



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DÜZCE İLİ ORMAN KÖYLERİNDE
HANTAVİRUS VE *BORRELIA BURGDORFERI*
SEROPREVALANSININ VE
BÖLGE HALKININ FARKINDALIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
NİDA AKAR**

DÜZCE-2016



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DÜZCE İLİ ORMAN KÖYLERİNDE
HANTAVİRUS VE *BORRELIA BURGDORFERI*
SEROPREVALANSININ VE
BÖLGE HALKININ FARKINDALIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
NİDA AKAR**

**YRD. DOÇ. DR. EMEL ÇALIŞKAN
TEZ DANIŞMANI**

DÜZCE-2016

ÖNSÖZ

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan, eğitimim boyunca sevgi ve ilgisini eksik etmeyen çok değerli hocam ve tez danışmanım sayın Yrd. Doç.Dr. Emel ÇALIŞKAN'a; eğitim ve bilime her zaman önem veren, bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan mutluluk duyan, eğitimime büyük katkıları olan ve sevgisini gönülden hissettiğim değerli hocam Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Elif ÖZTÜRK'e; uzmanlık eğitimim boyunca bilgisi ve anlayışı ile her zaman yanımda olan, engin bilgi ve deneyimleriyle katkılarını esirgemeyen değerli hocam sayın Prof. Dr. İdris ŞAHİN'e, bilgi ve tecrübeleri ile uzmanlık eğitimime katkı sağlayan ve değerli hocam sayın Prof. Dr. Şükrü ÖKSÜZ'e, ayrıca tezimin verilerini değerlendirmemde hiçbir yardımını esirgemeyen, değerli hocam sayın Prof. Dr. Handan ANKARALI'ya;

Tez çalışmamda Hantavirus pozitifliklerini doğrulama aşamasında bana yardım ve desteğini sunan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. İ. Mehmet Ali ÖKTEM'e;

Asistanlığım süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili arkadaşım Dr. Özge KILINÇEL başta olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma; laboratuvar ortamında birlikte huzur ve uyum içinde çalıştığımız, tezimin hazırlık aşamasında büyük destek veren, başta Ziya ERDOĞAN ve Cemal ŞAHİN olmak üzere tüm biyolog ve teknisyen arkadaşlarıma;

En sıkıntılı anlarımda beni yalnız bırakmayan, her zaman sevgi, şefkat ve güler yüz ile yaklaşan ve bugünlere gelmemde emeği büyük olan başta kıymetli annem, babam ve abim olmak üzere tüm aileme;

Gelişiyle hayatıma mutluluk ve renk katan ve sevgisiyle bana her zaman destek olan sevgili eşim Ali AKAR'a en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

12.2016

Dr. Nida AKAR

ÖZET

Bu çalışmada Düzce ili orman köylerindeki Hantavirus ve *B. burgdorferi* seroprevalansı ile riskli bölgede yaşayan insanların bu virus ve bakterinin sebep olduğu hastalıklar konusundaki farkındalıkları araştırılmıştır. Anket formu ile çalışmaya katılanların sosyodemografik özellikleri, meslekleri, Hantavirus ve *B. burgdorferi*'nin bulaşında rol oynayabilecek faktörler araştırılmış ve bu faktörlerin Hantavirus ve *B. burgdorferi* seroprevalansı ile ilişkileri irdelenmiştir.

Araştırmaya, 28.06.2016 ile 10.07.2016 tarihleri arasında yapılan saha çalışması ile Düzce iline bağlı orman içi köylerde yaşayan 18-70 yaş arasındaki kişilerden alınan serum örnekleri dahil edilmiştir. Çalışmada serum örneklerinde Hantavirus ve *B. burgdorferi* IgM ve IgG tipinde antikorların tespitinde Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) yöntemi kullanılmış, Hantavirus IgG ile *B. burgdorferi* IgM ve IgG pozitiflikleri Western blot (WB) yöntemi ile doğrulanmıştır.

Düzce iline bağlı orman içi köylerden toplanan 193 adet serum örneği ilk aşamada ELISA yöntemi ile çalışılmış, 11 (% 5.7)'inde Hantavirus IgM, 13 (% 6.7)'ünde Hantavirus IgG, 27 (% 13.9)'sinde *B. burgdorferi* IgM ve 21 (% 10.9)'inde *B. burgdorferi* IgG pozitif olarak bulunmuştur. WB sonuçlarına göre ELISA yöntemi ile *B. burgdorferi* IgM pozitif bulunan 27 örneğin üçü (% 11.1) pozitif, *B. burgdorferi* IgG pozitif bulunan 21 örneğin 12 (% 57)'si pozitif olarak saptanmıştır. Yine ELISA yöntemi ile Hantavirus IgG pozitif bulunan 13 örneğin WB yöntemi ile altısı (% 46.1) pozitif olarak bulunmuştur.

Araştırmamızda kerpiç evde yaşamının ve 61-70 yaş grubunda olmanın *B. burgdorferi* IgG seroprevalansını artıran faktörler olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bölge halkının kene ve kemirgenler yoluyla bulaşan hastalıklar konusunda bilinçli olmadığı gözlenmiş, konu ile ilgili halkı bilgilendirici eğitimlerin yapılması gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Borrelia burgdorferi*, Düzce, Hantavirus, orman köyleri, seroprevalans.

