

SİVAS YÖRESİNDE *BORRELIA BURGDORFERI* VEKTÖRLERİNİN VE LYME SEROPOZİTİFLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI*

INVESTIGATION OF VECTORS FOR *BORRELIA BURGDORFERI* AND LYME SEROPOSITIVITY IN SIVAS REGION

Turabi GÜNEŞ**, **Ömer POYRAZ*****, **Serpil KAYA*****
Lütfiye GENÇER****, **Ahmet ALİM*******

ÖZET: Bu çalışmada, Sivas yöresinde *Borrelia burgdorferi* için vektör olarak rol oynayan kenelerin varlığının ve Lyme hastalığı seropozitifliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Yöremizden toplanan 10.303 kene cins düzeyinde tanımlanmış ve *B.burgdorferi*'nin vektörü olan *Ixodes* cinsi kenelere rastlanmamıştır. Lyme seropozitifliğinin araştırılması için, risk grubu olarak kırsal kesimde yaşayan ve hayvancılıkla uğraşan 270 kişiden ve kontrol grubu olarak kentsel kesimde yaşayan ve hayvancılıkla ilgisi olmayan 135 kişiden alınan serum örnekleri, *B.burgdorferi* IgG antikor varlığı yönünden ticari bir enzim immünoassay kiti (ImmunoWell Borrelia, Genbio, San Diego) ile taranmıştır. Sonuç olarak riskli gruptaki bireylerin birinde (%0.4) ve kontrol grubundaki bireylerin birinde (%0.7) pozitiflik saptanmış, ancak bu serumlar rapid plasma reagin (RPR) testi ile de pozitif sonuç verdiklerinden çapraz reaksiyon (yalancı pozitif) olarak değerlendirilmişlerdir. Yöremizde gerek *Ixodes* cinsi kenelerin tespit edilememiş olması gerekse riskli olan ve olmayan bireylerde seropozitifliğe rastlanılmaması, bu bölgenin Lyme hastalığı yönünden endemik olmadığını düşündürmüştür.

Anahtar sözcükler: Lyme hastalığı, kene, *Borrelia burgdorferi*, seropozitiflik.

ABSTRACT: The aims of this study were to investigate the presence of vector ticks for *Borrelia burgdorferi* and to determine the seropositivity of lyme disease in Sivas region of Middle Anatolia. A total of 10.303 ticks were collected and classified at genus level, however, none of them belonged to *Ixodes* genus, the vector of *B.burgdorferi*. For the seroepidemiological study, serum samples were collected from 270 subjects who inhabited in rural area and raised livestock, and from 135 subjects as the control group who inhabited in urban area and have no livestock story. The samples were screened for the presence of *B.burgdorferi*

* Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı tarafından SHMYO-002 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

** Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Sivas.

*** Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas.

**** Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Sivas.

***** Sivas İl Halk Sağlığı Müdürlüğü, Sivas.

IgG antibodies with a commercial enzyme immunoassay kit (ImmunoWell Borrelia, Genbio, San Diego). As a result, one subject in the each group (0.4% and 0.7%, respectively) yielded positive result, however as these sera gave positive reaction in rapid plasma reagin (RPR) test, these were evaluated as cross-reactivity (false positivity). These results indicated that lyme disease is not endemic in our region since neither *Ixodes* genus ticks nor seropositive subjects were detected.

Key words: Lyme disease, tick, Borrelia burgdorferi, seropositivity.

GİRİŞ

Lyme hastalığı kene ısırması ile bulaşan, *Borrelia burgdorferi* tarafından oluşturulan ve her aşaması farklı klinik görünümde olan zoonotik bir hastalıktır¹. Hastalıkta eritema migrans (EM) en sık rastlanılan karakteristik deri lezyonu olarak görülürken, spiroketin yayılımı sonucu artrit, nöroborelyoz, splenomegali, miyokardit gibi çeşitli organ tutulumları da gözlenebilir². Erken tanı ve tedavi kronik hastalık tablosunun gelişimini önleyebilmektedir.

