

## Van Bölgesindeki Riskli Gruplarda *Borrelia burgdorferi* Seropozitifliği\*

### Seropositivity of *Borrelia burgdorferi* in Risky Groups in Van Region, Turkey

Mehmet PARLAK<sup>1</sup>, Yasemin BAYRAM<sup>1</sup>, Aytekin ÇIKMAN<sup>2</sup>, Nesrin CEYLAN<sup>3</sup>, Mustafa BERKTAŞ<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van.

<sup>1</sup> Yuzuncu Yil University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Van, Turkey.

<sup>2</sup> Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzincan.

<sup>2</sup> Erzincan University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Erzincan, Turkey.

<sup>3</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Van.

<sup>3</sup> Yuzuncu Yil University Faculty of Medicine, Department of Pediatric Disease, Van, Turkey.

<sup>4</sup> Özel Lokman Hekim Van Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Van.

<sup>4</sup> Lokman Hekim Private Hospital, Microbiology Laboratory, Van, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 26.11.2014 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 11.03.2015

\* Bu çalışma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Başkanlığı (BAPB) tarafından 2012-VF-B024 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

#### ÖZ

Daha sık olarak Kuzey yarım kürede görülen bir hastalık olan Lyme boreliyozu, Kuzey Amerika ve Avrupa'da yaşayan kişilerde kene kaynaklı en yaygın bulaşıcı hastalıktır. Hastalığın etkeni, *Borrelia burgdorferi* olup *Ixodes* cinsindeki kenelerle bulaşmaktadır. Ülkemizde kenelerin yaşadığı ve kene ısırma olgularının bulunduğu bölgelerde Lyme seroprevalansında artış göze çarpmaktadır. Bu çalışmada, Türkiye'nin doğusunda yer alan Van ilinde kırsal bölgede yaşayan risk grubundaki kişilerde Lyme boreliyozu seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bölgemizde bu konuda daha önce yapılmış seroprevalans çalışması bulunmamaktadır. Çalışmaya, Ocak 2012-Temmuz 2012 tarihleri arasında Van merkez ve ilçe kırsalında yaşayan 139'u erkek ve 307'si kadın olmak üzere toplam 446 kişi (yaş ortalaması: 39.6 ± 15.5 yıl) dâhil edilmiştir. Bilgilendirilmiş onam ile çalışmaya katılan kişilerden alınan serum örneklerinde *B.burgdorferi* IgG antikorları ELISA yöntemi ile taranmıştır. Test sonucunda IgG pozitif veya sınırda pozitif olarak saptanan örnekler, Western blot (WB) yöntemi ile doğrulamaya alınmış ve ayrıca bu yöntem ile IgM varlığı da araştırılmıştır. Çalışma sırasında örnek veren kişilere kene veya böcek ısırığına maruz kalıp kalmadıkları sorulmuştur. ELISA yöntemi ile *B.burgdorferi* IgG antikorları, olguların 17'sinde pozitif (%3.8) olarak saptanmış, 14 olguda ise sınırda pozitiflik belirlenmiştir. Pozitif ve sınırda pozitif sonuç

**İletişim (Correspondence):** Yrd. Doç. Dr. Mehmet Parlak, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 65200, Van, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 432 216 4711/6422, **E-posta (E-mail):** mehmetparlak65@hotmail.com

veren 31 serum örneği WB yöntemi ile çalışıldığında, 4 (%12.9) örnekten pozitif; 10 (%32.3) örnekten ise belirsiz (indeterminate) sonuç alınmıştır. Hiçbir örnekte *B.burgdorferi* IgM pozitifliğine rastlanmamıştır. WB yöntemi referans kabul edildiğinde, çalışılan grupta *B.burgdorferi* IgG pozitiflik oranı %0.9 (4/446) olarak belirlenmiştir. Pozitif bulunan 4 olgunun 3'ü, kene veya böcek ısırığı tarif etmiştir. Çalışmamızda saptanan *B.burgdorferi* seroprevalans oranı, ülkemizde bildirilen diğer çalışmalarla kıyaslandığında düşük olarak bulunmuş, bu durumun bölgenin coğrafi yapısı ve kene faunasının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Sonuç olarak, bölgemizin Lyme boreliyozu açısından endemik olmadığı kanaatine varılmış; ancak kene maruziyetini azaltmak için risk grubundaki kişiler için koruyucu sağlık hizmetlerine önem verilmesi gerektiği düşünülmüştür.