ABSTRACT

In this study, the seroprevalence of Hantavirus and *B. burgdorferi* in forest villages in Düzce province were investigated. The people of living in the risk zone which were investigated their awareness of the diseases caused by this virus and bacterium. The sociodemographic characteristics, occupations, factors that could play a role in transmission of Hantavirus and *B. burgdorferi* were investigated by the questionnaire and the relationship between these factors and Hantavirus and *B. burgdorferi* seroprevalance were investigated.

Blood samples were collected between the dates of 28.06.2016 and 10.07.2016 from the Düzce province forest villages who 18-70 year old aged. In the study, Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) method was used for the detection of Hantavirus and *B. burgdorferi* IgM and IgG type antibodies. Hantavirus IgG and *B. burgdorferi* IgM and IgG positivity were confirmed by Western blot (WB) method.

193 serum samples collected from forest villages in Düzce province were firstly studied by ELISA method, 11 samples (5.7%) positive for Hantavirus IgM, 13 samples (6.7%) positive for Hantavirus IgG, 27 samples (13.9%) positive for *B. burgdorferi* IgM and 21 samples (10.9%) positive for *B. burgdorferi* IgG. Of the 27 *B. burgdorferi* IgM positive samples by ELISA from the study group, three (11.1%) reacted to *B. burgdorferi* antigens by WB. Of the 21 *B. burgdorferi* IgG positive samples by ELISA from the study group, 12 (57%) reacted to *B. burgdorferi* antigens by WB and of the 13 Hantavirus IgG positive samples by ELISA from the study group, six (46.1%) reacted to Hantavirus antigens by WB.

In our study, statistically significant relationships were found between a seropositive reaction to *B. burgdorferi* IgG with living in adobe house and being in the age group of 61-70 years. The people of the region were not conscious about the diseases transmitted by ticks and rodents and we thought that the public should be educated about the this subject.

Key words: *Borrelia burgdorferi*, Duzce, forest villages, Hantavirus, seroprevalence.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfalar</u>
Önsöz	i
Özet.....	ii
İngilizce Özet (Abstract)	iii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	vi
1. Giriş ve Amaç.....	1
2. Genel Bilgiler.....	3
2.1. Hantavirus.....	3
2.1.1. Genel yapısı ve sınıflandırma	3
2.1.2. Tarihçe	4
2.1.3. Hantavirus replikasyonu	5
2.1.4. Patogenez	6
2.1.5. Epidemiyoloji ve bulaş.....	7
2.1.6. Türkiye’de Hantavirus enfeksiyonları.....	9
2.1.7. Hantavirus enfeksiyonlarının kliniği	10
2.1.8. Laboratuvar tanısı	13
2.1.9. Tedavi	14
2.1.10. Korunma.....	14
2.2. <i>Borrelia burgdorferi</i>	15
2.2.1. Sınıflandırma	15
2.2.2. Genel özellikleri	15
2.2.3. Tarihçe	16
2.2.4. Genom	17
2.2.5. Epidemiyoloji ve bulaş	18
2.2.6. Patogenez	20
2.2.7. Klinik	21
2.2.8. Laboratuvar tanısı	23
2.2.9. Tedavi	25

2.2.10. Korunma.....	26
3. Gereç ve Yöntem.....	27
3.1. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi	27
3.2. Örneklerin Toplanması	27
3.3. Çalışma Yöntemi.....	28
3.3.1. Anti-Hantavirus IgM ELISA testi	28
3.3.2. Anti-Hantavirus IgG ELISA testi.....	30
3.3.3. Anti- <i>Borrelia</i> IgM ELISA testi	33
3.3.4. Anti- <i>Borrelia</i> IgG ELISA testi	34
3.3.5. Anti-Hantavirus IgG Western Blot testi	36
3.3.6. Anti- <i>Borrelia</i> IgM ve IgG Western Blot testi	38
3.4. İstatistiksel Yöntem	41
4. Bulgular.....	43
5. Tartışma.....	53
6. Sonuçlar ve Öneriler	67
7. Kaynaklar.....	70
8. Ekler.....	86

SİMGELER VE KISALTMALAR

AKA: Akrodermatitis kronika atrofikans

BOS: Beyin-omurilik sıvısı

BSK: Barbour-Stoenner-Kelly

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

Dbp: Dekorin bağlayan protein

DOBV: Dobrava-Belgrade virus

EIA: Enzim immunoassay

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Gn ve Gc: Hantavirus zarf glikoproteinleri