B.burgdorferi'nin yaşam siklusunu devam ettirmesinde vektör olarak *Ixodes* cinsi keneler, rezervuar olarak da küçük kemirici hayvanlar rol alırlar³. Farklı *Ixodes* türleri farklı ülkelerde daha yaygın görülürken, ülkemiz *I. ricinus* için uygun bir coğrafyaya sahiptir⁴. Ayrıca ülkemizin zengin bitki örtüsü *B.burgdorferi*'nin rezervuarı olan küçük kemiricilerin yaşaması için de uygun bir ortam oluşturmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, Sivas yöresinde Lyme hastalığının vektörü olan kenelerin araştırılması, eğer varsa bu kenelerde *B.burgdorferi* taşıyıcılığının saptanması ve bölgemizde Lyme seropozitifliğinin belirlenmesi suretiyle ülkemizdeki prevalans haritasının oluşturulması çalışmalarına katkıda bulunulmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Vektör Kenelerin Toplanması ve Sınıflandırılması: Çalışmada, Sivas Merkez ilçeye bağlı 146 köy arasından rastgele örnekleme yöntemi ile seçilen 109 köyde, büyük ve küçük baş hayvanların vücutları üzerinde parazitlenen keneler bir pens yardımıyla yavaşça çekilerek çıkarılmak suretiyle toplandı. Toplanan keneler, içinde su emdirilmiş kurutma kağıtları bulunan ve ağızları yağlı pamukla kapatıldıktan sonra otoklavda steril edilen 10-20 ml'lik küçük şişelere konuldu. Şişeler etiketlenerek sınıflandırma işlemi yapıncaya kadar 4°C'de saklandı. Sınıflandırma için, toplanan kenelerin vücut yapıları (scutum, conscutum, anal oluk, palp, bazis caputuli, vb) stereomikroskop altında detaylı bir şekilde incelendi ve kene tanımlama anahtarlarından yararlanılarak cins düzeyinde tanımlandı⁵. Vektör kene türlerinin (*Ixodes spp*) saptanması halinde, kenelerde *B.burgdorferi* varlığını araştırmak için direk floresan antikor yönteminin (Kirgegaard&Perry Laboratories, Gaithersburg, USA) uygulanması planlandı.

Lyme Seropozitifliğinin Araştırılması: Bu amaçla risk grubu olarak 270 kişi (153 kadın, 117 erkek, yaş aralığı 13-80 yıl, yaş ortalaması 38.2 yıl), kontrol grubu olarak ise 135 kişi (77 kadın, 58 erkek, yaş aralığı 12-76 yıl, yaş ortalaması 37.9 yıl) çalışmaya dahil edildi. Risk grubu olarak, kene toplanan köylerde yaşayan çoban,

hayvan bakıcısı ve süt sağımı yapanlar gibi hayvancılıkla direk teması olan kişiler seçildi. Kontrol grubunu ise Sivas'ta ikamet eden, hayatlarının hiçbir döneminde hayvancılıkla ve kırsal kesimle ilgisi olmayan rastgele seçilmiş gönüllüler oluşturdu. Her iki gruba yaş, cinsiyet, meslek, kene ısırığı öyküsü ve EM benzeri lezyon geçirip geçirmediği ile ilgili soruları içeren bir anket uygulandı.

Çalışma gruplarından toplanan serum örneklerinde *B.burgdorferi* IgG antikorları, ticari bir enzim immunoassay (ELISA) kiti (ImmunoWELL Borrelia Test, Genbio, San Diego) ile araştırıldı. Şüpheli pozitiflik saptanan örnekler tekrar çalışıldı ve pozitif sonuç veren örnekler çapraz reaksiyon olasılığı düşünülerek rapid plasma reagin (RPR) testine de alındı.