**Anahtar sözcükler:** Lyme boreliyozu; *Borrelia burgdorferi*; seropozitiflik; Van.

## ABSTRACT

Lyme borreliosis, which is more prevalent in the northern hemisphere, is the most common tick-borne contagious disease among people living in the North America and Europe. The causative agent of Lyme borreliosis, *Borrelia burgdorferi*, is transmitted by the bites of ticks of the genus Ixodes. In Turkey, the seroprevalence of Lyme disease is increased in regions where ticks and tick-bite cases are prevalent. The present study aimed to determine the seroprevalence of Lyme borreliosis in people at risk, living in the rural areas of Van province, which is located in the eastern region of Turkey. No previous study on this topic has been performed in our province. The study included a total of 446 subjects (mean age:  $39.6 \pm 15.5$  years), of them 139 were male and 307 were female, living in the rural areas of Van province between January 2012 and July 2012. The serum samples collected from participants after informed consent were screened for the presence of *B.burgdorferi* IgG antibodies by ELISA method. Western blot (WB) method was used for the confirmation of positive or borderline positive samples, and also for the investigation of IgM antibodies. During the study, the individuals from whom samples were taken, were questioned whether they have ever been exposed to tick or insect bite. *B.burgdorferi* IgG positivity was detected in 17 (3.8%) of the cases, whereas it was within the limit values in 14 cases. A total of 31 samples which yielded positive and borderline positive results were retested by WB and 4 (12.9%) were detected as positive while 10 (32.3%) of the samples were indeterminate. *B.burgdorferi* IgM antibody positivity was not detected in any of the samples. Considering the WB as reference method, the rate of *B.burgdorferi* IgG seropositivity was estimated as 0.9% (4/446). Three of these four cases were defined as tick or insect bites. The seroprevalence rate of *B.burgdorferi* detected in the present study was low as compared to the results of the other studies reported from Turkey. The reason of this result might be from the geographical characteristics and the differences of tick fauna in our region. As a result, it was concluded that our province is not endemic for Lyme borreliosis, however for the reduction of tick exposure, emphasis must be placed on preventive health services for the individuals at risk.

**Keywords:** Lyme borreliosis; *Borrelia burgdorferi*; seropositivity; Turkey.

## GİRİŞ

Lyme boreliyozu (LB), Kuzey Amerika ve Avrupa'da yaşayan kişilerde kene kaynaklı en yaygın bulaşıcı hastalıktır. Daha sık olarak Kuzey yarım kürede görülen bu hastalığa Asya, Avustralya, Güney Amerika ve Kuzey Afrika'da da rastlanmaktadır<sup>1,2</sup>. Hastalığın etkeni, *Borrelia burgdorferi* sensu lato genotür kompleksinde yer alan spiroketler olup *Ixodes* cinsindeki kenelerle bulaşmaktadır<sup>3</sup>. Avrupa'da insanlar için patojenik olan beş

tür tarif edilmiştir. Bu türler; *B.burgdorferi sensu stricto*, *B.afzelii*, *B.garinii*, *B.bavariensis* ve *B.spielmani*'dir<sup>4</sup>. Türkiye'de yapılan kısıtlı sayıda çalışmada, kenelerden soyutlanan kökenlerin genetik yönden homojen oldukları ve Avrupa kökenleriyle %97-100 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. *B.burgdorferi* genotürlерinin Türkiye'ye Avrupa'dan geldiği ve Asya tipi spiroket bulunmadığı bildirilmiştir<sup>5,6</sup>.

