeli bağışıklık sisteminden korunma gibi benzersiz özelliklerinde payı olma olasılığı çok yüksektir (Kahl ve ark, 2002).

İnfekte kenenin kan emdiği sırada duyarlı konakçının kan dolaşımına giren *Borrelia*'lar burada çoğalırlar ve kan dolaşımı vasıtasıyla bütün vücuda yayılırlar. Etken özellikle bağlantılı dokulara ve sinoviyal sıvılara göç ederek persiste infeksiyona neden olur (Merrill ve ark, 2012). Bu yayılma sonucunda infekte hayvanların eklemlerinde, beyinde, sinir sisteminde, gözlerinde ve kalbinde etkene rastlanabilir. (Arda ve ark, 1997). Deride mononükleer fagositik hücrelerden ve granülositlerden meydana gelen ve derinin lenfoid hiperplazisini takiben yangısal yanıt meydana gelir. Etkenin tüm vücuda yayılması immun yanıtın baskılanması sonucu kolaylaşır ve spiroketten etkilenen dokularda lenfoplazmositik infiltrasyon oluşur ve bu durum *B. burgdorferi*'nin hücre duvarında lipopolisakarit benzeri bir madde olan interlökin-1'in monositlerden salınımına neden olur (Greene, 1990; Greene, 1991). İnterlökin-1'in salınımı direkt olarak damarlarda daralmaya, dokularda bozukluğa, polimorf nükleer nötrofillerin mobilize edilmesine, vasküler permeabilitenin azalmasına ve yüksek ateşe sebep olur. Hastalık etkeni eklem sıvısı, deri, beyin omurilik sıvısı, miyokard, iskelet kasları, kemik iliği, dalak, karaciğer, böbrek ve retina yerleşerek multisistemik infeksiyon bulgularını oluşturur (Koneman ve ark, 1997). Lyme hastalığına bağlı artritisin oluşumunda sinoviyal doku içinde yangının oluşumuna neden olan immun komplekslerin ve hücre duvarındaki interlökin-1'in salınımının rol oynadığı bildirilmiştir (Beck ve ark, 1987). Lyme hastalığında Tümör Nekrosis Faktör (TNF), interferon gamma ve yangısal hücrelerin boyun omurilik sıvısında bulunan nörotoksik etkili quinolinik asidin salınımına bağlı olarak ensefalopati oluşmaktadır (Steere ve ark, 2004).

Spiroketin yayılmasında lyme hastalığındaki immun cevabın başlangıçta baskılanması önemli bir faktördür. Haftalar içinde periferik kan Mononükleer Lenfosit (MNL) *Borrelia burgdorferi* antijenleri veya mitojenlerine karşı aşırı yanıt gelişir. Spesifik IgM cevabı 3. veya 6. haftalarda pik yapar ve sıklıkla poliklonal B hücre aktivasyonu ile ilgilidir. Total serum

IgM düzeyleri, sirküle immün kompleksler, kriyoglobulinler artar. Spesifik IgG cevabı aylar sonra yavaş yavaş artar (Bayar, 2000). Etkene karşı konakçı immün sisteminin yanıtı birçok klinik bulgu ortaya çıkmasına neden olur (Merrill ve ark, 2012).

İnsanların ve hayvanların enfeksiyonu doğal ve kazanılmış immünolojik yanıtı harekete geçirir. Güçlü humoral ve hücreli immünolojik yanıtı rağmen Lyme enfeksiyonu konakta kalmaya devam eder. Devamlılığı sağlayan virulans faktörleri, OspC gibi immünojenik yüzey proteinlerinin ekspresyonunun baskılanması ve değişken majör protein benzeri dizi ifadesi olarak bilinen yüzey lipoproteininin antijenik özelliklerinin rekombinasyonla hızlı ve sürekli olarak değiştirilmesidir. Spiroketlerin ekstrasellüler matriksteki çeşitli komponentlere bağlanma yetenekleri de devamlılığa katkı sağlamaktadır (Tokdemir, 2012; Steere ve ark, 2006).

Borrelia etkenlerinin ürettiği bilinen toksini yoktur. Doku hasarlarının çoğu konağın inflamatuvar yanıtından kaynaklanmaktadır. Yangısal cevabın şiddeti enfeksiyona neden olan *Borrelia* türüne göre değişir (Tokdemir, 2012; Strle ve ark, 2009; Hengge ve ark, 2003).

2.5. Bulgular

2.5.1. Klinik Bulgular

Lyme enfeksiyonlarının çoğu subklinik karakterdedir. Endemik bölgelerde hayvan ve insanlarda enfeksiyonun sıklıkla şekillendiği serolojik taramalarla ortaya konulabilir. Lyme hastalığında semptomlar, etkenin lokalize olduğu vücut bölgesi ile ilişkili olarak ortaya çıkar. Semptomlar en çok köpeklerde bildirilmiştir. Köpeklerde görülen semptomlar arasında ateş, bitkinlik ve artrit ile birlikte kalp, böbrek ve sinir sistemine ait belirtiler şekillenir. ABD'de en sık görülen semptom artrit iken, Avrupa ve Japonya'da ise nörolojik bozukluklar ön plana çıkar. Artrite bağlı olarak köpeklerin sıklıkla bir veya nadiren her iki arka bacağında şekillenen topallık Lyme hastalığı için oldukça tipiktir (Arda ve ark, 1997). Topallık 3-4 gün sürer. Etkilenen köpekler sert hareketlerle tutuk yürüyebilirler, sırtları kamburlaşabilir ve dokunmayla hassasiyet görülebilir (Max, 2008). Topallık, enfeksiyondan 2-5 ay sonra görülür. Topallık kenenin ısırıldığı en yakın bacakta şekillenmektedir (Merrill ve ark, 2012).



Resim 5. Lyme hastalıklı bir köpekte artrit bulgusu

En az 1 yıl klinik olarak tedavi edilmemiş köpeklerde iyileşme inatçı olabilir. 1992’de bir raporda Lyme hastalığının klinik belirtilerini gösteren köpeklerin % 5-10 arasında seropozitiflik bulunmuş. Bu yüzden endemik bölgelerde küçümsenmeyecek orandadır (Cornell Üniversitesi, 2014). Ateş, anoreksi ve depresyon artrite eşlik edebilir. Yüzeysel servikal veya popliteal lenf nodüllerinde şişlik görülebilir. Nadir olarak tam kalp bloku ve nörolojik komplikasyonlar rapor edilmiştir. Hastalarda böbrek yetmezliği gelişebilir. Atlarda görülen topallık, üveitis, nefritis, hepatitis ve ensefalitis gibi bozukluklar köpeklerde görülenler ile aynı karakterdedir. Sığır ve koyunlarda da *B. burgdorferi sensu lato* infeksiyonları bildirilmiştir (Max, 2008).

Labrador ve golden retriever ırkları Lyme nefropatiye yatkınlık gösterirler. İnsan ve köpeklerde nörolojik hastalıkta (nöroborreliozis) görülen nöbetler ve davranış bozukluklarının *Borrelia* infeksiyonuna dayandığı belgelenmiştir. Fakat bununla ilişkili belgeler yetersizdir. Aynı şekilde köpeklerde kardiyak aritminin *B. burgdorferi*’ye maruz kalmanın neden olduğu kanıtlanmış ama nedensellik hala belirsizdir (Merrill ve ark, 2012).

İnsanlarda kenenin ısırıldığı yerde oluşan eritema migrans (EM) karakteristiktir. Ancak bu deri lezyonunun köpeklerde geliştiğine dair bir bulgu yoktur (Merrill ve ark, 2012).

Hastalığın serolojik olarak pozitif seyrettiği köpeklerde deride eritemler veya hemorajilerin varlığı tespit edilmiştir (Eugster ve ark, 1985). Endemik bölgelerde yaşayan köpeklerde genişleyen eritemlere karın ve az kıllı bölgelerde rastlanılmış, ancak bu lezyonların EM ile bir ilişkisi olduğu belirlenmemiştir (Greene ve ark, 1988).

İnsanlarda Lyme hastalığı kas ve iskelet sistemi dışında kardiyovasküler ve nörolojik bozukluklara neden olmaktadır. (Steere, 2001).

Lyme hastalığı insanlarda genellikle deri, eklem, kalp ve santral sinir sistemini tutan bir hastalıktır. Ayrıca diğer spiroket enfeksiyonlarında olduğu gibi değişik klinik dönemleri vardır (Steere, 2001). Klinik seyir erken lokalize enfeksiyon, erken yaygın enfeksiyon ve geç enfeksiyon olarak 3 aşamada izlenir (Stanek ve ark, 2011). Erken lokalize enfeksiyonu takip eden günler veya haftalar sonrasında erken yaygın hastalık, aylar süren sessiz-latent bir dönemden sonra ise progresif ilerleyen geç enfeksiyon görülebilir (Steere, 2001).



Resim 6. İnsanlarda Lyme hastalığında görülen eritema migrans (Stanek ve Strle 2003).

2.5.2. Laboratuvar Bulguları

Borrelia burgdorferi'nin mikrobiyolojik teşhisi etkenin doğrudan saptanması ve serolojik olarak çizelgedeki şekilde başlıklar altında toplanabilir (Uslu, 2008; Agüero ve ark, 2005).

Tablo 3. *Borrelia burgdorferi*'nin teşhis yöntemleri

<i>Borrelia burgdorferi</i> 'nin teşhis yöntemleri	
<i>B. burgdorferi</i>'nin doğrudan saptanması	Mikroskopi
	Kültür
	Boyama Yöntemleri
	PZR
	Ribotipleme
Serolojik Tanı	İndirek floresan antikor testi (IFA)
	İndirekt Hemaglütinasyon Testi (IHA)
	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA, EIA)
	Western blotting
	Beyin omurilik sıvısı(BOS), serum antikor indeksi

2.5.2.1. *B. burgdorferi*'nin Doğrudan Saptanması

2.5.2.1.1. Mikroskopi

Farklı çalışmalara göre spiroketlerin mikroskopik görüntülenmesi farklı doku ve sıvıların gümüş boyama veya floresan teknikleri ile olmaktadır. *B. burgdorferi* sıkça, ilerleyen deri lezyonlarının sınırından alınan deri biyopsilerinin incelenmesiyle bulunur. EM lezyonlarının mikroskopik duyarlılığı farklılıklar gösterebilir. Fakat modifiye gümüş boyanın (Bosne-Stener) hassaslığı Koning tarafından %100 olarak rapor edilmiştir. Mikroskopik metot kullanılarak sinoviyal sıvı, serebral sıvı, infekte kene ve hayvanlardan alınan infekte dokulardan etken tespit edilmiştir (Cunha ve ark, 2000).

Bu amaçla deri biyopsi ve kan örnekleri kullanılabilir. Biyopsi örnekleri gümüşleme yöntemi ile boyanarak spiroket araştırılır. Kan örneklerinde ve beyin-omurilik sıvısı (BOS) örneklerinden yapılan yaymalar Giemsa ile boyanarak incelenebilir. Boyama sonucu spiroketin görülmemesi Lyme hastalığının tanısını ekarte etmemektedir. Klinik şüphe varsa, kültür ya da diğer serolojik testler yapılmalıdır. Direkt incelemede spiroketlerin görülmesi durumunda sonucun spesifik antiserumlarla ya da florasan antikör yöntemiyle doğrulanması gerekir. Çok kullanılan bir yöntem değildir (Aguero ve ark, 2005).