HPS: Hantavirus pulmoner sendromu

HTNV: Hantaan virus

IFA: İndirek floresan antikor

L: Large

LH: Lyme hastalığı

M: Medium

N: Nükleokapsid proteini

NE: Nefropati Epidemika

Osp: Outer surface protein

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

PUUV: Puumala virus

RdRp: RNA bağımlı RNA polimeraz

RNP: Ribonükleoprotein

RSKA: Renal sendromlu kanamalı ateş

RT-PCR: Rivörs transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu

S: Small

SAAV: Saaremaa virus

SEOV: Seoul virus

VlsE: Değişken yüzey antijeni



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ormanlık alanda yaşam, bu bölgelerde doğal olarak varlığını sürdüren bazı kemirgen ve artropotların taşıdığı enfeksiyon etkenlerinin bulaşı açısından risk oluşturabilmektedir. Bu etkenlerin bölgelere göre sıklığının bilinmesi ve gerekli tedbirlerin alınması toplum sağlığı açısından oldukça önemlidir. *Bunyaviridae* ailesinin bir üyesi olan Hantavirus zarflı, negatif polariteli tek iplikli üç segmentli RNA genomuna sahip bir virustur. İnsanlarda “Renal sendromlu kanamalı ateş” ve “Hantavirus pulmoner sendromu” olarak isimlendirilen iki tür sendroma neden olurken, çeşitli serotipleri ile değişik bölgelerde klinik seyri farklı hastalık tablolarına sebep olmaktadır. Hantavirusun doğadaki başlıca rezervuarlarını çeşitli kemiriciler oluşturmaktadır. İnsanlara bulaşması bu tür enfekte hayvanların idrar, dışkı ve diğer çıkartılarının deri ve mukozalardan girmesi veya bu maddelerle enfekte olmuş havadaki aerosollerin solunmasıyla olmaktadır. Ülkemizde ilk olarak Zonguldak-Bartın-Giresun-Ordu illerinden vakalar bildirilmiş olup, diğer illerden de vaka bildirimi yapılmaktadır. Klinik olarak şüpheli olgularda kesin tanı Hantavirusa özgül laboratuvar testlerinin pozitif sonuçlanması ile koyulmaktadır. Bununla ilgili olarak en yaygın strateji virusa karşı oluşan özgül IgM ve IgG izotipindeki antikorların serumda saptanmasıdır. *Borrelia burgdorferi* ise *Spirochaetacea* ailesinden gevşek kıvrımlı ve hareketli bir spiroket olup *Ixodes* cinsi sert kenelerin ısırması ile insanlara geçmektedir. Bakteri insanlarda tekrarlayan (dönek) ateş ve Lyme hastalığına neden olmaktadır. Tekrarlayan ateş, ani yükselen ve üç ila yedi gün devam eden tipik yüksek ateş atakları ile karakterize lenforetiküler ve hematopoetik dokunun multisistemik, septisemik bir enfeksiyonudur. Lyme hastalığı, multisistemik tutulumları olan ve geç komplikasyonları ile kronik inflamatuvar yanıtı yol açabilen bir zoonozdur. Hastalığın serolojik tanısı için birinci basamakta Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay veya indirek floresan antikor testi ile antikor tayini, ikinci basamakta ise pozitif sonuçlanan kişilerde doğrulama amacıyla Western Blot testi önerilmektedir.

Bu çalışma ile bölgemizde orman köylerindeki Hantavirus ve *B. burgdorferi* seroprevalansı hakkında bilgi sahibi olunması, riskli bölgede yaşayan insanların bu

virus ve bakterinin sebep olduğu hastalıklar konusundaki bilgi düzeylerinin değ erlendirilmesi ve korunmaları için gerekli farkındalığın oluşturulması amaçlanmaktadır.

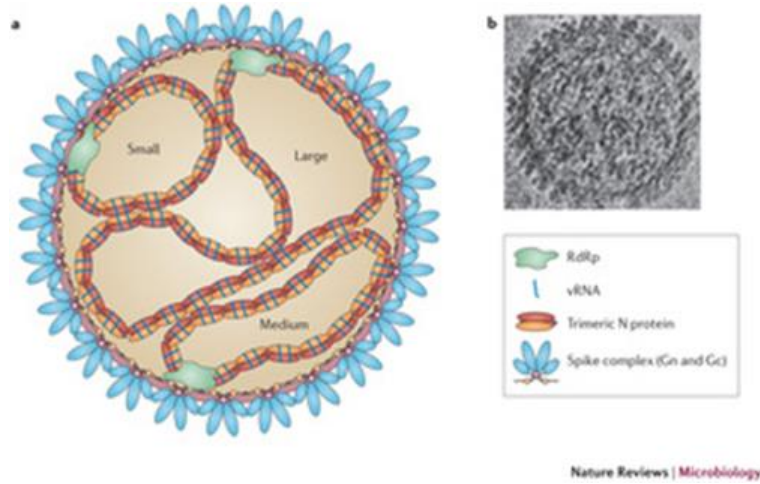


2.GENEL BİLGİLER

2.1. Hantavirus

2.1.1. Genel yapısı ve sınıflandırma

Hantavirus, *Bunyaviridae* ailesinde bulunan beş cinsten biridir. Bunyavirus, Phlebovirus, Nairovirus ve Tospovirus *Bunyaviridae* ailesinde bulunan diğer cinslerdir. Çapları 80 ile 120 nm arasında değişen pleomorfik lipid zarfları olan Hantaviruslar, konak hücrelerin sitoplazmasında replike olmaktadır. Genom olarak tek iplikli, boyutlarına göre L (large), M (medium) ve S (small) olarak adlandırılan üç segmentten oluşan, negatif polariteli çembersel RNA içermektedir. Bu segmentler sırasıyla, RNA bağımlı RNA polimeraz (RdRp) enzimi, zarf glikoproteinleri (Gn ve Gc) ve nükleokapsid proteinini (N) kodlamaktadır (1-3). Hantaviruslar sitoplazmada replike olmakta ve golgi sisteminden tomurcuklanmaktadır (4). Hantavirusun şematik görünümü şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Hantavirusun şematik görünümü (5).