Kenelerin yaşadığı ve kene ısırma olgularının olduğu bölgelerde LB seroprevalansı artış göstermektedir. Özellikle ormanlık ve ağaçlık alanlar boyunca yaygın bir dağılıma sahip olduğu bilinmektedir<sup>7</sup>. Şehirlerde ise riskli bölgeleri, kenelerin bulunabileceği yeşil alanlar ve parklar oluşturmaktadır. Lyme boreliyozu için en yüksek risk grubunu, orman ve tarım işçileri, avcılar, hayvancılıkla uğraşanlar ve kırsal bölgelerde yaşayan bireyler oluşturmaktadır<sup>8,9</sup>.

Türkiye, coğrafi konumu ve iklim koşulları ile LB'nin bildirildiği birçok Avrupa ülkesine benzemekle birlikte, hastalığın ülkemizdeki gerçek insidans ve prevalansı bilinmemektedir. Çalışmada, Türkiye'nin doğusunda yer alan Van ili kırsalında yaşayan risk grubundaki kişilerde LB seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma, LB seroprevalansı açısından bölgemizde ilk olması nedeniyle önem arz etmektedir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Örneklerin Toplanması

Bu çalışma, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından alınan yerel etik kurul onayı ile gerçekleştirildi. Ocak 2012-Temmuz 2012 tarihleri arasında Van merkez ve ilçelerden çalışmaya katılmayı kabul eden kişilerden kan örnekleri alındı. Etkenin, insanlara keneler tarafından bulaşması nedeniyle olgular kırsal bölgede yaşayan kişiler arasından seçildi. Çalışma sırasında örnek vermeyi kabul eden kişilere kene veya böcek ısırığına maruz kalıp kalmadıkları konusunda anket uygulandı. Örnek vermeyi kabul eden kişilerden steril koşullar altında 10 mL venöz kan örneği toplandı. Alınan kan örnekler 1-2 saat içerisinde laboratuvara ulaştırıldıktan sonra 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve çalışma zamanına kadar -80°C'de saklandı.

### Örnek seçimi

Çalışma, kesitsel tipte epidemiyolojik bir araştırma olarak planlandı. Örneklem büyüklüğü, prevalansı bilinen bir olayda küme örnekleme yöntemi kullanılarak belirlendi. Ülkemizde sağlıklı kişilerde *B.burgdorferi* seropozitifliği %2-10 arasında bildirilmektedir<sup>10,11</sup>. Buna göre örneklem büyüklüğü; güven doğruluk oranı %95, prevalans %2-6 ve yanılma payı %3 (d= 0.03) kabul edilerek 83 ile 418 arasında hesaplandı. Çalışma, hedeflenen maksimum örneklem büyüklüğünün daha üzerinde olarak 446 örnek üzerinde yürütüldü. Çalışma kapsamına alınacak bireylerin belirlenmesinde orantılı rastgele örneklem yöntemi kullanıldı.

### ***B.burgdorferi* antikorlarının araştırılması**

Elde edilen serum örneklerinin tümünde, LB taraması amacıyla ELISA yöntemi kullanılarak *B.burgdorferi* IgG antikorları (Anti-Borrelia plus VLsE IgG, Euroimmun, Almanya) araştırıldı. Test sonucunda IgG pozitif bulunan örnekler için Western Blot (WB) tekniği ile doğrulama ve bu örneklerde aynı yöntem ile IgM düzeyleri araştırıldı. Bu amaçla Euroline-WB Borrelia IgG ve IgM (Euroimmun, Almanya) kitleri kullanıldı. WB test şartları üzerinde tanıma duyarlılık ve özgüllüğü artıran VisE ve OspC antijen bantları dahil olmak üzere dokuz adet özgül bant bulunmaktadır.

### **İstatistiksel analiz**

Üzerinde durulan özelliklerden sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalama ve standart sapma olarak verilirken, kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak verildi. Kategorik değişkenler bakımından yapılan oran karşılaştırmalarında Z testi kullanıldı. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alındı ve hesaplamalar için MINITAB (Ver.14) istatistik paket programı kullanıldı.