2.5.2.1.2. Kültür

İlk başarılı *in vitro* izolasyonun gerçekleşmesi 1982 yılında Burgdorfer ve arkadaşları tarafından New York ve Shelter Island'dan toplanan yetişkin *I. scapularis* kenelerinden elde edilen spiroketlerin Kelly's agar ekilmesiyle olmuştur. *B. burgdorferi* karmaşık gelişme şartlarına sahiptir. Stonner tarafından modifiye edilerek büyüme faktörü içeren Yeastolate ve CMRL 1066 eklenen bu agar tuz, glikoz, piruvat, jelatin, sodyum bikarbonat ve N-asetil glukozamin içerir. BSK-II ileri geliştirmelerde CMRL 1066 besiyerinden glutamin çıkarılmıştır. Ortamın pH'sı 7,6'ya ayarlanmış ve % 6 tavşan serumu eklenmiştir. İlk örnekler kapaklı tüplerle karbondioksit kaybını önlemek için kapaklı tüplere konulmuş ve 30-37 °C'de birkaç hafta inkübasyona bırakılmıştır. Bu organizmalar mikroaerofiliktir ve tüpün dip kısmında daha iyi ürerler. Bu üreme 10-12 saattir. Akridin oranj ve immosteiring kullanılarak karanlık saha ve floresans mikroskop ile incelenen ve taşınan tüm kültürlerde üreme belirlenmiştir (Cunha ve ark, 2000).

Her üç dönemde alınan deri lezyonlarından kültür yapılabilir. Kültür için en çok tercih edilen besiyeri modifiye Kelly besiyeridir. Etken, 30-33°C'de ve mikroaerofilik ortamda daha iyi ürer. Deri lezyonlarının sayısı ve büyüklüğü arttıkça kültürden elde edilen başarı oranı da artmaktadır. Kültürün en iyi sonuç verdiği erken dönemde bile başarı oranı % 45-50 kadardır (Aguero ve ark, 2005). *B. burgdorferi* EM deri lezyonlarının ilerleyen kenarlarından alınan deri örneklerinde en iyi üretilir. Deri lezyonlarından etkenin belirlenmesi; kan, serobrospinal sıvı ve sinoviyal sıvı gibi klinik materyellerden daha az başarılıdır (Cunha ve ark, 2000). Hastalığın hemen başlangıcında kan, BOS, sinoviyal sıvı veya deri biyopsilerinden izolasyonun zor olduğu bildirilmektedir. Kan ve BOS'nın eritrositlerini ayırmak için, önce düşük, sonra spiroketleri toplamak için yüksek hızda santrifüj edilmesi üremeyi artırabilmektedir. Mikroaerobik şartlarda, ancak 4-6 günde 4×10^8 kob/ml yoğunluğunda bir

üreme elde edilebilir. Ancak marazi maddeden kültür için kullanılan BSK-II medium, hazırlanması zor, pahalı ve kısa ömürlü bir besiyeridir (Sargın, 2007).

2.5.2.1.3. Boyama Yöntemleri

BOS, kan, doku ve kültürde *Borrelia saptanması* için Giemsa, karbol fuksin, gümüşleme teknikleri kullanılır. Gram boyama bakterinin morfolojisini değitirebileceği için tercih edilmez. Mikroskopi tanı koymak için yeterli değildir. Kültür, seroloji ve diğer yöntemlerle sonuç onaylanmalıdır (Şen, 2006).



Resim 7. Alcian Mavisile boyanan *B. Burgdorferi*'nin ince kesitinin elektronmikroskopta görünümü. Oklar boyanın dış hücre zarındaki düzensiz dağılımını göstermektedir (Barbour and Hayes, 1986).

2.5.2.1.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Lyme Borreliozisin laboratuvar tanısı için moleküler teknik olarak öncelikle temel PCR metodlarından yararlanılmıştır. Kromozomal olarak kodlanmış *Borrelia burgdorferi* sensu lato geninin spesifik olarak belirlenmesinde PZR'nin ilk kullanıldığı 1989'da rapor edilmiştir. Daha sonra diğer çeşitli PZR protokolleri klinik örneklerde etkenin DNA'sının belirlenmesinde geliştirilmiştir. Hastaların vücut sıvılarında ya da enfekte dokularındaki spiroketlerin miktarı oldukça düşüktür. PZR'nin hassaslığı *B. burgdorferi* DNA'sının taşınması, depolanması ve hazırlanması sırasında azalabilir (Aguero ve ark, 2005).

B. burgdorferi bilimsel çalışmalardan elde edilen klinik materyallerden bir çok kere polimeraz zincir reaksiyonu PZR kullanılarak teşhis edilmiştir. Primer takımlar ospA, flagellar genle birlikte kromozal sekansları zenginleştirerek ortaya çıkarmak için kullanılır. Mikroskoptaki gibi PCR da deri lezyonlarında yüksek hassaslığa sahiptir (Cunha ve ark, 2000). Hastalığın daha geç evrelerinde PCR etkenin gösterilmesi amacıyla, kültürden daha iyi bir tanı aracı olabilir. Ancak yüksek duyarlılığa sahip olmasına rağmen bakterinin biyolojik örneklerde yetersiz olması, canlı-ölü bakteri ayırımı yapamaması, yalancı pozitiflikler klinik kullanımı sınırlandırmaktadır (Aguero ve ark, 2005).

PZR, bir çeşit "*in vitro* klonlama"dır ve özet olarak izole edilen veya patolojik materyallerde bulunan hedef genetik materyallerin (DNA veya RNA), spesifik kısa zincirli oligonükleotid primerler yardımıyla enzimatik olarak sayısal çoğaltılması şeklinde tanımlanabilir. Bu hedef genetik materyal çok az sayıda ve hatta birçok veya sayısız diğer veya ilgisiz DNA 'lar arasında olsa bile çoğaltılabilir ve homojen bir DNA materyali haline getirilebilir ve kolayca da identifiye edilebilir (Arda, 2000).

Satır (2006) tarafından İstanbul ilinde farklı barınak ve kliniklerde bulunan 96 adet köpekten alınan kan örneklerinin DNA ekstraktları ile yapılan Konvansiyonel ve Nested PCR çalışmaları sonucunda *B. burgdorferi* DNA'sı yönünden pozitiflik saptanmamıştır. Yapılacak sonraki çalışmalarda parazitologlarla birlikte köpeklerin üzerindeki kenelerin tür tayini ve PZR ile etkenin tespitinin yararlı olacağı vurgulanmıştır. Ayrıca klinik belirti gösteren ve üzerinde çok sayıda kene bulunan köpeklerden etkenin araştırılmasıyla seropozitifliğin artacağı belirtilmiştir.

2.5.2.1.5. Ribotipleme

16S rRNA sekanslarının analizine dayanarak *B. burgdorferi* tiplendirmesi ve tanısı yapılabileceği öne sürülmüştür. Bu yöntemde, RNA ters transkripsiyonundan sonra uygun DNA parçaları özgül veya evrensel primerler kullanılarak amplifiye edilmiştir. PCR ürünleri problemlerle hibridizasyon veya doğrudan sekanslama ile tanımlanmıştır. Eritema migrans bu yöntemlerle incelenmiş, hibridizasyonda BBU30 probu kullanılmıştır. rRNA molekülündeki doğal amplifikasyon (her bakteride 10^3 - 10^4 kopya) nedeniyle ters transkripsiyonda yüksek oranda duyarlılık elde edilir, ancak bu teknik henüz standart duruma getirilmemiştir ve deneysel olarak izolatları tanımlamada kullanılmaktadır (Uslu, 2008).

2.5.2.2. Serolojik Tanı

Lyme hastalığının tanısında en sık kullanılan testler serolojik testlerdir. Ancak serolojik testlerden elde edilen pozitif sonuçlar tek başına Lyme hastalığının tanısı için yeterli değildir. Bu testlerin pozitifliği klinik tablonun varlığında anlamlıdır (Stanek ve ark, 2011).

Hastalık Kontrol Merkezi (CDC) aktif ya da geçirilmiş LB in serolojik tanısında iki aşamalı bir yaklaşım önermektedir. Birinci basamakta ELISA ya da IFA testi yapılır. Serolojik testlerin duyarlılığı yüksek olduğu için elde edilecek negatif sonuçlara daha ileri çalışma önerilmemektedir. Pozitif ya da sınırda bir değer bulunduğu çıkan sonuçların IgG ve IgM Western blot testleri ile doğrulanması önerilmektedir. Erken dönem olgularda serolojik testler negatif çıkabilmektedir (Bhate ve ark, 2010).

2.5.2.2.1. İndirekt Floresans Antikor Testi (IFAT)

Hem ELISA hem de IFA testi Lyme hastalığına karşı oluşan immunoglobulin G (IgG) ve IgM türü antikorları tespit etmek amacıyla kullanılan ilk aşama testlerdir. IgM antikorları infeksiyondan hemen sonra ortaya çıkar, 2-6 hafta pozitif kalır, sonra da hızla azalır (Bhate, 2010). BSK besiyerinde üretilen spiroketler, antijen olarak kullanılır ve lam üzerinde metanol veya asetonla fiks edilir. Özgül olmayan boyamayı önlemek için *Borrelia*'ların kümelenmemesi gerekir, mikroskop alanında en çok 50 spiroket bulunmalıdır ve en az 6 kez yıkama yapılmalıdır. Polivalen konjugatlar kullanılarak özgül antikor varlığı, immunoglobulin sınıfına özgü konjugatlar kullanılarak da IgG ve IgM antikorları saptanır. Çapraz reaksiyon

nedeniyle özgül olmayan sonuçlar ve romatoid faktör varlığında yanlış negatif sonuçlar elde edilebilir (Aguero ve ark, 2005).

Hastanın serumundaki özgül antikorların miktarı IFA testi ile, bir slaytın üzerine yayılmış bütün hücreler immunofloresan mikroskopta incelenerek belirlenebilir. Fakat sonuçlar değişken olabilir ve gözlemcinin deneyimine bağlıdır (Bhate ve ark, 2010).

Sargın (2007) tarafından IFA testi kullanılarak Van kedilerinde Lyme hastalığının seroprevalansı üzerine yapılan çalışmada 90 kediden 12'sinde (%13,33) seropozitiflik tespit edilmiştir. Araştırmada kullanılan iki farklı grupta Van Kedisi Araştırma Merkezinde barındırılan 70 kedinin 12'si (%17,14) seropozitif olarak değerlendirilirken, Van ili merkezinde aileler yanında barındırılan 20 kedinin tümü seronegatif olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada da yapılan istatistiksel analizler sonucunda diğer araştırmacıların bildirdiklerine paralel olarak seropozitivite ile yaş ve cinsiyetin hastalık açısından önemsiz olduğu tespit edilmiştir. Lyme Borreliozisinin zoonoz olması ve Van kedilerinde tespit edilen % 13,13 oranında seropozitiflik belirlenmesinin bölgede yaşayan insanlar için bu hastalığın bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir (Sargın, 2007).

2.5.2.2.2. İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHA)

Formalin ve tannik asit uygulanmış koyun eritrositleri, sonikasyon ile elde edilen *B. burgdorferi* antijenleri ile duyarlı hale getirilir ve anti borrelia antikorlarını saptamakta kullanılır. Duyarlı olmakla birlikte standart duruma getirilmesi zordur. Çok sayıda hasta örneği incelemek için önerilen bir testtir (Şen, 2006).