Günümüze kadar 45 civarında Hantavirus türü saptanmış olup, 21’in üzerinde türü rezervuarı olan rodentler yoluyla insanlara bulaşarak proteinüriden pulmoner ödem ve hemorajiye kadar giden klinik bulgulara neden olmaktadır. Her rodent türü

filogenetik olarak farklı Hantavirus türünü taşımaktadır (6). Doğal rezervuarlar enfekte olduktan sonra aylarca veya yıllarca süren persistan enfeksiyon oluşmakta ve rezervuar rodentler virusu saçmaya devam etmektedirler (7). Hastalık rodentlerin salgılarıyla direk temas veya kontamine aerosollerin solunmasıyla bulaşmaktadır (4). Laboratuvar kaynaklı bulaş riski olmakla birlikte insandan insana bulaş Andes virus dışında henüz tanımlanmamıştır (8).

Doğal konak ilişkileri bilinen bazı Hantavirus türlerinin belirli rodentler en önemli konaklarıdır. Hantaviruslar taksonomik yapılandırmada konak ilişkileri baz alınarak üç gruba ayrılırlar. Bunlar Muridae ailesinde yer alan Murinae (Eski dünya rat ve fareleri), Arvicolinae (Bazı kemirici türleri: Vole ve lemming) ve Sigmodontinae (Yeni dünya rat ve fareleri) alt ailelerini konak olarak kullananlar olarak üç gruptur. Şiddetli renal sendromlu kanamalı ateş (RSKA) ile ilişkili Hantavirus türlerinin ana konakları, Murinae rodentlerdir. RSKA'nın daha hafif seyreden bir şekli olan Nefropati Epidemika (NE)'nin etkeni olan Puumala virusun (PUUV) ana konağı Vole'dir. Hantavirus pulmoner sendromu (HPS) tablosu yapan Hantavirus türlerinin konakları Sigmodontinae rodentlerdir. Çoğu Hantavirus türü, özellikle Arvicolinae alt ailesine ait rodentleri konak olarak kullananlar, insan enfeksiyonları ile ilişkilendirilememiştir (9).

2.1.2. Tarihçe

Hantaviruslarla oluşan enfeksiyonlara benzer klinik tanımlamalar ilk olarak M.S. ilk bin yılda Çin'de ve Orta Çağ döneminde İngiltere'de bildirilmiştir. Kore Savaşı'nın geçtiği 1950-1953 yıllarında "Hantaan" isimli küçük bir nehre yakın yerleşimli 3000'den fazla Birleşmiş Milletler askeri, Kore kanamalı ateşi olarak adlandırılan, akut böbrek yetmezliği ve şok ile seyreden akut ateşli bir hastalığa yakalanmışlardır. Kore kanamalı ateşi daha sonra renal sendromlu kanamalı ateş (RSKA) olarak adlandırılmıştır (1). RSKA'dan sorumlu etiyolojik ajan, 1978 yılında Lee ve ark. tarafından Hantaan nehri çevresinde yaşayan kemiricilerden izole edilerek 'Hantaan virus' olarak adlandırılmıştır (10). Klinik olarak RSKA ile

seyreden Hantavirus enfeksiyonları daha çok Asya ve Avrupa kıtasında görülmektedir (8).

Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde Four Corners bölgesinde yaşayan Navajo yerlilerinde, 1993 yılında akut solunum yetmezliği ile yüksek oranda fatal seyreden bir salgın hastalık ortaya çıkmış ve hasta serumlarının Hantavirusla reaksiyon vermesi üzerine etkenin bir Hantavirus olabileceği kanısına varılmıştır. Hastalık ateş, hızlı ilerleyen pulmoner ödem, hematokrit artışı ve trombosit sayısında azalma ile karakterizedir (11,12). “Hantavirus kardiyo-pulmoner sendromu” veya “Hantavirus pulmoner sendromu” (HPS) olarak isimlendirilen bu tablo Amerika kıtasında görülmektedir. İlerleyen süreçte çevredeki kemiricilerden akut solunum yetmezliği tablosundan sorumlu olan yeni bir Hantavirus tipi (Sin Nombre virusu) izole edilmiştir. Kuzey ve Güney Amerika’da da farklı rodent türleri tarafından taşınan yeni Hantavirus tipleri izole edilmiştir (7).

2.1.3. Hantavirus replikasyonu

Hantaviruslar makrofaj, lenfosit, foliküler dendritik hücreler ile özellikle akciğer ve böbrek damar endotellerinde replike olmaktadır (13,14). Virus, hedef hücre membranında bulunan beta-3 integrin reseptörlerine zarf glikoproteinleri ile bağlanarak klatrin kaplı çukurlar yoluyla hücre sitoplazmasına alınıp, erken endozomlara gelmekte, buradan geç endozom ya da lizozomlara teslim edilmektedir (15-17). Endolizozomal kompartman içerisinde virusun soyulma işlemi gerçekleşmekte ve üç adet ribonükleoprotein (RNP) sitoplazmaya serbest halde bırakılmaktadır. Viral RdRp primer transkripsiyonu başlatarak S, M ve L mRNA üretmektedir. S ve L mRNA serbest ribozomlarda, M mRNA membrana bağlı ribozomlarda translasyona uğramaktadır. S mRNA N proteinini, M mRNA Gn ve Gc’yi ve L mRNA RdRp enzimini kodlamaktadır. M mRNA translasyonu ile üretilen glikoprotein öncüsü, Gn ve Gc glikoproteinlerine dönüşüm ve final glikolizasyon için golgi kompleksine transport olmaktadır. Hantaviral enfeksiyonun erken aşamasında virusun hayat siklusunda translasyon ve birleşmeye de içeren birkaç önemli adımda anahtar rol oynayan N proteini çok miktarda sentezlenmektedir (18-

20). Yeni sentezlenen viral RNA'lar N proteini tarafından RNP oluşturmak için enkapside edilmektedir. N proteini enfekte hücre sitoplazmasında en çok bulunan viral proteindir. Yeni çalışmalar N proteininin konak immün cevabı üzerinde düzenleyici etki yaparak virusu immün sistemden koruduğunu göstermiştir (21,22).