B U L G U L A R

Sivas yöresindeki köylerde bulunan sığır, koyun ve keçilerden 10.303 adet kene toplanmış olup bunların cinslerine ve konaklarına göre dağılımı Tablo I'de gösterilmiştir. Kenelerin %79.1'i (8147/10303) sığırlardan, %20.9'u (2156/10303) ise koyun ve keçilerden elde edilmiştir.

Tablo I: Sivas Yöresindeki Kenelerin Cinslerine ve Konaklarına Göre Dağılımı

Konak	Kene Cinsi (n)				
	<i>Boophilus</i>	<i>Rhipicephalus</i>	<i>Dermacentor</i>	<i>Hyalomma</i>	<i>Haemaphysalis</i>
Sığır	5938	1301	275	454	179
Koyun, keçi	311	894	578	58	315
Toplam (%)	6249 (60.6)	2195 (21.3)	853 (8.3)	512 (5)	494 (4.8)

Çalışmamızda, toplanan keneler arasında *B.burgdorferi*'nin vektörü olan *Ixodes* cinsine ait kenelere rastlanmamış ve bu nedenle kenelerin tür düzeyinde ayrımı yapılmamıştır.

Risk grubundaki kişilere uygulanan anket sonucunda, bunların %30'unun (81/270) kene tarafından ısırıldığı, %13'ünün (36/270) ise deri lezyonları olduğu anlaşılmıştır. Deri lezyonu öyküsü olan 36 kişinin 35'inde (%97) kene ısırığı öyküsü de mevcuttur. Kene ısırığı ve deri lezyonu öyküsü, çobanların %51'inden, hayvancılıkla uğraşanların ise %26'sından alınmış olup, bu gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

ELISA ile *B.burgdorferi* IgG antikor pozitifliğinin araştırılması sonunda, risk grubunda %0.4 (1/270), kontrol grubunda ise %0.7 (1/135) oranında pozitiflik saptanmıştır. Bu yöntemin özgüllüğünün düşük olduğu göz önüne alınarak, pozitifliğin saptandığı iki serum örneği, en sık çapraz reaksiyon nedeni olması dolayısıyla treponemal enfeksiyonlar yönünden RPR deneyi ile de incelenmiş ve ikisinin de pozitif reaksiyon verdiği görülmüştür. Ancak çalışmamızda, gerek *B.burgdorferi* IgG pozitifliğinin western blot ile doğrulanması, gerek yalancı pozitifliğe yol açabilecek diğer etkenler yönünden incelemelerin yapılması, gerekse bu kişilere sifiliz yönünden özgül testlerin uygulanması, proje kaynaklarının yetersizliği nedeniyle gerçekleştirilememiştir.

TARTIŞMA

Bir coğrafi bölgenin Lyme hastalığı insidansını, başta *Ixodes* cinsi keneler olmak üzere çeşitli unsurlar belirlemektedir³. Hastalığın epidemiyolojisinde bu unsurlar birbirleriyle etkileşim içindedir ve bu etkileşim o bölgenin risk düzeyini ortaya koymaktadır. İster araziden isterse hayvanlar üzerinden toplansın, *Ixodes* türlerinin bir bölgedeki prevalansı ile o bölge halkındaki *B.burgdorferi* seropozitiflik oranı doğru orantılıdır⁶.