2.5.2.2.3. Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)

ELISA testlerinde antijen olarak bütün veya sonikasyon ile parçalanmış *B. burgdorferi*, işaretleyici olarak polivalan veya immunoglobulin sınıfına özgü konjugatlar kullanılabilir. Polivalen konjugatlar ile alınan pozitif sonuçlar, immunoglobulinlere özgü testler ile onaylanmalıdır. Antijen hazırlama teknikleri ve testlerde kullanılan miktar standart duruma getirilmelidir. Değişik coğrafi bölgelerden izole edilen spiroketlerin dış yüzey proteinlerinin farklılıklar göstermesi nedeni ile tüm testlerde kullanılacak olan antijenin tek bir kökenden (örneğin tiplendirme suşu B31) veya lokal izolatlardan hazırlanması gerektiği tartışmalıdır. EIA testinin duyarlılığı %96, özgüllüğü ise %92 dolayındadır. *B. burgdorferi* total hücre

antijenleri ile kaplı mikrodilüsyon kaplarında yapılan bu testte, özgül olmayan sonuçların kontrolü için PBS kullanılır. Test serumunun optik yoğunluğundan kontrolün optik yoğunluk değeri çıkartılır. Hasta serumunun 1:160 ve 1:320 sulandırmaları başlangıç değerleri olarak kullanılır. Konjugat, substrat ve kromojen ilave edilerek 405 nm dalga boyunda ve pozitif IgG kontrolü 1, pozitif IgM kontrolü 0,5 değerine ulaşıncaya kadar optik yoğunluklar okunur. Sonuçların değerlendirilmesinde IgG için 1:160 den düşük değer negatif, 1:160 ile 1:320 ve üzeri pozitif (genellikle kene ısırmasından 2-3 ay sonra), IgM için 1:160 ve daha düşük değer negatif, 1:320 pozitif (erken dönem Lyme hastalığı) kabul edilir. Pozitif sonuç, Western blot ile onaylanmalıdır (Şen, 2006).

Uslu (2008) tarafından Aydın ve çevresinden Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları kliniğine getirilen toplam 140 köpekten *B. burgdorferi* IgG antikorlarının saptanması için alınan kan örneklerinden elde edilen serumların ELISA testi ile çalışılması sonucunda 49 köpeğin (%35) seropozitif olduğu belirlenmiştir. Seropozitif köpeklerden elde edilen kan örneklerinin Western Blot (WB) ve PZR yöntemleriyle doğrulanmasının, bu test yöntemleri ile elde edilen verilerin gelecekte insan ve köpekler üzerine yapılacak çalışmalarda referans olarak kullanılabilmesi ve bu hastalığın varlığı üzerine sağlıklı verilerin elde edilebilmesi için daha geniş kapsamlı çalışmaların yapılabilmesinin gerekli olduğunu kanısına varmışlardır (Uslu, 2008).

2.5.2.2.4. Western Blot (WB)

WB testi antiborreliyal antikorları belirlemede ELISA'dan daha özgül ve duyarlıdır. Maliyeti ve yorumlamada standardizasyon eksikliği nedeniyle ikinci aşama tanı testi olarak kalmıştır. Çeşitli borreliyal antijenler WB testinde kullanılmaktadır. Kene ısırığından bir hafta sonra IgM için WB testi pozitifleşir ve 6-8 hafta pozitif kalır (Bhate ve ark, 2010).

2.5.2.2.5. BOS Serum Antikor İndeksi

Beyin omurilik sıvısının içerisindeki ve serumdaki total IgG serum Ig testiyle saptanır. Bu sıvılar, eşit protein konsantrasyonuna ulaşıncaya kadar sulandırılır. Her iki sıvıda Lyme EIA (IgG) yapılır ve titreler saptanır. Test sonucunda BOS titresi serum titresinden yüksek ise intratekal antikor sentezi pozitif olarak yorumlanır (Aguero, 2005; Şen, 2006).

Tablo 4. Lyme Borreliozis tanısı için kullanılan mikrobiyolojik teşhis yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları (Yazgı ve Uyanık, 2009).

Test türü	Avantajları	Dezavantajları
Boyama	Maliyeti düşüktür. Kısa sürede sonuç verir.	Sensitivitesi ve spesifitesi düşüktür. Pozitif sonuçların immun florasan yöntemle doğrulanması gerekir.
Kültür	Klinik olarak tanı koymakta güçlük çekilen durumlarda ve immun yetmezlikli olgulardan yapılan kültürlerde faydalı olabilir. Farklı alttiplerin tanımlanmasında kullanılır.	Gerekli sürenin uzun olması, deri dörnekleri için biyopsi materyaline gerek duyulması, eklem sıvılarında çok düşük oranda pozitif sonuç vermesi
PZR	Klinik olarak tanı koymakta güçlük çekilen durumlarda kullanılır. Özgüllüğü yüksektir.	PZR’da kros kontaminasyon veya kullanılan primerlerin selektif olmaması durumunda yalancı pozitiflik görülebilir. Nükleik asit çoğaltma yöntemlerini uygulamak için deneyimli personel ve iyi donanımlı laboratuvara gereksinim vardır. Maliyeti yüksektir. Erken dönem LB’de amplifikasyon testleri yalancı negatif sonuç verebilir. Duyarlılığı düşüktür.
ELISA	Uygulama kolaylığı, örnek elde etmenin daha kolay olması, çok sayıda örneğin aynı anda çalışılabilmesidir. Duyarlılığı yüksektir	Yalancı pozitiflikler, yalancı negatiflikler. Çapraz reaksiyonlara bağlı pozitiflikler. Ticari kitlerdeki standardizasyon eksikliği
IFA	Uygulama kolaylığı. Örnek elde etmenin kolay olması.	Florasan mikroskopa ve kalifiye personele gereksinim duyulması
WB	Örnek elde etmenin kolay olması. Özgüllüğü yüksektir.	Yoğun iş gücü gerektirmektedir. Deneyimli personel gereksinimi, Sonuçların yorumlanmasında subjektiflik olması,yalancı negatiflik

B. burgdorferi farklı antijenlere karşı oluşan serum antikorları genellikle patojene maruz kalan köpekleri tespit etmek ve uyumlu klinik belirtilerinin olduğu köpeklerde Lyme hastalığını teşhis etmek için kullanılır. Geleneksel ELISA bazlı teşhis testleri antikorları en erken infeksiyondan 4-6 hafta sonra saptamaktadır. Yeni Lyme Multipleks tahlili infeksiyondan 3 hafta sonra antikorları saptayabilmektedir. Yüksek antikor düzeyleri,

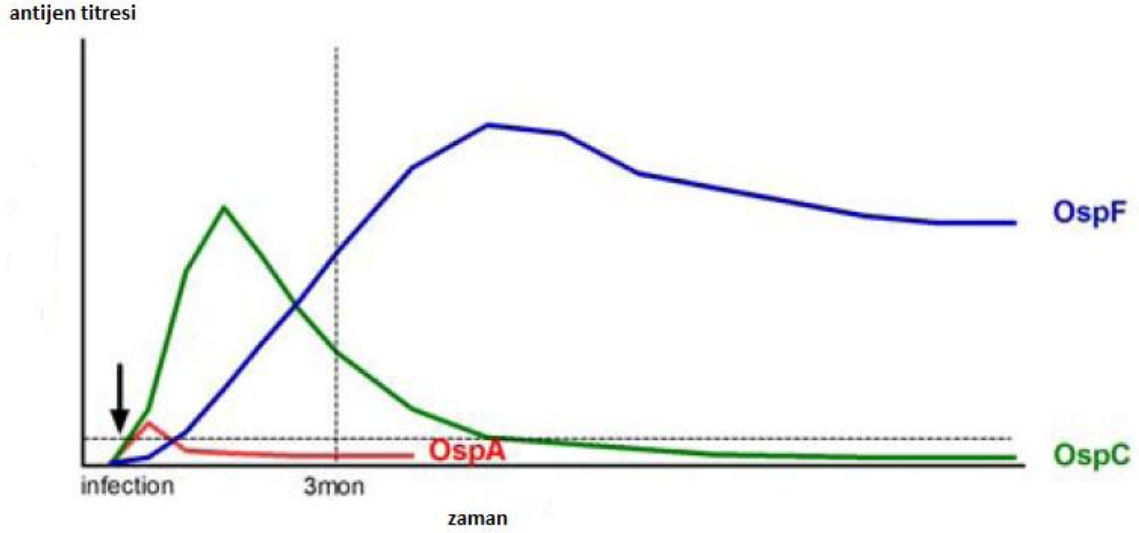
deneysel olarak infekte edilen 3 köpekte en az 17 ay ve büyük ihtimalle korunduğu ve daha uzun süre *B. burgdorferi*'ye direnç gösterdiği sürece de bulunmaktadır (Wagner ve ark, 2012).

Köpek Lyme Multipleks Testi Cornell Üniversitesi Hayvan Sağlığı Tanı Merkezi'nde geliştirilmiştir. Tek bir numunede *B. burgdorferi*'nin 3 antijenine karşı antikorunu saptamaya dayanır. Canine Lyme Multiplex Analizi *B. burgdorferi*'nin dış yüzey proteini (osp) denilen 3 antijeni baz alır. Kenenin beslenmesi ve sonra infeksiyonu köpek at veya insan gibi konakçıya infekte etmesi sırasında Osp antijenlerinin değişimi birçok çalışmada gösterilmiştir. Köpeklerde Osp proteinlerine karşı antikorlar gelişir. Bu spesifik antijenler Lyme hastalığının teşhisinde yardımcı olmaktadır (Cornell Üniversitesi, 2014).

Lyme Multipleks testi tamamen sayısal bir testtir. Test edilen üç antijenin her biri için sayısal antikor değeri elde edilir. Test raporuyla birlik her bir değer yorumlanmaya sunulmuştur. OspA antikorları aşılama karşı antikor gelişimini gösterir. OspC ve OspF ise klinik infeksiyona işaret eder. Enfekte köpeklerde sayısal antikor değerleri tedavi başarısını takip etmek için kullanılır. OspA'ya karşı pozitif antikor değerleri aşılama köpeklerin tipik sonucudur. OspA sentezlemesi *in vitro* ortamda üretilen bakterilerde veya kene midesinde bulunduğu sürece olur. Kenelerin kan emme döneminde ise OspC sentezi başlar. İnfeksiyon süresince bakteri OspA düzenlenmesini azaltır. Böylece aşılama köpeklerdeki doğal infeksiyonlarda OspA'ya karşı oluşan antikorlar belirlenemez. Bazen infeksiyondan 2-3 hafta sonra geçici bir süre düşük oranda OspA belirlenebilir (Wagner ve ark, 2012).

OspC, erken *B. burgdorferi* infeksiyonunun değerli bir göstergesidir. Hemen hemen infeksiyondan 2-3 hafta sonra bulunabilir. OspC'ye karşı antikorlar 7-11 hafta sonra azalmaya başlar ve infeksiyondan 4-5 ay sonra bulunmama başlar. OspF kronik infeksiyonların indikatörüdür. OspF'ye karşı antikorlar infeksiyondan 5-8 hafta sonra ortaya çıkar ve daha sonra bunu sürdürür.