Hanta virionlarının golgi kompleksinin membranında şekillenmesini takiben sekretuar veziküller aracılığıyla plazma membranına taşındığı ve ekzositozla ortama salındığı varsayılmaktadır (1).

2.1.4. Patogenez

Hantaviruslar vücuda inhalasyon yoluyla girerek doku makrofajları ile bölgesel lenf gangliyonlarına taşınmakta, burada replike olmakta ve primer viremiyle hedef organlara ulaşmaktadır (9). Asıl replikasyonunu hedef organın vasküler endotelinde gerçekleştiren virus, buradan ikinci viremiyi yapmaktadır. Hantavirus vücutta böbrek, akciğer, kalp ve lenfoid organların vasküler endoteline yerleşmektedir (23).

Hantavirus hedef hücre yüzeyindeki $\beta 3$ -integrin reseptörlerine yapışarak hücreye girmektedir. $\beta 3$ -integrin reseptörleri endotel hücreleri, makrofaj ve trombosit hücre membranında bulunmaktadır (6). Hantaviruslarla enfekte olan hücreler virusun sitopatik etkisi olmadan aktive olan immün sistem hücreleri ile hasara uğramaktadır. İmmün sistemin aktivasyonunda makrofajlar ve CD8 T lenfositleri görev almaktadır. Aktive olan makrofajlardan tümör nekrozis faktör-a (TNF-a), interlökin-1 (IL-1) ve interlökin-6 (IL-6) gibi proinflamatuvar sitokinler salgılanmakta, sitokinler vasküler permeabilitede artışa neden olmaktadır. Hantavirus enfeksiyonlarında meydana gelebilen hipotansiyon ve şok bu sitokinlerin etkisi ile olmaktadır (7).

Hantavirus enfeksiyonunda CD4/CD8 T lenfosit oranı tersine dönmektedir. Yüksek viremi ve dokularda yaygın tutulum görülen olgularda şiddetli sitotoksik T hücresi yanıtı hedef dokularda ciddi hasara neden olmakta ve hastalığın prognozu daha kötü seyretmektedir. Vasküler endotelde hasar ile vasküler permeabilitede

artış, damar dışına sıvı kaçıışı, hipotansiyon, şok ve organ hasarı şeklindeki fizyopatolojik süreç klinik tablodan sorumlu olmaktadır (6).

Hantavirus ile enfeksiyoun başlangıcında Hantavirusa karşı IgM, IgG ve IgA tipi antikor yanıtı oluşmaktadır. Erken dönemde virusun N proteinine karşı, geç dönemde ise Gn ve Gc proteinlerine karşı nötralizan antikorlar oluşmaktadır. Hantavirusa karşı oluşan nötralizan antikorlar yıllarca serumda kalarak kişiyi aynı virus tipine karşı reenfeksiyondan korumaktadır (24).

2.1.5. Epidemiyoloji ve bulaş

Hantavirus cinsinin prototipik üyesi olan Hantaan virus (HTNV); Kore, Çin ve Doğu Rusya'da endemik olarak görülen RSKA'nın şiddetli seyreden formundan sorumludur. Dobrava-Belgrade virus (DOBV) Balkanlar'da ve Yunanistan'da görülen şiddetli RSKA'nın bir ajanıdır, DOBV'nin bir varyantı olan Saaremaa virus (SAAV) Avrupa'daki RSKA'nın etkenidir (25). PUUV NE'nin etkenidir. Bu tür Finlandiya, Norveç, Fransa ve diğer Batı Avrupa ülkelerinde endemiktir. Seoul virus (SEOV) Eski Dünya ve Yeni Dünya'da RSKA'nın etkenidir (26). RSKA'da vaka-ölüm oranı % 0.2'den (PUUV) % 15'e (HTNV) kadar değişmekte ve dünyada her yıl 150.000 RSKA vakası görülmektedir (27). Bu olguların en büyük kısmı (100.000) HTNV ve SEOV tarafından oluşturulmakta ve Çin'de görülmektedir. HPS ile etiyolojik olarak ilişkili olan virus türleri; Kuzey Amerika'da, Sin Nombre virus, Bayou virus, Black Creek virus, New York virus, Choclo virus, Güney Amerika'da ise Andes virus ve Laguna Negra virus'tur. Mayıs 1993-Şubat 2006 tarihleri arası, Kuzey Amerika'da 496, Güney Amerika'da 1427 HPS vakası dökümanite edilmiştir. Sin Nombre virus Kuzey Amerika'da, Andes virus ise Güney Amerika'da HPS'nin majör etkenleridir. Her yıl HPS vakaları RSKA'dan daha az görülmesine rağmen, HPS salgınları % 40-60'lık vaka-ölüm oranı ile genellikle yüksek oranda fatal seyretmektedir (9). Hantavirusların coğrafik dağılımları ve doğal kemirgen konakçıları tablo 1'de gösterilmiştir.