Ülkemizde bugüne kadar *Ixodidae* ve *Argasidae* ailelerine ait 9 cinste 30 kene türü saptanmış durumdadır^{4,7}. Çalışır ve arkadaşlarının⁸ Silivri yöresinde yaptıkları bir çalışmada, evcil hayvanlardan toplanan 835 kenenin %3.6'sının *Ixodes ricinus*, %42.8'inin *Rhipicephalus bursa*, %37'sinin *Hyalomma marginatum (plumbeum)*, %16.2'sinin *Boophilus calcaratus (annulatus)* ve %0.4'ünün *Dermacentor marginatus* türleri olduğu ve *I.ricinus* kenelerinde *B.burgdorferi*'ye rastlanmadığı bildirilmiştir. Merdivenci^{4,9} yaptığı çalışmalarda, *I.ricinus*'un Türkiye'nin her iklim bölgesinde görülebileceğini bildirmiş, ancak hangi hayvanlarda, ne oranda ve ne zaman bulunduğunu belirtmemiştir. Yay ve arkadaşlarının¹⁰ Kayseri yöresinde yaptıkları çalışmada, Ocak-Kasım 2002 tarihleri arasında sığır ve koyunlarda 6 kene cinsine (*Rhipicephalus*, *Hyalomma*, *Haemaphysalis*, *Dermacentor*, *Boophilus*, *Ornithodoros*) ait 11 farklı tür tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer olarak *Boophilus*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Hyalomma* ve *Haemaphysalis* cinsi keneler bulunmuş, ancak *Ixodes* cinsine rastlanmamıştır. Bu bulguların, komşu yöreler olan Sivas ve Kayseri bölgesindeki benzer coğrafi ve iklimsel özelliklerin kene faunası üzerindeki benzer etkilerinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Ülkemizin güney bölgelerinde yapılan çalışmalarda Lyme hastalığının ve *Ixodes* cinsi kenelerin varlığı gösterilmiştir¹¹⁻¹³. Güner ve arkadaşlarının¹⁴ Trakya bölgesinde yaptıkları bir çalışmada ise, *I.ricinus* türü kenelerde *B.burgdorferi* sensu lato suşları ilk kez izole ve karakterize edilmiştir. Yurdumuzda sağlıklı kişilerde %1.4-6.4 arasında saptanan Lyme seropozitifliği, çeşitli risk gruplarında %6-36 arasında değişmektedir^{11,13,15-21}.

Çalışmamızda, Sivas yöresinde yaşayan risk altında olan (n: 270) ve olmayan (n: 135) toplam 405 kişide *B.burgdorferi* IgG seropozitifliği ELISA yöntemiyle araştırılmış ve her iki gruptan birer kişide pozitiflik bulunmuştur. Lyme enfeksiyonunun serolojik tanısında ELISA yönteminin duyarlılığı yüksek olmakla birlikte özgüllüğü düşüktür²². Bu yöntemde, başta treponemal hastalıklar olmak üzere birçok spiroket, bakteri, protozoon hastalıkları ile otoimmün hastalıklar gibi durumlara bağlı çapraz reaksiyonlardan kaynaklanan yalancı pozitiflikler olabilmektedir^{22,23}. Çalışmamızda da bu olasılığın test edilmesi amacıyla RPR testi uygulanan pozitif serum örnekleri bu test ile de pozitif sonuç vermiştir. Dolayısıyla, saptadığımız *B.burgdorferi* seropozitifliğinin yalancı pozitiflik olduğu düşünülmüş, ancak bunların confirmasyonu ve diğer hastalıklar yönünden ileri çalışmaların yapılması ekonomik ve teknik olanaksızlıklar nedeniyle mümkün olamamıştır. Yine de yöremizde *I.ricinus* türü kenelerin tespit edilmemiş olması, bu bölge popülasyonunda Lyme seronegatifliğini destekler niteliktedir.

Diğer cinslere göre daha saldırgan olması nedeniyle *Ixodes* cinsi, faunalarda toplam keneler içerisinde yüksek oranlarda temsil edilmektedir²⁴. Toplanan 10.303 kene içinde bu cinse rastlanmaması, yöremizde *Ixodes* cinsi kenelerin gerçekten bulunmadığını düşündürmektedir. Ayrıca bu cinsin, deniz seviyesinden 1000-1500 metre yüksekliği olan bölgelerde nadir bulunduğu²⁵, yıllık yağış miktarı ve sıcaklığı fazla olan bölgelerde ise daha yaygın görüldüğü bildirilmektedir²⁶. Bizim yöremizin deniz seviyesinden ortalama 1300 metre yükseklikte olması, sahil ve sahile yakın bölgelere göre daha az yağış alması ve daha soğuk olması *Ixodes* cinsine rastlanmamasının nedenleri arasında sayılabilir.