Canine Lyme Multipleks Analizi sadece Cornell Üniversitesi Hayvan Sağlığı Teşhis merkezinde mevcuttur. ELISA ve Western blot testlerinden elde edilen sonuçları toplar ve C6 gibi *B. burgdorferi*'nin tek antijene dayanan testlerinden daha fazla bilgi verir. Lyme multipleks Analizi köpeklerde *B. burgdorferi* infeksiyonunun var olup olmadığını ve hangi aşamada olduğunu gösterir. Test sonuçları tamamen sayısaldir. Aşı ve tedavide başarı sonuçlarını takip etmek için kullanılır (Cornell Üniversitesi, 2014).



Şekil 6. Aşısız ve tedavi edilmemiş köpeklerde OspA, OspC ve OspF'ye karşı antikor yanıtları (Wagner ve ark 2012).

2.6. Tedavi ve Korunma

Lyme Hastalığının tedavisinde tetrasiklinler bazı, 3'üncü kuşak sefalosporinler, ampisilin, eritromisin ve deriveleri etkilidir. Klinik uygulamalara bakıldığında tedavi uygulanan köpeklerin çoğunun infekte olmadığı düşünülmektedir. Bir başka deyişle hastalığın tanısında problemler yaşandığı için klinik belirtilere göre Lyme hastalığı tedavisi uygulanmaktadır. Tedavi uygulanan köpeklerin bazıları gerçekten infekte değildir. Aslında önerilen de tanısı yapılmadan infeksiyon şüpheli köpeklere antibiyotik uygulanmasına başlamaktır. Bu amaçla, 10 mg/kg Doksisisiklin 12 saatte bir en az 30 gün süreyle oral yolla verilir. Hasta antibiyotik uygulamasından 24-48 saat sonra düzelmeye başlar. Klinik belirtiler zaten değişken ve geçicidir. Artritise beraber seyreden eklem ağrıları aralıklı seyreder ve antibiyotik kullanılmasına bağlı olmadan geçebilir. Alternatif olarak kullanılan antibiyotiklerden amoksisilin 8 saat ara ile 20 mg/kg dozda ağız yoluyla 30 gün süreyle verilir. Seftriakson 12 saat ara ile 20 mg/kg dozda iv veya sc yolla 14-30 gün süreyle verilir. Kloramfenikol ise 8 saat ara ile 15-25 mg/kg dozda oral veya sc yolla 14-30 gün süreyle kullanılır. Antibiyotik kullanımı ile klinik belirtilerin erken düzelmesine rağmen 30 gün sonunda infeksiyonun tekrarlayabileceği unutulmamalıdır (Schaer ve ark, 2006). Akut artritlerde antibiyotik kullanımından 24-48 saat sonra belirgin iyileşme görülür. Antibiyotik tedavisinden sonra etkenin tam elimine edildiği belirsizdir. Tedaviden sonra hastalık tekrarlayabilir. Bazı tedavi edilen köpeklerde PCR analizi ile *B. burgdorferi* pozitif

bulunmuştur (Stanek ve ark, 2011). Lyme nefropatili hastalar renal yetmezlik için yoğun olarak tedavi edilmelidir. Ek olarak antibiyotik tedavisi uygulanmalıdır. Seropozitif asemptomatik köpeklere antibiyotik tedavisi yapılmamalı, yılda 2-4 kez proteinüri yönünden incelenmelidir (Merrill ve ark, 2012).

Hastalıktan korunmak için Diethyl-meta-toluamide DEET veya permethrin içeren kovucu maddeler, kene tasmaları, köpeklerin günlük tımar sayılabilir. Aşı olarak adjuvant ölü *B. burgdorferi* içeren iki ticari aşı mevcuttur; birinin, seropozitif köpeklerde hastalık insidansını % 4,7 den % 1'e azaltıldığı gösterilmiştir, değerler halen tartışmalıdır. Tek protein aşısı (OspA) köpekleri infeksiyondan ve hastalıktan korur (Max, 2008).

Antibiyotik tedavisi, Lyme hastalığında her dönemde kullanılabilir, fakat etkene bağlı artrit ve kronik halsizlik bulguları tedavi sonrasında tekrar ortaya çıkabilmektedir. Bundan dolayı, rekombinant aşılarda çerçevesinde OspA ve OspC proteinlerinin uygun epitoplarını ve borreliasidal antikorlarını içeren aşılarda kullanılması, koruma ve kontrol bakımından güncel tercihler arasına alınmalıdır (Anonim, 2014).

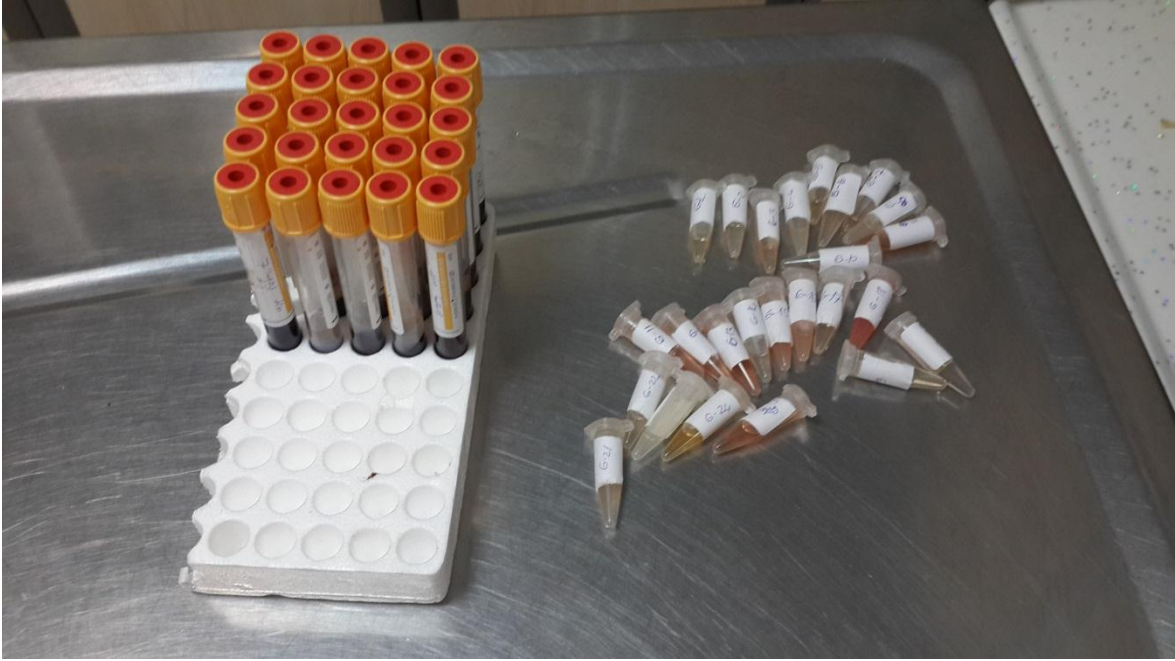
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali

Bu çalışmada, Ocak 2015 ve Kasım 2015 tarihleri arasında İzmir/Karşıyaka (n=20) ve İzmir/Güzelbahçe (n=35) hayvan barınağı, İzmir bölgesindeki çeşitli veteriner kliniklerinden (n=29), İzmir/Narlidere bölgesinden (n=8) geçmişinde çoğunlukla kene ısırılması olan farklı ırk, yaş ve her iki cinsiyetten toplam 92 köpek kullanıldı. Köpeklerin ırk, yaş ve cinsiyetleri tespit edildikten sonra fiziksel muayeneleri yapılmıştır. Yapılan muayenelerde çeşitli bulgulara rastlandı. Ateş, topallık, anoreksi, dermatitler, paraziter enfeksiyonlar, iştahsızlık gibi klinik bulgular değerlendirildi. Örneklemeler, “Laboratuvar Hayvanları Bakım Yönetim Prensipleri, NIH Bildirisi No: 85.23” kriterlerine göre yapılmıştır.

3.2. Laboratuvar Muayeneleri

Köpeklerde görülen Lyme hastalığının serolojik tanısı amacıyla, her bir köpek için *Vena cephalica antebrachi*'den antikuagulansız tüpler içine alınan kan örnekleri, 3000 r.p.m'de 10 dakika santrifuj edilerek serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar eppendorf tüplere konularak analiz yapılincaya kadar -20 °C'de saklandı. Her bir serum örneğine *B. burgdorferi* IgG antikörlerinin belirlenmesi amacıyla ELISA (anti-*Borrelia burgdorferi* IgG Dog ELISA Kit, ab178647, Abcam®) testi uygulandı.



Resim 8. Serum tüpleri ve ependorflara aktarılmış serumlar.

3.2.1. Testte Kullanılan Materyal

Kullanıma hazır bütün sıvı komponentler koruyucu olarak değişik oranlarda Bronidoks ihtiva etmektedir.

B. burgdorferi ELISA mikroplaytleri: 96 kuyucuk (bölmeli) *B. burgdorferi* antijeni içermektedir.

- Konjugat 20 ml: Affinite- horseradish peroxidase (HRP)- ile işaretlenmiş anti-köpek IgG
- Pozitif kontrol 2 ml: *B. burgdorferi* antijeni ile reaksiyona giren köpek serumu
- Negatif kontrol 2 ml: *B. burgdorferi* antijeni ile reaksiyona girmeyen köpek serumu
- 20X yıkama solusyonu: % 0.1 Bronidoks L bulunan, pH'sı 7,4 olan fosfatlı tampon solusyonu (PBS) içermektedir. Bu solusyon 1 litre distile su içerisinde çözdürülür.
- TMB substrate, 15 ml: Tetramethylbenzidine (TMB) üre peroksit içeren solusyon
- Stop solusyon, 15 ml: Sulandırılmış fosforik asit içeren solusyon
- Serum numune dilüent solusyonu 100 ml: % 0.2 Bronidoks içerir.
- Cut-off kontrol 3 ml: Eşik değer serumu, % 0.1 Kathon içerir.

3.2.2. ELISA Testinin Uygulanması

Köpek serumları test edilmek üzere IgG numune dilüe edici solüsyon ile 1: 100 oranında sulandırıldı ve *B. burgdorferi* antijenleri ile kaplanmış özel mikroyaytler üzerindeki bölmelere 100'er µl eklendi. Pozitif kontrol, negatif kontrol, cut-off kontrol serumları da 100'er µl ilave edildi, 1 adet kuyucuk blank (kör) olarak bırakıldı. Bu işlemlerden sonra, mikroyaytlin üzeri folyo ile kapatıldı, reaksiyona girmesi için 37 °C'de 1 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyondan sonra mikroyaytler üzerindeki bölmeler, reaksiyona girmeyen serum proteinlerinin uzaklaştırılması için 3 kez otomatik yıkayıcıda yıkandı. Her bir kuyucuk için yıkama solüsyonu miktarı olarak test kiti prosedüründe belirtilen 300 µl'lik hacim kullanıldı. Daha sonra konjugat olarak, enzimle işaretli köpek antikorlarına karşı oluşturulmuş antikorlar (anti-köpek IgG) 100'er µl her kuyucuğa eklendi. Konjugatın mikroyaytler üzerindeki bölmelerde bulunan antijen ile örnekler içerisinde bulunan antikorlardan oluşan komplekse bağlanması için 30 dakika oda sıcaklığında karanlık ortamda inkubasyona bırakıldı. Daha sonra reaksiyona girmeyen konjugatın uzaklaştırılması için mikroyaytler üzerindeki bölmeler 3 kere yıkandı. Tetramethylbenzidine'li (TMB) ürea peroksit substratı 100'er µl mikroyaytlerin her bölümüne eklendi ve 15 dakika karanlık ortamda ve oda sıcaklığında inkubasyona bırakıldı. Substrat reaksiyonunu durdurmak için kuyucuklara 100'er µl stop solüsyonu eklendi ve zaman kaybetmeden ELISA okuyucu cihaza absorbans değerleri spektrofotometrik olarak 450 nm dalga boyunda değerlendirilmek üzere konuldu. ELISA testi aşamasında kullanılan kit, yıkama ve okuyucu cihazı, mikroyayt görüntüleri Resim 9., Resim 10., Resim 11. ve Resim 12.'de gösterilmiştir.