### **BULGULAR**

Çalışmaya 139'u erkek ve 307'si kadın olmak üzere toplam 446 olgu (ortalama yaş:  $39.6 \pm 15.5$  yıl) dâhil edilmiştir. Erkek olguların yaşları 18-79 (ortalama:  $40.9 \pm 16.3$ ) yıl; kadın olguların yaşları ise 18-93 (ortalama:  $39.1 \pm 15.1$ ) yıl arasındadır. ELISA yöntemi ile *B.burgdorferi* IgG antikorları tüm olguların 17'sinde (%3.8) pozitif olarak saptanırken, 14 olguda sınırdan bulunmuştur. Bu 31 serum örneği WB ile çalışılarak *B.burgdorferi* IgG doğrulanması yapılmış ve IgM varlığı araştırılmıştır. WB yöntemi ile hiçbir örnekte *B.burgdorferi* IgM pozitifliğine rastlanmamıştır. IgG testi sonucunda ise örneklerin 4'ü (%12.9) pozitif, 10'u (%32.3) belirsiz (indeterminate) sonuç vermiştir. Tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde *B.burgdorferi* IgG pozitifliği 446 olgunun 4'ünde olmak üzere %0.9 oranında bulunmuştur. Bu 4 olgunun 3'ünün kene veya böcek ısırığı hikayesi bulunduğu gözlenmiştir. Hem ELISA hem de WB testi sonuçları dâhil olmak üzere, erkek ve kadınlar arasında bulunan fark istatistik olarak anlamlı saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). Kene veya böcek ısırığına maruz kalma hikâyesi olanlar ve olmayanlar arasında ise istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ). Anti-Borrelia plus VLsE IgG ELISA ve WB IgG testi sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

### **TARTIŞMA**

Lyme boreliozunun seroprevalansı, kene kaynaklı hastalıklar arasında ciddi sorun oluşturması nedeniyle, özellikle kuzey yarım kürede daha iyi bilinmektedir. Lyme boreliozu sıklığının Avrupa'da %5-25 arasında olduğu bildirilmektedir<sup>12</sup>. Avrupa'da, İskandinavya'nın güneyi ile Akdeniz ülkelerinin kuzeyinde ve batıdan doğuya doğru gitkiçe artan oranlarda görülmektedir. Hastalığın en çok görüldüğü endemik alanlar ise Orta ve Doğu Avrupa bölgeleridir. Seroepidemiolojik olarak yapılan birçok çalışmada, özellikle çiftçilik gibi açık alanlarda çalışan kişiler arasında *B.burgdorferi* antikor seviyeleri yüksek oranlarda bildirilmektedir<sup>13,14</sup>. Polonya'da açık alanlarda çalışan çiftçiler ile sağlıklı

**Tablo 1.** Anti-Borrelia IgG ELISA ve WB testi sonuçları

>0.05	Anti-Borrelia IgG ELISA			Anti-Borrelia IgG WB*			P değeri
	Pozitif (%)	Sınır değer	Toplam	Pozitif (%)	Sınır değer	Toplam	
Erkek	1 (0.7)	3	139	0	1	4	
Kadın	16 (5.2)	11	307	4 (14.8)	9	27	< 0.05
<b>Toplam</b>	<b>17 (3.8)</b>	<b>14</b>	<b>446</b>	<b>4 (12.9)</b>	<b>10</b>	<b>31</b>	
Kene, böcek ısırığı hikayesi							
Var	7 (3.7)	8	189	3 (20)	5	15	
Yok	10 (3.9)	6	257	1 (6.3)	5	16	> 0.05
<b>Toplam</b>	<b>17 (3.8)</b>	<b>14</b>	<b>446</b>	<b>4 (12.9)</b>	<b>10</b>	<b>31</b>	

\* WB testi ile hiçbir örnekte IgM pozitifliği saptanmamıştır.

kent sakinlerinin karşılaştırıldığı çalışmada, *B.burgdorferi* antikor düzeyi çiftçilerde %33, kent sakinlerinde ise %6 oranında bulunmuştur<sup>14</sup>. Orta Avrupa'da yer alan Slovenya'da *B.burgdorferi* seropozitifliği orman işçilerinde %9.8, kapalı alanlarda çalışan kişilerde ise %4.3 oranında saptanmıştır<sup>15</sup>. Dehnert ve arkadaşları<sup>4</sup> bölgesel farklılıklara rağmen, Almanya'nın her yerinin *B.burgdorferi* için endemik olduğu göstermişlerdir. Orta ve Kuzey Avrupa'da bildirilen bu yüksek *B.burgdorferi* seroprevalansına karşılık Güney Avrupa'da daha az oranda bildirilmektedir<sup>16</sup>.