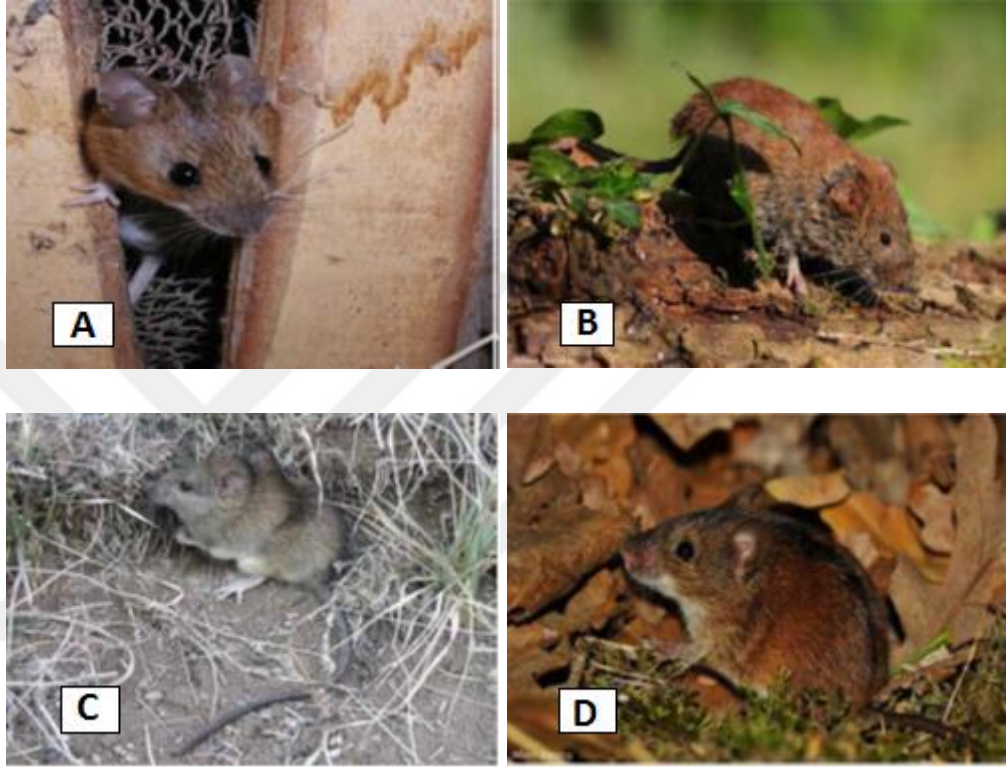
Tablo 1. Hantavirusların coğrafik dağılımları ve doğal kemirgen konakçıları. RSKA: Renal Sendromlu Kanamalı Ateş NE: Nefropati Epidemika, HPS: Hantavirus Pulmoner Sendrom (28).

Grup	Genotip/ Serotipleri	Klinik Sendrom	Doğal kemirgen konakçıları	Bölgesel dağılım
Eski Dünya Hantavirusları	Amur	RSKA	<i>Apodemus peninsulae</i>	Çin, Japonya, Güneydoğu Sibirya
	Dobrava Af	RSKA	<i>Apodemus flavicollis</i>	Avrupa, Balkanlar, Suriye, Lübnan, İsrail
	Dobrava Aa	RSKA	<i>Apodemus agrarius</i>	Orta Avrupa, Çin, Rusya, Kore
	Puumala	NE	<i>Clethrionomys glareolus</i>	Avrupa, Rusya, Balkanlar, İskandinavya, Batı Türkiye
	Seoul	RSKA	<i>Rattus rattus</i> , <i>Rattus norvegicus</i>	Tüm dünyada
	Saaremaa	RSKA	<i>Apodemus agrarius</i>	Avrupa
	Tula	RSKA	<i>Microtus arvalis</i>	Avrupa
Yeni Dünya Hantavirusları	Sin Nombre	HPS	<i>Peromyscus maniculatus</i>	Kuzey Amerika
	Bayou	HPS	<i>Oryzomys palustris</i>	Kuzey Amerika
	Andes	HPS	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	Güney Amerika

İnsanlar Hantavirus ile genellikle, enfekte kemiricilerin aerosol haline gelen solunum sekresyonları, tükürüğü ve idrarının inhale edilmesi veya dışkı, döküntü veya enfeksiyöz virusla kontamine diğer organik materyal partiküllerinin solunması ile enfekte olurlar (29). Enfeksiyonun diğer bulaş yolları arasında, derideki yaraların enfeksiyöz virus ile kontaminasyonu, muköz membranlar ile enfeksiyöz materyalin teması, enfeksiyöz kemiricilerin sekresyonları ve dışkısı ile kontamine olmuş besinlerin yenmesi ve laboratuvar enfeksiyonları bulunmaktadır. Andes virüsü sadece bir vakada akut fazdaki HPS'li bir hasta ile temas sonrası enfeksiyon bildirilmiştir. Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'da insandan insana bulaş hiç rapor edilmemiştir (9).

İnsanlarda enfeksiyon riski; doğada mesleki aktivitelere veya gezi aktivitelerine, enfeksiyöz rodentlerin sayısındaki artış ile ortaya çıkan ekolojik

faktörlere ve yine rodentlerin dışkı ve salgılarına maruz kalma süresini ve sıklığını artıran diğer sebeplere bağlı olabilmektedir. Enfekte rodentleri barındıran kapalı alanların temizliği tekrarlayan enfeksiyonlar için yüksek risk taşımaktadır (9,28). Hantavirusların bulaşında rol oynayan rodentlere ait örnekler şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. Hantavirusların bulaşında rol oynayan rodentler. A) Sarı Boyunlu Orman Faresi (*Apodemus flavicollis*) B) Kırmızı Sırtlı Fare (*Myodes glareolus*) C) Sıçan (*Rattus rattus*) D) Çizgili Orman Faresi (*Apodemus agrarius*) (30).