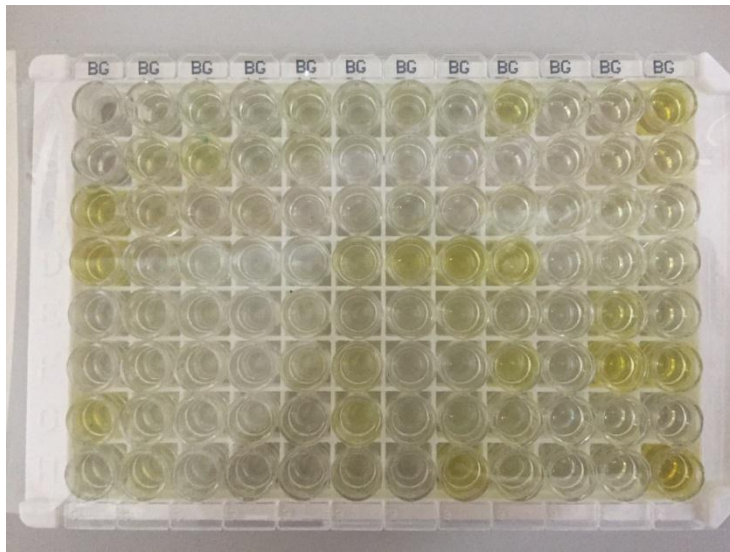
Resim 9. ELISA kit içeriği



Resim 10. Otomatize Mikropleyt Yıkama Cihazı



Resim 11. ELISA Mikropleyt Okuyucu Cihaz



Resim 12. ELISA reaksiyonunda kullanılan mikropleyt

3.2.3. Sonuçların Yorumlanması

Sonuçlar ELISA okuyucusu (Thermo®) ile 2 kere okunma ile değerlendirildi. ELISA sonuçları firma tarafından 0.150 ile 1.300 arası optik yoğunluk cut-off (eşik değer) değeri olarak belirlenmiştir. Çalışmada eşik değerın absorbansı (0.623) 10 ünite kabul edilip 11 üniteden fazlası ve üzeri olan değerlerdeki renk yoğunluğuna sahip örnekler pozitif olarak kabul edildi. Absorbans değerlerine göre Standart Ünite değerleri saptandı.

$$\frac{\text{Ortalama absorbans değeri} \times 10}{\text{Cut-off}} = \text{Standart Ünite}$$

Kontrol Serumu	Absorbans değeri	Bulunan Absorbans değeri
Blank (kör) Substrat	< 0,100	0,039
Negatif kontrol	< 0,150	0,051
Cut-off (eşik değer) kontrol	0,150-1,300	0,661
Pozitif kontrol	> Cut-off kontrol	1,019

Numune Sonuç Değerlendirilmesi	Standart Ünite Aralığı
Cut-off (eşik değer)	10
Şüpheli	9-11
Negatif	< 9
Pozitif	> 11

3.3. Spesifite ve Sensitivite

ELISA test kitinde negatif numunelerin analiz sırasında skorlanabilme değeri > % 95, pozitif numunelerin saptanabilme değeri de yaklaşık % 93,3 olarak belirtilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, Ocak 2015 ve Kasım 2015 tarihleri arasında İzmir/Karşıyaka (n=20), İzmir/Güzelbahçe (n=35) köpek barınakları, İzmir bölgesindeki çeşitli veteriner kliniklerinden (n=29), İzmir/Narlıdere bölgesinden (n=8) geçmişinde kene ısırılması olan farklı ırk, yaş ve her iki cinsiyetten toplam 92 köpek kullanıldı. Köpeklerin ırk, yaş ve cinsiyetleri tespit edildikten sonra fiziksel muayeneleri yapıldı. Yapılan muayenelerde çeşitli bulgulara rastlandı. Ateş, topallık, anoreksi, dermatitler, paraziter enfeksiyonlar, iştahsızlık gibi klinik bulgular değerlendirildi. Kullanılan numenelerin hangi bölgelerden toplandığı, araştırılan köpek sayısı, seropozitif köpek sayıları ve yüzdeleri Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. Numenelerin toplandığı bölgeler, araştırılan köpek sayısı, seropozitif köpek sayıları ve yüzdeleri

Örnek Alınan Yerler	Köpek Sayısı (n)	Seropozitif Köpek Sayısı(n)	Seropozitif Köpek Yüzdesi (%)
İzmir/Karşıyaka Köpek Barınağı	20	1	5
İzmir/Güzelbahçe Köpek Barınağı	35	0	0
İzmir/Güzelbahçe Mavi Veteriner Kliniği	29	4	13,7
İzmir/Narlıdere	8	0	0

Araştırılan toplam 92 adet numuneden 2 adet numune 1 yaşındaki hayvanlardan, 1 adet numune 2 yaşındaki hayvanlardan, 2 adet numune ise 3 yaşındaki hayvanlardan pozitif olarak tespit edildi. 2 adet numune miks ırk hayvandan, 1 adet numune Terrier ırkı hayvandan, 1 adet numune Alman Çoban köpeği ırkı hayvandan, 1 adet numune ise Rottweiler ırkı hayvandan tespit edildi. Seropozitif hayvanların 3 adedi aşısız, 2 adedi ise aşıllı hayvanlardan saptanmış olup, bütün pozitif numunelerin alındığı hayvanlarda kene enfestasyonu anamnezi bulunmaktaydı. Hayvanlara ait tür, yaş, cinsiyet, klinik şikayet, kene

enfestasyonu anamnezi, numunenin alındığı mevsim, alındığı yer ve ELISA sonuçları Tablo 6.'da gösterilmektedir.

Tablo 6. Hayvanlara ait tür, yaş, cinsiyet, klinik şikayet, kene enfestasyonu anamnezi, numunenin alındığı mevsim, alındığı yer ve ELISA sonuçları

İrk	Yaş	Cinsiyet	Klinik Şikayet	Kene Enfestasyonu	Mevsim	Alındığı Yer	ELISA SONUÇ
Rus finosu	1	Erkek	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Kangal	8	Erkek	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	1	Erkek	Uyuz,dermatit	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	pozitif
Kangal	2	Erkek	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	1	Erkek	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Rus finosu	2	Dişi	İshal Arka ayakta total	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	2	Dişi	Arka ayakta total	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Golden	2	Dişi	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Mix	2	Erkek	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Golden retriever	2	Erkek	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Golden retriever	2	Dişi	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Golden retriever	4	Erkek	Konjuktivit uyuz dermatit	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	1,5	Dişi	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	2	Dişi	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	2,5	Dişi	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	1,5	Dişi	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	2,5	Dişi	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Pitbull	2	Erkek	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Beagle	2,5	Erkek	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	3	Dişi	Yok	Var	Temmuz	Karşıyaka Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	1	Dişi	Mantar	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Rottweiler	4	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	6	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	2	Dişi	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	1,5	Dişi	Mantar	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif

Rottweiler	4	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	5	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	2	Dişi	Mantar	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Pitbull	3	Erkek	Mantar	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Pointer	3	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	2	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	2	Dişi	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Pitbull	2	Erkek	Mantar	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	3	Dişi	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	3	Dişi	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	2	Dişi	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	4	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	1	Dişi	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	3	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Selter	2	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	1	Dişi	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Selter	2	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Rottweiler	3	Dişi	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	7	Dişi	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	2	Dişi	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Pitbull	5	Erkek	Mantar dermatit	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	2	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Rottweiler	3	Dişi	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	5	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	6 aylık	Dişi	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	6 aylık	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	6 aylık	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	6 aylık	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Miks	6 aylık	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif

Miks	1,5	Erkek	Yok	Var	Kasım	Güzelbahçe Belediyesi Barınağı	negatif
Golden retriever	4	Erkek	Sol arka topallık	Var	Şubat	Veteriner Klinikleri	negatif
Golden retriever	14	Dişi	Topallık	Yok	Şubat	Veteriner Klinikleri	negatif
Dernese Dağ köpeği	2	Erkek	Yok	Yok	Şubat	Veteriner Klinikleri	negatif
King charles spaniel	3	Erkek	Kalp problemi	Yok	Şubat	Veteriner Klinikleri	negatif
Golden retriever	4	Erkek	Topallık	Yok	Şubat	Veteriner Klinikleri	negatif
Golden retriever	4	Erkek	Yok	Yok	şubat	Veteriner Klinikleri	negatif
Terier	3	Erkek	Yok	Var	mayıs	Veteriner Klinikleri	negatif
Golden retriever	4	Erkek	Epilepsi	Var	mayıs	Veteriner Klinikleri	negatif
Doberman	5	dişi	Yok	Yok	mayıs	Veteriner Klinikleri	negatif
Miks	7	erkek	Yok	Var	mayıs	Veteriner Klinikleri	negatif
Terier	5	Erkek	Yok	Var	mayıs	Veteriner Klinikleri	negatif
King charles spaniel	3	Erkek	Erllichia pozitif	Var	mayıs	Veteriner Klinikleri	negatif
Miks	11	Erkek	Arka ayakta total	Var	mayıs	Veteriner Klinikleri	negatif
Miks	4	Erkek	Yok	Yok	haziran	Veteriner Klinikleri	negatif
Alman çoban köpeği	2	dişi	Yok	Var	mayıs	Narlıdere Askeri Arazi	negatif
Miks	6 aylık	dişi	Ateş, kusma	Var	Kasım	Narlıdere Askeri Arazi	negatif
Miks	6 aylık	Dişi	Ateş, kusma	Var	Kasım	Narlıdere Askeri Arazi	negatif
Miks	6 aylık	dişi	Ateş, kusma	Var	Kasım	Narlıdere Askeri Arazi	negatif
Miks	6 aylık	Erkek	Ateş, kusma	Var	Kasım	Narlıdere Askeri Arazi	negatif
Miks	6 aylık	dişi	Ateş, kusma	Var	Kasım	Narlıdere Askeri Arazi	negatif
Miks	1,5	dişi	Yok	Var	Kasım	Narlıdere Askeri Arazi	negatif
Golden retriever	2	Erkek	Böbrek problemi	Var	Ağustos	Veteriner Klinikleri	negatif
Golden retriever	2	Erkek	Kalp problemi	Var	Ağustos	Veteriner Klinikleri	negatif
Rottweiler	3	Dişi	Ateş, kusma	Var	Ağustos	Veteriner Klinikleri	negatif
Rottweiler	2	Dişi	Yok	Var	Ağustos	Veteriner Klinikleri	negatif