Hastalığın ülkemizdeki durumu hakkında yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır. Coğrafi konumu ve iklim şartları nedeniyle yüksek kene popülasyonuna sahip olan Türkiye'de ilk LB olguları iki farklı çalışma grubu tarafından 1990 yılında Karadeniz ve Ege bölgelerinde tespit edilmiştir<sup>17,18</sup>. Kenelerin yoğun olarak bulunduğu ülkemizin kuzey bölgelerinde *B.burgdorferi* seroprevalansı yüksek olarak bildirilmiştir. Kaya ve arkadaşları<sup>11</sup> *B.burgdorferi* seroprevalansını, orman işçileri ile çiftçilerin oluşturduğu risk grubundaki kişilerde %10.9, risk grubunda olmayan kan bağışçılarında ise %2.6 olarak bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise Aslan Başbulut ve arkadaşları<sup>10</sup>, çoğunluğunu tarım ve hayvancılıkla uğraşanların oluşturduğu 419 kişiyi değerlendirmiş ve *B.burgdorferi* seroprevalansını %3.3 olarak bildirmiştir. Ülkemizde yapılmış olan ve yukarıda bildirilen çalışmalarla karşılaştırıldığında bölgemizde saptanan *B.burgdorferi* antikor oranı (4/446; %0.9) düşük olarak saptanmıştır. Buna göre, bölgemizin LB açısından endemik olmadığı düşünülmüştür.

Avrupa'dan bildirilen LB olguları, genellikle 40°N ve 60°N enlemler arasında ve deniz seviyesinden 1300 metre yukarıda görülmektedir. Bu farklılığın coğrafi konum, iklim koşulları, kene türleri ve bunların uygun yaşam alanlarına göre değişkenlik gösterdiği bilinmektedir<sup>8,19</sup>. Avrupa'da *Ixodes ricinus* and *Ixodes persulcatus*, Asya'da ise *Ixodes persulcatus* ve *Ixodes ovatus* türü kenelerin bakteriyel enfekte olduğu bilinmektedir<sup>7</sup>. Çalışmanın yapıldığı Van Bölgesi, deniz seviyesinin 1.700 metre üzerinde olup ve *Ornithodoros* türü kenelerin daha sık görüldüğü bir bölge olarak bilinmektedir<sup>20</sup>. Çalışmamızda, Avrupa ve Türkiye'nin kuzey bölgelerine göre LB seroprevalansının daha düşük saptanmasında, böl-

genin bu önemli coğrafi yapısı ve farklı kene faunasının rol oynayabileceği düşünülmüştür. Ayrıca kene ısırığına maruz kalma hikâyesi olanlar ve olmayanlar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmaması; bölgedeki kene türünün *B.burgdorferi* ile enfekte olmadığına dair bir kanıt olarak görülmüştür.