B.burgdorferi vektörünün *Ixodes* cinsi keneler olduğu bilinmesine rağmen, bazı çalışmalar bu bakteriyi diğer sert kene cinslerinin ve bazı sinek türlerinin de düşük oranlarda mekanik olarak taşıyabileceğini ifade etmektedir²⁷. Çalışmamızda saptanan kene cinslerinde *B.burgdorferi* varlığının araştırılmamış olmasının nedeni, toplanan keneler içerisinde biyolojik vektör olan *Ixodes*'lerin bulunmaması ve bölgede bu cins keneler saptanmadığından dolayı bu tip taşıyıcılığın olmayacağını düşünülmesidir.

Çalışmamızda seropozitifliğin saptanmaması nedeniyle, anketlerde alınan kene ısırığı ve EM benzeri lezyon öyküsünün değerlendirilmesinin doğru olmayacağı kanısındayız. Yine de bu öykülerin alındığı kişilerde, kene ısırığı sonrası görülen deri lezyonlarının allerjik reaksiyonlara ya da sekonder bakteriyel enfeksiyonlara bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Benzer olarak, kene ısırığı öyküsü çobanlarda hayvancılıkla uğraşanlara göre anlamlı şekilde yüksek olmakla birlikte, seropozitifliğin saptanmaması nedeniyle enfeksiyon ile mesleki risk arasında bir değerlendirme yapılamamıştır.

Çalışmamızın sonuçları, Sivas yöresinde *Ixodes* cinsi kenelerin bulunmadığını, taranan popülasyonda *B.burgdorferi* seropozitifliğinin saptanmadığını ve bölgemizin Lyme hastalığı yönünden endemik olmadığını göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Shapiro ED, Gerber MA: Lyme disease. Clin Infect Dis 2000, 31: 533-542.
2. Shapiro ED: Tick-borne infections, p: 508-515. In: De Young L (ed), Krugman's Infectious Diseases of Children. 1998, Mosby Year Book Inc, St.Louis.
3. Centers for Disease Control and Prevention: Surveillance for lyme disease-United States, 1992-1998. MMWR 2000, 49 (SS-3):1-11.
4. Merdivenci A: Türkiye Keneleri Üzerine Araştırmalar, s. 420. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayını. 1969. Rektörlük No: 1488, Dekanlık No: 8. Kurtuluş Matbaası, İstanbul.
5. Hoskins JD: Ixodid and argasid ticks. Keys to Their Identification. Vet Clin North Am Small Anim Pract 1991, 21: 185-197.
6. Robertson JN, Gray JS, MacDonald S, Johnson H: Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* infection in blood donors and park rangers in relation to local habitat. Zentralbl Bakteriol 1998, 288: 293-301.
7. Aydın L: Güney Marmara Bölgesi Ruminantlarında Görülen Kene Türleri ve Yayılışları. Doktora Tezi, 1994. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
8. Çalışır B, Polat E, Yücel A: Silivri İlçesinin bazı bölgelerindeki bir kısım evcil hayvanlardan toplanan kenelerin tür ayrımının yapılması ve *Ixodes ricinus*'larda *Borrelia burgdorferi*'nin araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1997, 21: 379-382.
9. Merdivenci A: Türkiye'nin entomolojik coğrafyası, s.114-92. Unat EK, Yaşarol Ş, Merdivenci A (ed), Türkiye'nin Parazitolojik Coğrafyası. 1965, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları No: 42. Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir.