Terier	4	Dişi	Yok	Var	Ağustos	Veteriner Klinikleri	negatif
Miks	3	Dişi	Yok	Var	Ağustos	Veteriner Klinikleri	negatif
Terier	1	Erkek	Yok	Var	Ağustos	Veteriner Klinikleri	pozitif
Terier	5	Dişi	Yok	Var	Ağustos	Veteriner Klinikleri	negatif
Miks	1	Dişi	Kusma ishal	Var	Ağustos	Veteriner Klinikleri	negatif
Miks	2	Erkek	Kusma ishal	Var	Ağustos	Veteriner Klinikleri	pozitif
Alman oban	3	Dişi	Yok	Var	Ağustos	Veteriner Klinikleri	negatif
Miks	2	Dişi	Kusma ishal	Var	Ağustos	Veteriner Klinikleri	negatif
Terier	2	Erkek	Yok	Var	Ağustos	Veteriner Klinikleri	negatif
Alman oban	3	Dişi	Yok	Var (aşılı)	Ağustos	Veteriner Klinikleri	negatif
Alman oban	3	Erkek	Yok	Var (aşılı)	Ağustos	Veteriner Klinikleri	pozitif
Alman oban	3	Dişi	Yok	Var (aşılı)	Ağustos	Veteriner Klinikleri	negatif
Rottweilwer	3	Erkek	Yok	Var (aşılı)	Ağustos	Veteriner Klinikleri	pozitif

Tablo 7. Farklı yaş gruplarına göre *Borrelia burgdorferi* seropozitifliği

Yaş	Pozitif (n)	Negatif (n)	Toplam (n)
<1	-	10	10
1-2	2	38	40
2-4	3	28	31
>4	-	11	11

Elde edilen bulgular doğrultusunda araştırmamızda Anti *Borrelia burgdorferi* IgG ELISA Kit (Abcam®) kullanılarak yapılan testte ise incelenen 92 adet köpekten 5 (% 5,4)'i seropozitif olarak belirlenmiştir. Seropozitif olan 2 adet köpeğin miks ırkta, 1 adet köpeğin Terier, 1 adet köpeğin Alman Çoban köpeği ve 1 adet köpeğin ise Rotweiler ırkı oldukları saptanmıştır. Bu bulgular ile farklı ırk köpeklerde ve miks köpeklerde hastalığın görülebildiği saptandı. Miks ırklar ile özel ırklar arasında Lyme hastalığının görülme sıklığında kayda değer bir fark görülmemiştir. Ayrıca şehir merkezlerinde yaşayan köpeklerden daha yüksek oranda seropozitivite tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada İzmir ve çevresinde insanlarla iç içe yaşayan sahipli ve sahipsiz köpeklerde *Borrelia burgdorferi*'ye karşı gelişen IgG tipi antikorlar ELISA yöntemiyle araştırılarak, halk sağlığı açısından da risk oluşturan Lyme hastalığının bölgedeki köpeklerdeki varlığı ve seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Kene kaynaklı bulaşıcı hastalıklar dünya çapında önem taşımaktadır. Ayrıca tanımlanan kene kaynaklı hastalıkların insidansında bir artış söz konusu olmaktadır (Beltz, 2011). Kene kaynaklı hastalıklardan biri olan Lyme hastalığı köpeklerde *Borrelia burgdorferi* tarafından oluşturulan bir enfeksiyondur (Skotarczak, 2014). Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya'da insanlardaki en yaygın vektör kaynaklı hastalıklardan biridir (Little ve ark, 2014; Pintore, 2014; Nadelman ve Wormser, 1998). Köpeklerde ve kenelerde Lyme hastalığı Amerika (Little ve ark, 2014), Polonya (Dziegiel ve ark, 2015), Hollanda (Goossens ve ark, 2000; Goossens ve ark, 2001; Hovius, 2000; Hovius ve ark, 2000), Almanya (Bauerfeind ve ark, 1998; Wieler ve ark, 1999), İsviçre (Speck S. ve ark, 2002), Kore (Park HS. ve ark, 2004), Belçika (McKenna ve ark, 1995) ve Fransa (Doby ve ark, 1988; Euzeby ve Raffi, 1988; Davoust ve Boni, 1998) gibi birçok ülkede, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak saptanmıştır.

Ülkemizde Lyme hastalığı ile ilgili ilk klinik olgu Gülenbar ve ark (2007) tarafından 2007 yılında İstanbul'da bildirilmiştir. Esenal ve ark (1996) tarafında Ankara ilinde 74 köpekte indirekt floresan antikor tekniği kullanarak yaptıkları çalışmada %78.4 pozitiflik belirlenmiştir. Sarı ve ark (2013) tarafından Iğdır ve çevresinde SNAP3Dx testi kullanılarak 100 köpek üzerinde yapılan çalışmada *Borrelia burgdorferi* seropozitifliği belirlenmemiştir. Satır ve ark (2012) İstanbul ve çevresinde 96 köpekten toplanan numunelerde PCR çalışmaları sonucunda *Borrelia burgdorferi* DNA'sı yönünden pozitifliğe rastlanmamıştır. Lyme hastalığı zoonoz hastalıklardan olmasına rağmen ülkemizde hastalığın tespiti ve prevalansı ile ilgili az sayıda literatür bilgisine ulaşılmıştır (Esenal ve ark, 1996; Satır, 2006; Bhide ve ark, 2008; Uslu ve ark, 2008; Satır, 2012; Sarı ve ark, 2013).

Ebani ve ark (2014) İtalyanın kırsal bölge (n=730) ve şehir merkezinden (n=1235) elde edilen toplamda 1965 köpek kan serumunu indirect immuno fluorescent assay (IFAT) yöntemiyle test edilmiştir. *Borrelia burgdorferi* seroprevalansını % 1,32 olarak bulmuştur. Ayrıca, kırsal bölgelerde yaşayan köpeklerde yüksek seroprevalans görüldüğü vurgulanmıştır. Mircean ve ark (2012) tarafından Romanya'nın çeşitli bölgelerinden toplanan 1146 köpek

serum numunesi SNAP 4Dx (IDEXX® Laboratories, Inc., Westbrook, ME) testi kullanılarak yapılan çalışmada 6 köpek (%0,5) seropozitif bulunmuştur. Little ve ark (2014) 2010 ve 2012 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri'nde çeşitli bölgelerden 6.996.197 köpeğin SNAP® 4Dx® Plus Test kit'i ile çalışılmış ve sonuçlar *Borrelia burgdorferi* açısından değerlendirilmiştir. Tüm bölgelerde ortalama seroprevalans % 7,2 olarak belirlenmiştir. Diziel ve ark (2015) Polonya'da ELISA SNAP 4Dx ® testi kullanılarak yaptıkları çalışmada 400 köpekten %18 seropozitif olarak belirlenmiştir. Bhide ve ark, (2008) Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesine getirilen ve daha önce Lyme aşısı olmayan 400 köpekten 93 köpekte pozitif (%23,2) bulmuştur. Uslu ve ark (2008) Aydın ve çevresinden toplanan kan serum örneklerinin ELISA testi ile incelenmesi sonucunda toplam 140 köpeğin 49 (%35)'unda *B. burgdorferi* IgG antikorları saptanmıştır.

Araştırmamızda Anti *Borrelia burgdorferi* IgG ELISA Kit (Abcam®) kullanılarak yapılan testte ise incelenen 92 adet köpekten 5 (% 5,4)'i seropozitif olarak belirlenmiştir. Little ve ark (2014) tarafından yapılan çalışmaya yakın seropozitiflik bulunduğu gözlemlendi. Çalışmamızdaki seropozitiflik yüzdesi Ebani ve ark (2014), Mircean ve ark (2012) tarafından yapılan çalışmaların seropozitiflik yüzdesinden daha yüksek olduğu görüldü. Çalışmamızdaki seropozitiflik yüzdesi Bhide ve ark (2008), Uslu ve ark (2008), Diziel ve ark (2015) tarafından yapılan çalışmaların seropozitiflik yüzdesinden daha yüksek olduğu görüldü. Bu benzerlik ve farklılıkların görülmesi, örnekleme sayısı, kullanılan tanısal test yöntemlerinin farklılığı, bölgesel coğrafik dağılım, iklimsel farklılık, endemik bölgelere köpek transportu ve vektör kene yoğunluğu ile ilişkilendirilebilir.

Köpeklerde yaş, cinsiyet ve kene ile temas gibi faktörlerin Lyme hastalığının oluşumunda önemli rol oynadığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Lindenmayer ve ark, 1991; Stefancikova ve ark, 1996; Rondeau ve ark, 2005).

Straubinger ve ark, (1998) ve Appel ve ark (1993) Lyme hastalığı yönünden seropozitif 38 köpeği yaş gruplarına göre değerlendirdiklerinde; pozitif oranının genç köpeklerde daha fazla olduğunu saptamışlardır. Lindenmayer ve ark (1991) ve Rondeau ve ark (2005), 2 yaşın üzerindeki köpeklerin hastalığa yakalanma riskinin daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Straubinger ve ark (1997) ve Harter ve ark (1999), Lyme hastalığına ait klinik bulguların genç köpek yavrularında (6 ile 12 haftalık) daha sık görüldüğünü belirlemişlerdir. Bhide ve ark (2008) 156 sağlıklı köpekten seropozitif olan 32 köpeğin yaş dağılımına göre yüzdelerini 1-6 ay %20, 7-12 ay %30, 13-24 ay %9, 23-48 ay %22 ve \geq 49 ay % 3 yaş ve 244 hasta köpekten seropozitif olan 61 köpeğin yaş dağılımına göre yüzdeleri 1-6 ay %30,4, 7-12 ay % 45,8, 13-

24 ay %28,6, 23-48 ay %17,2 ve ≥ 49 ay %17 olarak belirlenmiştir. İstatiksel olarak incelendiğinde yaş ve seroprevalans arasındaki ilişkinin önemsiz olduğu görülmüş, ancak hem sağlıklı hemde sağlıklı köpeklerde 7 ve 12 aylık yaş grubunun daha çok etkilendiği vurgulanmıştır. Uslu ve ark (2008) Lyme hastalığı yönünden ELISA testi ile araştırılan 140 köpekten seropozitif olarak belirlenen 49 köpeğin 20 (%40,8)'sinin 1 ay ile 1 yaş arası, 29 (%59,2)'unun ise 2 yaş ve üzeri grupta olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada yaş gruplarına göre seropozitiflik oranları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde önemli düzeyde bir ilişkinin olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$). Diziel ve ark (2015) 1 yaştan büyük 115 köpeğin %14'ünü seropozitif, 0-1 yaş arası 285 köpekten %2,6'sı seropozitif olarak belirlendi. Yapılan bu çalışmada ise seropozitif aşısız hayvanların 2'sinin 1 yaşında bir tanesi 2 yaşında olduğu, seropozitif aşılı hayvanların ise 3 yaşında oldukları saptandı.