Sonuç olarak bu çalışma, bölgemizde ilk olması nedeniyle önem taşımaktadır. Anadolu'nun doğusundan elde ettiğimiz *B.burgdorferi* seroprevalans oranı, Kuzey Anadolu'ya göre daha düşük bulunmuştur. Bölgemizdeki coğrafi şartlar, iklim koşulları ve kene türlerinin farklı olması bunun nedenleri arasında sayılmıştır. Ancak bölgede LB, halk ve sağlık çalışanları tarafından yeterince bilinmemektedir. Bu nedenle kene maruziyetini azaltmak için risk grubundaki kişilere yönelik koruyucu sağlık hizmetlerine önem verilmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Buczek A, Rudek A, Bartosik K, Szymanska J, Wojcik-Fatla A. Seroepidemiological study of Lyme borreliosis among forestry workers in southern Poland. *Ann Agric Environ Med* 2009; 16(2): 257-61.
2. Moon S, Gwack J, Hwang KJ, et al. Autochthonous lyme borreliosis in humans and ticks in Korea. *Osong Public Health Res Perspect* 2013; 4(1): 52-6.
3. Bulut C, Tufan ZK, Altun S, Altinel E, Kinikli S, Demiröz AP. An overlooked disease of tick bites: Lyme disease. *Mikrobiyol Bul* 2009; 43(3): 487-92.
4. Dehnert M, Fingerle V, Klier C, et al. Seropositivity of Lyme borreliosis and associated risk factors: a population-based study in children and adolescents in Germany (KiGGS). *PLoS One* 2012; 7(8): e41321.
5. Sen E, Uchishima Y, Okamoto Y, et al. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* ticks from Istanbul metropolitan area and rural Trakya (Thrace) region of north-western Turkey. *Ticks Tick Borne Dis* 2011; 2(2): 94-8.
6. Sen E. Epidemiology of lyme disease, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2006; 36(1): 55-66.
7. Heymann WR, Ellis DL. *Borrelia burgdorferi* infections in the United States. *J Clin Aesthet Dermatol* 2012; 5(8): 18-28.
8. Rizzoli A, Hauffe H, Carpi G, Vourc H G, Neteler M, Rosa R. Lyme borreliosis in Europe. *Euro Surveill* 2011; 16(27): pii:19906.
9. Cisak E, Chmielewska-Badora J, Dutkiewicz J, Zwolinski J. Preliminary studies on the relationship between *Ixodes ricinus* activity and tick-borne infection among occupationally-exposed inhabitants of eastern Poland. *Ann Agric Environ Med* 2001; 8(2): 293-5.
10. Aslan Başbulut E, Gözalan A, Sönmez C, et al. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* and tick-borne encephalitis virus in a rural area of Samsun, Turkey. *Mikrobiyol Bul* 2012; 46(2): 247-56.
11. Kaya AD, Parlak AH, Ozturk CE, Behcet M. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* infection among forestry workers and farmers in Duzce, north-western Turkey. *New Microbiol* 2008; 31(2): 203-9.
12. Biesiada G, Czepiel J, Lesniak MR, Garlicki A, Mach T. Lyme disease: review. *Arch Med Sci* 2012; 8(6): 978-82.
13. O'Connell S. Lyme borreliosis: current issues in diagnosis and management. *Curr Opin Infect Dis* 2010; 23(3): 231-5.
14. Cisak E, Chmielewska-Badora J, Zwolinski J, et al. Study on Lyme borreliosis focus in the Lublin region (eastern Poland). *Ann Agric Environ Med* 2008; 15(2): 327-32.
15. Rojko T, Ruzic-Sabljić E, Strle F, Lotric-Furlan S. Prevalence and incidence of Lyme borreliosis among Slovene forestry workers during the period of tick activity. *Wien Klin Wochenschr* 2005; 117(5-6): 219-25.

16. Calderaro A, Montecchini S, Gorrini C, Piccolo G, Chezzi C, Dettori G. Presence of anti-*Borrelia burgdorferi* antibodies and *Borrelia burgdorferi* sensu lato DNA in samples of subjects in an area of the Northern Italy in the period 2002-2008. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 70(4): 455-60.
17. Köksal İ, Saltıkoğlu N, Bingöl T, Öztürk H. Bir Lyme hastalığı olgusu. *ANKEM* 1990; 4: 248.
18. Çakır N, Akandere Y, Hekim N, Kovancı E, Yazıcı H. Türkiye’de iki Lyme olgusu. *Klinik Gelişim Derg* 1990; 3(4): 839-41.
19. Margos G, Piesman J, Lane RS, et al. *Borrelia kurtenbachii* sp. nov., a widely distributed member of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato species complex in North America. *Int J Syst Evol Microbiol* 2014; 64(1): 128-30.
20. Aydın L, Bakirci S. Geographical distribution of ticks in Turkey. *Parasitol Res* 2007; 101(2): 163-6.