10. Yay M, Yazar S, Aydın L, Şahin İ: Kayseri yöresinde sığır ve koyunlarda kene türlerinin araştırması. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2004, 13: 25-29.
11. Mutlu G, Gültekin M, Ergin Ç ve ark: Antalya yöresinde *B.burgdorferi* antikorlarının ve vektörlerinin araştırılması. Mikrobiyol Bül 1995, 29: 1-6.
12. Tuncer D, Ögünç D, Çolak D ve ark: Yüksek riskli bölgeler ve şehirde *Borrelia burgdorferi* antikor prevalansı. İnfeks Derg 1999, 13: 325-328.
13. Altındış M, Yılmaz S, Bilici D: Kuzey Kıbrıs Bölgesinde *Borrelia burgdorferi* antikor sıklığının araştırılması. İnfeks Derg 2002, 16: 163-166.
14. Guner ES, Hashimoto N, Takada N, Kaneda K, Imai Y, Masuzawa T: First isolation and characterization of *Borrelia burgdorferi* sensu lato strains from *Ixodes ricinus* ticks in Turkey. J Med Microbiol 2003, 52 (Pt 9): 807-813.
15. Tünger O, Büke M: Lyme hastalığı: İzmir ve çevresindeki durum. İnfeks Derg 1995, 9: 345-349.
16. Erensoy A, Seyrek A, Yılmaz M ve ark: Elazığ yöresinde Lyme (*Borrelia burgdorferi*) yaygınlığının araştırılması. XXXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. 7-10 Mayıs 1996, Antalya. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, s: 149. 1996, İstanbul.
17. Göral G, Kılıçturgay K, Aydın L: Antibody prevalence against *Borrelia burgdorferi* in some villages in the province of Bilecik. Tr J Med Sci 1997, 27: 51-53.
18. Tülek N, Aydınтуğ O, Tokgöz G: Nedeni belirlenemeyen artrit olgularında Lyme hastalığının serolojik olarak araştırılması. Mikrobiyol Bül 1998, 32: 131-136.
19. Birengel S, Boşca A, Kurt H, Tekeli E: Sağlıklı bireylerde ve bazı hasta gruplarında Lyme seropozitifliği. Flora 1999, 4: 51-57.
20. Demirci M, Yorgancıgil B, Tahan V, et al: Investigations of seropositivity and vectors of Lyme disease in Isparta region of Turkey. 9th European Congress of Clinical Microbiology and Infection. March 21-24, 1999, Berlin. Clin Microbiol Infect 1999, 5 (Suppl): 643.
21. Aydın K, Köksal I, Çaylan R ve ark: Trabzon yöresinde Lyme seropozitifliği. İnfeks Derg 2001, 15: 141-144.
22. Johnson RC, Johnson BJB: Lyme disease: Serodiagnosis of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection, p: 526-533. In: Rose NR, Conway de Macario C, Folds JD, Lane HC, Nakamura R (eds), Manual of Clinical Laboratory Immunology. 5th ed. 1997, ASM Press, Washington DC.
23. Reed KD: Laboratory testing for Lyme disease: Possibilities and practicalities. J Clin Microbiol 2002, 40: 319-324.
24. Anderson JF: Epizootiology of Lyme borreliosis. Scand J Infect Dis 1991, 77: 23-34.
25. Aeschlimann A, Chamot E, Gigon F, Jeanneret JP, Kessler D, Walther C: *Borrelia burgdorferi* in Switzerland. Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg (A) 1986, 263: 450-458.
26. Fingerle V, Bergmeister H, Liegl G, Vanek E, Wilske B: Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* in Southern Germany: *Borrelia* infection in *Ixodes ricinus*. J Spirochetal Tickborne Dis 1994, 1: 41-45.
27. Hubalek Z, Halouzka J, Juricova Z: Investigation of haematophagous arthropods for borreliae--summarized data, 1988-1996. Folia Parasitol (Praha) 1998, 45: 67-72.