Diziel ve arkadaşları, (2015) 280 özel ırk köpeğin %26,4'ü, 120 melez köpeğin %4,3'ünü seropozitif bulmuş. Özel ırkların melez ırklardan daha fazla Lyme hastalığına yakalandığı sonucuna ulaşılabileceğini vurgulamıştır. Ancak bu belirgin bir ırkın daha yatkın olmasından kaynaklabileceği belirtilmiş. Bununla birlikte çoban köpeği av köpeği gibi ırkların daha fazla keneye temasta bulunması nedenlerden biri olabileceği belirtilmiş. Bhide ve ark (2008) çalışmalarında 93 seropozitif köperten ağırlıklı olarak etkilen türler melez (n=26) Alman Shepherd(n=13), Anadolu çoban köpeği (n=11) ve terrier (n=10). Enfekte köpeklerden (n=55)'i erkek (n=38) dişi köpektir. ($p > 0.05$) ancak kayda değer bir fark görülmemiştir.

Araştırmamızda seropozitif olan 2 adet köpeğin miks ırkta, 1 adet köpeğin Terrier, 1 adet köpeğin Alman Çoban köpeği ve 1 adet köpeğin ise Rotweiler ırkı oldukları saptanmıştır. Bu bulgular ile farklı ırk köpeklerde ve miks köpeklerde hastalığın görülebildiği saptandı. Miks ırklar ile özel ırklar arasında Lyme hastalığının görülme sıklığında kayda değer bir fark görülmedi.

Bhide ve arkadaşları, (2008) çalışmasında deri problemleri, kusma ve ishal, nefrit, üriner sistem enfeksiyonu ve anemi, kalp yetmezliği, topallık gibi klinik bulguları ile seropozitiflik arasında sadece deri probleminde anlamlı bir ilişki görülmüştür ($DF=1$, chi-square = 8.5, $p < 0.01$). Araştırmamızda da seropozitif çıkan 1 adet hayvanda dermatit ve uyuz problemi, 1 adet hayvanda kusma ve ishal klinik bulguları olduğu belirlendi.

Ebani ve ark (2014) kırsal bölgelerde yaşayan köpeklerde daha yüksek seroprevalans bulmuşlardır. Şehirde yaşayan köpeklerde % 0,56, kırsalda yaşayan köpeklerde ise % 3.01 seroprevalans görülmüştür. Araştırmamızda bu bulgudan bağımsız olarak seropozitif olan

köpeklerin hepsi şehir bölgesinde bulunmaktadır. Şehir merkezlerinde yaşayan köpeklerde daha yüksek seropozitif oranların tespit edilebileceği görülmüştür.

Köpeklerde *Borrelia burgdorferi*'nin neden olduğu Lyme hastalığı üzerine yapılan çalışmalarda her iki cinsiyette de hastalığın eşit oranda görülebildiği rapor edilmiştir (Stefancikova ve ark 1996). Dziel ve ark (2015) tarafından yapılan çalışmada 291 erkek köpeğin %9,3'ü, 109 dişi köpeğin % 15,6'sı seropozitif bulunmuştur. Cinsiyet ve seroprevalans arasında ilişkinin önemsiz olduğunu değerlendirmiştir. Ebani ve ark (2014) çalışmasında cinsiyet ve seroprevalans ilişkisine bakıldığında; 1078 erkek köpeğin %1,57'si 887 dişi köpeğin % 1,35'inin seropozitif olduğu görülmüştür. İstatiksel olarak incelendiğinde önem arz etmediği görülmüştür. Uslu (2008) köpeklerde Lyme hastalığının seropozitifliğini araştırmak amacıyla 70 erkek, 70 dişi olmak üzere toplam 140 köpekten toplanan kan örneklerinde ELISA seropozitifliğini 49 (%35) köpekte saptanmış ve bunların 27 (%55,1)'sinin erkek, 22 (%44,9)'sinin de dişi köpeklerden oluştuğu belirlenmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde seropozitifliğin cinsiyet ile bir ilişkisinin olmadığı ($p>0.05$) belirlenmiştir. Araştırmamızda ise seropozitif hayvanların hepsi erkek hayvan olarak belirlendi.

Köpeklerde Lyme hastalığının oluşumu ile enfekte kenelerin mevcudiyeti arasında bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir (Eng ve ark 1988). Lyme hastalığı üzerine yapılan çalışmalarda kene ile temas eden köpeklerde hastalığın görülme sıklığının daha fazla olduğu rapor edilmiştir (Delgado ve Carmenes 1995). Uslu (2008) Lyme hastalığı yönünden araştırılan köpeklerde kene ile temas edenlerde seropozitivitenin daha yüksek sayıda olduğunu belirlemiştir. Çalışmamızdaki seropozitif hayvanların hepsinde kene enfestasyonu geçmiş bulunmaktadır. Kene enfestasyonu anamnezine sahip olan hayvanlarda Borreliosis hastalığının oluşabileceği ortaya konulmuştur.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmamızda, Ocak 2015 ve Kasım 2015 tarihleri arasında İzmir/Karşıyaka (n=20), İzmir/Güzelbahçe (n=35) köpek barınakları, İzmir bölgesindeki çeşitli veteriner kliniklerinden (n=29), İzmir/Narlıdere bölgesinden (n=8) geçmişinde kene ısırılması olan farklı ırk, yaş ve her iki cinsiyetten toplam 92 köpek serumu, güvenli ve pratik olan ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda; cins köpeklerde hastalığın rastlanabildiği, erkek hayvanlarda Lyme hastalığının görülme sıklığının daha fazla olduğu, aşısız hayvanlarda hastalığın genç olanlarda görülebileceği, aşılı hayvanların da seropozitif olabileceği, serum titrelerinin ve aşı zamanlarının infeksiyon açısından değerlendirilmesi gerektiği açısından çalışmamız, ileriki araştırmalara ışık tutacak niteliktedir.

Ayrıca hastalık açısından hasta sahiplerinin bilgilendirilmeli, hastalığının zoonotik potansiyeli üzerinde durulması ve survey çalışmalarının artırılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Aguero-Rosenfeld ME, Wang G, Schwartz I, Wormser GP.** Diagnosis of Lyme borreliosis, *Clin Microbiol Rev*, 2005, s 484-509.
- Anonim.** <http://www.freepatentsonline.com/y2014/0314801.html>, Erişim tarihi: 01.12.2014.
- Appel MJ, Allan S, Jacobson RH, Lauderdale TL, Chang YF, Shin SJ, Thomford JW, Todhunder RJ, Summers BA** (1993) *Experimental Lyme disease in dogs produces arthritis and persisten tinfection*, *J. Infect. Dis*, 167 (3): 651–664.
- Arda M, Mimbay A, Leloğlu N, Aydın N, Kahraman M, Akay Ö, Ilgaz A, İzgür M, Diker SK.** Özel Mikrobiyoloji Medisan Yayın Serisi 1997, no 26.
- Arda M.** Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayın Serisi 2000, No: 26.
- Baranton G, Postic D, Saint Girons I, Boerlin P, Piffaretti JC, Assous M, Grimont PA.** Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* sp. nov., and group VS461 associated with Lyme borreliosis. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1992, 42, s 378–383.
- Barbour AG, Hayes SF.** Biology of *Borrelia* species. *Microbiol Rev*, 1986, s: 50:381– 400.
- Barbour AG.** Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. *Yale Journal of Biology and Medicine* 1984, 57, s 521–525.
- Bauerfeind R, Kreis U, Weiss R, Wieler LH, Baljer G** (1998) *Detection of Borrelia burgdorferi in urine specimens from dogs by a nested polymerase chain reaction*, *Zentralbl Bakteriol*, 287 (4): 347–361.
- Bayar B.** Lyme Hastalığı. AÜTF Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları AD, 2000.
- Beck G, Habicht GS, Benach JL.** *The role for interleukin-1 in the pathogenesis of Lyme disease*, *Zbl. Bakt-Int. J. Med. M*, 1987, 263: 133-136.
- Beltz D, Lisa A.** *Emerging Infectious Diseases: A Guide to Diseases, Causative Agents, and Surveillance*. Hoboken, NJ, USA: Jossey-Bass, ProQuestebrary, 2011, s 56.
- Bhate C, Schwartz RA.** Lyme disease Part II. Management and prevention. *JAAD* 2010, 64: s 639-653.
- Bhide M, Yilmaz Z, Golcu E, Torun S, Mikula I.** Seroprevalence of anti-*Borrelia Burgdorferi* antibodies in dogs and horses in Turkey. *Ann Agric Environ Med*, 2008, 15, 85-90.

- Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP.** Lyme disease, a tick-borne spirochetosis. *Science*, 1982, 216, s 1317–1319.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** Division of Vector-borne Infectious Diseases. Lyme Disease, 2011.
- Cornell University College of Veterinary Medicine Animal Health Diagnostic Center.** Lyme disease multiplex testing for dogs, 2014.
- Cunha BA.** Tickborne Infectious Diseases: Diagnosis and Management. New York, NY, USA: Marcel Dekker, 2000.
- Davoust B, Boni M** (1998) *Lyme disease in dogs seroepidemiological survey in the southeast of France*, *Med. Malinfeci*, 28: 408–409.
- Doby D, Chevrier S, Couatannanach A** (1988) *Tick borne Borrelia burgdorferi infection in dogs in western France. Systematic serological survey of 806 hunting dogs and 88 military dogs in 14 departamens*, *Rec. Med. Vet*, 164: 367–374.
- Dziegiel B, Adaszek L, Carbonero A, Łyp P, Winiarczyk M, Dębiak P, Winiarczyk S.** Detection of canine vector-borne diseases in eastern Poland by ELISA and PCR, *Parasitol Res*, 2015.
- Ebani V.V , Bertelloni F, Torracca B, Cerri D.** Serological survey of *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Ehrlichia canis* infections in rural and urban dogs in Central Italy, *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2014, Sayı: 21, No: 4, s 671–675.
- Esendal ÖM, İzgür M, Arda M, Akay Ö, Keskin O.** Köpeklerde *Borrelia burgdorferi* antikorlarının floresan antikor tekniği ile saptanması, I.Uluslararası Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, 1996, s 128–129.
- Euzeby J, Raffi A** (1988) *Demonstration of antibodies to Borrelia burgdorferi in dogs: epidemiological survey in the central Pyrenees region*, *Rev. Med. Vet*, 139: 589–593.
- Fikrig E, Telford SR III, Barthold SW, Kantor FS, Spielman A, Flavell RA.** Elimination of *Borrelia burgdorferi* from vector ticks feeding on OspA-immunized mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89, s 5418–5421.
- Goossens HA, van den Bogaard AE, Nohlmans MK.** *Dogs as sentinels for human Lyme borreliosis in The Netherlands*, *J. Clin. Microbiol*, 2001, 39 (3) s 844–848.
- Goossens HA, van den Bogaard AE, Nohlmans MK.** Reduced specificity of combined IgM and IgG enzyme immunoassay testing for Lyme borreliosis, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*, 2000, 19 (5) s 400–402.