2.1.6. Türkiye’de Hantavirus enfeksiyonları

İzmir bölgesinde 1997 yılında yapılan bir çalışmada; 231 olgunun 10’unda (% 4.3) Hantavirus-IgG pozitifliği saptanmıştır; ancak bu olguların öyküsünde RSKA ile uyumlu bir klinik tablo tanımlanmamıştır. Bu durum Hantavirusa bağlı gelişen “abortif enfeksiyon” olarak yorumlanmıştır (31). Doğu Karadeniz ve Ege bölgesinde 2004 yılında kemiriciler üzerinde yapılan bir çalışmada 330 kemiriciden dördünün (% 1.2) serumunda Hantavirusa karşı antikor varlığı saptanmış ancak

polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile Hantavirus varlığı gösterilememiştir. Yine 2004 yılında Ege bölgesinde böbrek yetmezliği olan 200 olgunun serumlarında Hantavirusun DOBV ve PUUV tiplerine karşı IgG antikor bakılmış, 24 hastada DOBV tipine karşı IgG antikor pozitif bulunmuş ve bunların yedisi Western Blot (WB) testi ile konfirme edilmiştir (32).

Zonguldak-Bartın bölgesinde 2009 yılı Şubat ayında, insanlarda Hantavirus salgını tespit edilmiştir. Bu salgın ile birlikte Hantavirusun ülkemiz coğrafyasında bulunduğu ve insanlarda RSKA tablosuna yol açtığı bilimsel olarak kesin kriterlerle gösterilmiştir (33). Bu salgında 20 civarında olguda Hantavirus enfeksiyonu serolojik olarak doğrulanmıştır. İlerleyen süreçte Doğu Karadeniz bölgesinde de Hantavirus olguları tespit edilmiştir. Ulusal Hantavirus Çalışma Grubu tarafından yürütülen bir proje çerçevesinde 2009 yılı Haziran ayında Zonguldak-Bartın bölgesinde kemiricilerde Hantavirus sürveyansı yapılmıştır. Salgın bölgesinde yakalanan Apodemus türü 121 kemiricinin yedisinde (% 5.8) ve Myodes türü 53 kemiricin 30'unda (% 56.6) Hantavirus IgG pozitifliği saptanmıştır (34). Bu kemiricilerin dokularından Vero E6 hücre kültürüne ekim yapılmış ve 5 örnekte PUUV, 2 örnekte ise DOBV ürettiği tespit edilmiştir (35). Ülkemiz 66 kemirici ve 16 böcekçil türü ile büyük bir biyolojik çeşitliliğe sahiptir. Dünyada Hantavirusları taşıdığı bilinen kemirici/böcekçil türlerinden; Myodes glareolus, Apodemus flavicollis, Apodemus agrarius (Avrupa tipi), Rattus norvegicus, Microtus arvalis ve Sorex araneus aynı zamanda ülkemizde de mevcuttur (36).

2.1.7. Hantavirus enfeksiyonlarının kliniği

Hantaviruslar rodentlerde kronik asemptomatik bir enfeksiyona neden olmaktadır. Rodentler bir ay ile 12 ay boyunca bu virüsü dışkı veya idrar yolu ile etrafa yaymaktadırlar. İnsanlarda kuluçka süresi 12 ila 21 gündür. Ortalama olarak virusun alımından bir ila beş hafta sonra bulgular ortaya çıkmaktadır (37).

RSKA ve HPS'nin başlıca bulguları ateş, akut trombositopeni ve kapiller geçirgenlikteki geçici artmaya bağlı damar dışına sıvı kaybıdır. RSKA ile HPS arasındaki klinik bulguların farklılığı ise kapiller geçirgenlikteki artışa bağlı olarak

vücutta sıvı kaybının yoğun görüldüğü bölgelerin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. RSKA'da sıvı temel olarak retroperitoneal bölgeye kaçarken, HPS'de kaçak akciğerlere ve göğüs boşluğuna olmaktadır (38,39).

Hastalığın akla getirilmesinde epidemiyolojik sorgulama (hastalığın başlangıcından önceki iki ay içinde kemirici hayvanlarla direkt temas veya çıkartılarıyla muhtemel temas veya bu hayvanların yaşam alanlarına girme öyküsü olup olmadığı) önem kazanmaktadır. Doğada insanlar için risk başlıca mesleki veya rekreasyonel aktivitelerle ya da bir ekolojik faktör etkisiyle değişim sonucu enfeksiyöz kemirgenlerin anormal çoğalmasıyla ilgilidir. Uzun süreler boyunca kapalı kalmış ve bu süre boyunca enfekte kemirgenler tarafından işgal edilmiş kapalı odalarda temizlik aktivitesi enfeksiyon riskinde defalarca kat artış riski ile ilişkili bulunmuştur (9).