- Greene RT.** *Canine Lyme borreliosis*, Vet. Clin. N. Am. Small, 1991, 21 (1): 51–64.
- Greene RT.** *Lyme borreliosis* In: Infections Diseases of the Dog and cats. Greene RT(ed.).WB Saunders Comp, Philadelphia, 1991, 508–514.
- Guiqing W, van Dam AP, Schwartz I.** Sensu Lato: Taxonomic, Epidemiological, Molecular Typing of *Borrelia burgdorferi* and Clinical Implications *Clin. Microbiol. Rev.*, 1999, 12(4), s :633.
- Gülanber EG, Gülanber A, Albayrak R, Gülanber NG, Polat E.** Lyme disease (Borreliosis) in a Saint Bernard Dog: First Clinical Case in Turkey, *Türk. J. Vet. Anim. Sci*, 2007, 31 (5): 367–369.
- Harter L, Straubinger RK, Summers BA, Erb HN, Appel MJ.** Up-regulation of inducible nitric oxide synthase mRNA in dogs experimentally infected with *Borrelia burgdorferi*, *Vet. Immunol. Immunopathol*, 1999, 67 (3), s 271–284.
- Hayes S, Burgdorfer W, Barbour AG.** Electron microscope characterization of cloned and uncloned strains of *B.burgdorferi*. *Ann NY Acad Sci*, 1988, 539: 383.
- Hengge UR, Tannapfel A, Tyring SK.** Infectious Diseases. Vol 3, August, 2003.
- Hovius JW, Hovius KE, Oei A, Houwers DJ, Van Dam AP.** Antibodies against specific proteins of and immobilizing activity against three strains of *Borrelia burgdorferi* sensu lato can be found in symptomatic but not in infected asymptomatic dogs, *J. Clin. Microbiol*, 2000, 38 (7) s 2611–2621.
- Hovius KE.** *Borrelia* infection in dog, Universiteit Utrecht Holland, 2000.
- İzgür M, Arda M, Akay Ö, Esendal ÖM, Keskin O.** Sığır kan serumlarında *Borrelia burgdorferi* antikorlarının flüoresan antikor tekniği ile Türkiye’de ilk kez saptanması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1997, 44:1-4.
- Jonsson M, Noppa L, Barbour AG, Bergström S.** Heterogeneity of outer membrane proteins in *Borrelia burgdorferi*: comparison of osp operons of three isolates of different geographic origins. *Infection and Immunity*, 1992, 60, s 1845–1853.
- Kahl O, Lane RS, Stanek G.** Lyme Borreliosis: Biology, Epidemiology and Control. Cambridge, MA, USA: CABI Publishing, 2002.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, And Winn WC.** *Lyme disease. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, 1997, 964–971.
- Lindenmayer J, Marshall D, Onderdonk AB.** Dogs as sentinels fo rLyme disease in Massachusetts, *Am. J. PublicHealth*, 1991, 81 (11) s 1448–1455.

- Little S.E, Beall M.J, Bowman D.D, Chandrashekar R, Stamaris J.** Canine infection with *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma spp.*, and *Ehrlichia spp.* In the United States, 2010–2012 , *Little et al. Parasites&Vectors*, 2014, s7:25
- Mandola M. L, Bardell M, S. Peletto, Acutis P. L, Mannelli A, Casalone C.** Detection of Invasive *Borrelia burgdorferi* Strains in North-Eastern Piedmont, Italy, *Zoonoses and Public Health*, 2015, 62, s 365–374.
- Max JG.** Lyme Hastalığı. Editör **Stephen C. Barr.** Veteriner Hekimlikte 5 Dakikada Konsültasyon Kedi ve Köpek Çevirenle: Tahsin Yeşildere-Oktay Deprem Nobel Tıp Kitapevleri, 2008, s 934-935.
- McKenna P, Clement J, Van Dijck D, Lauwerys M, Carey D, Van den Bogaard T, Bigaignon G** (1995) *Canine Lyme disease in Belgium*, *Vet. Rec*, 136 (10): 244–247.
- Meço O ve Birengel S.** *Borrelia* türleri. Başlıca bakteriyel, paraziter ve mikotik enfeksiyon hastalıkları, Nobel Tıp Kitapevleri, 2000, s.325-335.
- Merrill L.** *Small Animal Internal Medicine for Veterinary Technicians and Nurses*. Somerset, NJ, USA: John Wiley & Sons, 2012 s 350-351.
- Mircean V, Dumitrache M.O, Gyorke A, Pantchev N, Jodies R, Mihalca A.D, Cozma V.** Seroprevalence and Geographic Distribution of *Dirofilaria immitis* and Tick-Borne Infections (*Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, and *Ehrlichia canis*) in Dogs from Romania. *Vector-borne and zoonotic diseases*, 2012, Volume 12, Number 7.
- Nadelman R.B, Wormser G.P.**, Lyme Borreliosis *The lancet* 1998, Vol 352.
- Özeren GS.** Kene kaynaklı Lyme Borreliosis'in Hatay Yöresinde Seroprevalansının tespiti, Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık bilimleri Enstitüsü Parazitoloji (Vet) Anabilim Dalı, 2007.
- Öztürk R, Mert A, Başaran G, Ergin S, Tabak F.** Bir Lyme hastalığı olgusu. *İnfeksiyon Derg* 1997; 11: 79-81.
- Park HS, Lee JH, Jeong EJ, Koh SE, Park TK, Jang WJ, Park KH, Kim BJ, Kook YH, Lee SH.** Evaluation of *groEL* gene analysis for identification of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *J Clin Microbiol.* 2004 ; 42(3) s 1270-3.
- Pintore M. D, Ceballos L, Lulini B, Tomassone L, Pautasso A, Corbellini D, Rizzo F, Polat E, Turhan V, Aslan M, Musellim B, Onem Y, Ertuğrul B.** Türkiye'de ilk kez etkenleri kültürde üretilen üç insan lyme hastalığı olgusu *Mikrobiyol Bul*, 2010, 44, s 133-139.
- Radolf JD, Caimano MJ, Stevenson B, Linden T.** Host of ticks, mice and men: understanding the dual-host lifestyle of Lyme disease spirochaetes, NIH, 2012.

- Rondeau MP, Walton RM, Bissett S, Drobatz KJ, Washabau RJ.** Suppurative, non septic polyarthropathy in dogs, *J. Vet. Intern. Med*, 2005, 19 (5) s 654–662.
- Sargın G.** Van kedilerinde lyme hastalığının seroprevalansı üzerine araştırmalar, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 2007.
- Sarı B , Taşcı G , Kılıç Y ,** Seroprevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis* and *Borrelia burgdorferi* in Dogs in Iğdır Province, Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2013, 19 (5), s 735-739.
- Satır E.** Köpeklerde *Borrelia burgdorferi* infeksiyonunun PCR ile araştırılması İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2006.
- Schaer M, Brooks DE, Burrows CF, Frod RB, Fox SM, Herrtage ME, Jones BR, Lewis DT, Raskin RE, Senior DF, Philip GA.** Kedi ve Köpeklerin Klinik Hekimliği, Editör Oktay Deprem, Tasin Yeşildere Nobel Kitapevleri, 2006, s 70-71.
- Schwan TG, Piesman J, Golde WT, Dolan MC, Rosa PA.** Induction of an outer surface protein on *Borrelia burgdorferi* during tick feeding. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92 s 2909–2913.
- Skotarczak B, Wodecka B.** Identification of *Borrelia burgdorferi* geno species inducing Lyme disease in dogs from Western Poland, *Acta Vet. Hung*, 2005, 53 (1) s 13–21.
- Skotarczak B.** Department of Genetics, Faculty of Biology, University of Szczecin, Felczaka 3c, 71-412, 2014, s 182.
- Speck S, Failing K, Reiner B, Wittenbrink MM.** Evaluation of different media and a BGM cell culture assay for isolation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from ticks and dogs. *Vet Microbiol*. 2002; 89 (4): 291-302.
- Stanek G and Strle F.** Lyme Borreliosis. *Lancet*, 2003, vol 362,1639-47.
- Stanek G, P Wormser G, Gray J, Strle F.** Lyme borreliosis. *Lancet*, 2011, 379, s 461-473.
- Steere AC, Coburn J, Glickstein L.** The emergence of Lyme disease. *The Journal of Clinical Investigation*. 2004,113 (8) s: 1093-1101.
- Steere AC, Klitz W, Drouin EE.** Antibiotic-refractory Lyme arthritis is associated with HLA-DR molecules that bind a *Borrelia burgdorferi* peptide. *J Exp Med* , 2006, 203, s 961 971.
- Stefancíková A, Skardová I, Pet'ko B, Janovská D, Cyprichová V (1996)** *IgG antibodies to Borrelia in dogs in the area of Kosice*, *Vet. Med. (Praha)*, 41 (3): 83–86.

- Straubinger RK, Straubinger AF, Summers BA, Jacobson RH, Erb HN.** Clinical manifestations, pathogenesis, and effect of antibiotic treatment on Lyme borreliosis in dogs, *Wien Klin. Wochenschr*, 1998, 110 (24) s 874–881.
- Straubinger RK, Summers BA, Chang YF, Appel MJ** (1997) *Persistence B. Burgdorferi in experimentally infected dogs after antibiotic treatment*, *J. Clin. Microbiol*, 31 (1): 111–116.
- Strle K, Drouin EE, Shen S.** *Borrelia burgdorferi* stimulates macrophages to secrete higher levels of cytokines and chemokines than *Borrelia afzelii* or *Borrelia garinii*. *J Infect Dis*, 2009, 200, s 1936–1943.
- Şen E.** Lyme hastalığının epidemiyolojisi *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2006, s 55-66.
- Şen GE.** First isolation and characterization of *B.burgdorferi* sensu lato strains from *I.ricinus* ticks in Turkey. *J Med Microbiol* 2003; 52: 807.
- T.C Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı,** Zoonotik Hastalıklar Hizmet İçi Eğitim Modülü, Ankara, 2011.
- Tokdemir M.** Trabzon ili erişkin yaş guruplarında *Borrelia burgdorferi* sensu lato seroprevalansının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 2012.
- Uslu O.** Köpeklerde Lyme Hastalığının Araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı VİH-YL, 2008.
- Van Dam AP, Kuiper H, Vos K, Widjojokusumo A, de Jongh BM, Spanjaard L, Ramselaar ACP, Kramer MD, Dankert J.** Different genospecies of *Borrelia burgdorferi* are associated with distinct clinical manifestations of Lyme borreliosis. *Clin Infect Dis*, 1993, 17, s 709–717.
- Wang G, van Dam AP, Dankert J.** Phenotypic and genetic characterization of a novel *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolate from a patient with Lyme borreliosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999,37, s 3025– 3028.
- Wieler LH, Szattelberger C, Weiss R, Bauerfeind R, Kutzer P, Failing K, Baljer G.** Serum antibodies against particular antigens of *Borrelia burgdorferi sensu stricto* and their potential in the diagnosis of canine Lyme borreliosis, *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr*,1999 112 (12) s 465–471.
- Yücel A.** Lyme hastalığı: Yurdumuzdaki durum. VI. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 4-6 Eylül 1995.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : VURUCU, Murat
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Konya/Seydişehir 26.08.1987
Telefon : 05544691431
E-mail : le_bron_2_3@hotmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2010

BURSLAR ve ÖDÜLLER:

xxxx

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2014-	Ege Ordusu Gıda Müfreze Komutanlığı Gıda Laboratuvarı	Veteriner Hekim (Tok.Tah.Uzm.)
2012-2014	Ege Deniz Bölge Komutanlığı İzmir İkmal Destek Komutanlığı	Veteriner Hekim (Gıda Kont.Uzm.)
2011-2012	Et ve Süt Kurumu Genel Müdürlüğü Sincan Kombina Müdürlüğü	Veteriner Hekim (Kanatlı İşletme Şefi)
2010-2011	MSB Kalite Yönetim Bölge Başkanlığı Ankara	Veteriner Teğmen (Yedek Subay)

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

xxx

2. PROJELER

xxx

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

xxx

B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler

xxx