2.1.7.1. Hantavirus pulmoner sendromu (HPS)

Hantavirus pulmoner sendromu solunum yetmezliği ve kardiyojenik şok ile karakterize olan Hantavirus enfeksiyonunun en ciddi formudur. İnkübasyon periyodu dokuz ila 33 gün olan hastalık, klinik olarak prodromal faz, kardiyopulmoner faz, iyileşme fazı olarak üç döneme ayrılmaktadır (40). Prodromal faz üç ila altı gün süren akut ateş, titreme, yaygın kas ağrısı, yorgunluk, baş ağrısı, bulantı gibi nonspesifik klinik bulgulardan oluşmaktadır (41). Prodromal faz boyunca, dispne, takipne, kuru öksürük gibi hafif solunum yolu semptomları sıklıkla meydana gelmektedir. Bu dönemde pulmoner oskültasyonda basal raller duyulabilmektedir (42). Kardiyopulmoner fazın en belirgin semptomu dispnede meydana gelen artıştır. Bu fazda kuru öksürük yerini kanlı mukuslu balgam içeren öksürüğe bırakırken hastada progresif pulmoner ödem ve hızla solunum yetmezliği meydana gelmektedir. Solunum yetmezliği ile birlikte hastada hipotansiyon, taşikardi, ardından kardiyojenik şok gelişmektedir. Kardiyojenik şok HPS'de ölümün ana nedenidir (40,43).

Hantavirus pulmoner sendromun şiddeti ve fatalite oranları coğrafik bölgelere göre önemli farklılıklar göstermektedir. Yeni dünya Hantavirusları ile meydana gelen

HPS’de (Sin Nombre, Andes, Araraquara ve Juquitiba virus) fatalite oranları % 25-40 iken, Panama’da (Choclo virus) % 10, Paraguay’da (Laguna Negra virus) ise % 15’tir (43).

2.1.7.2. Renal sendromlu kanamalı ateş (RSKA)

Hastalığın klinik görünümü virüs tipine göre değişkenlik göstermektedir. Tipik RSKA ateş, akut başlangıçlı yetmezlik, hipotansiyon, kanama ve damar geçirgenliğindeki artma ile ilişkilidir. NE olarak adlandırılan hafif klinik formda Avrupa’da SAAV ve PUUV etken olup, mortalite hızı % 0.1-0.4’tür. Orta formda klinik yapan ve dünyada yaygın olan SEOV olup mortalite hızı % 1-2’ dir. En ciddi klinik form yapan viruslar Asya’da HTNV, Avrupa’da ise DOBV olup mortalite hızı % 3-12’dir. DOBV ile enfeksiyon klinik olarak PUUV ile olana benzerlik göstermekte, ancak semptomları daha ağır seyretmektedir (44).

Hastalığın inkübasyon süresi bir ile beş hafta sürmekte, başlangıcında ateşle birlikte nezle benzeri belirtiler vermektedir. RSKA klinik olarak beş dönem olarak tanımlanmaktadır: Ateşli dönem (3-5 gün), hipotansif dönem (birkaç saat-gün), oligürik dönem (3-7 gün), diüretik dönem (birkaç gün-hafta) ve konvelesan dönem (birkaç hafta-ay). Ateşli dönemde akut influenza enfeksiyonu benzeri belirtiler, hipotansif dönemde ise trombositopeni tablosu bulunmaktadır. Hipotansif dönemde meydana gelen şok tablosu ölümle sonuçlanabilmektedir. Oligürik dönemde böbrek yetmezliği tablosu bulunmakta ve vakaların yarısından çoğu bu nedenle ölmektedir. Bu dönemi geçiren hastalar birkaç günden birkaç haftaya uzayan, böbrek fonksiyonlarının iyileşmesinin gerçekleştiği diüretik döneme geçmektedirler. Bu dönemin sonunda birkaç hafta ile birkaç ay süren hastaların tamamen iyileştiği konvelesan dönem başlamakta, nadiren kronik böbrek yetmezliği ve hipertansiyon meydana gelmektedir (1,39).

2.1.8. Laboratuvar tanısı

Hantavirus enfeksiyonlarının laboratuvar tanısında temel yöntem serolojik testlerdir. Özellikle akut hastalık tanısında rivörs transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) gibi yöntemlerin duyarlılığı serolojik yöntemlere göre daha düşüktür. Vireminin insanda kısa süreli olması ve viremi düzeylerinin Kırım Kongo kanamalı ateşi virusu enfeksiyonları gibi *Bunyaviridae* ailesinin diğer üyelerinin yaptığı enfeksiyonlara göre daha düşük düzeyde kalması bu durumu açıklamaktadır (6).

Hantavirus genomunda bulunan S, M ve L segmentlerinden en korunmuş bölgeye sahip olan S segmentidir. Bu nedenle tanısal serolojik testlerde S segmentinin kodladığı N proteinine karşı oluşan antikorların saptanması hedeflenmektedir. Akut hastalık döneminde spesifik IgM pozitifliği ve IgG titresinde en az dört katlık artışın gösterilmesi ile tanı koyulmaktadır. Serolojik yöntem olarak indirek floresan antikor testleri (IFA) yaygın olarak kullanılmaktadır. Akut dönem enfeksiyonların tanımlanmasında bir diğer yaklaşım da düşük aviditeli IgG izotipindeki antikorların varlığının gösterilmesidir. Akut enfeksiyonun erken döneminde ilk oluşan antikorlar virusun humoral bağışık yanıtı uyaran en potent antijeni olan viral N proteinine özgüdür. Bu nedenle enfeksiyonun erken dönemlerinde IFA testleri ile yapılan IgG taramalarında yalnızca bu antikorlar saptanabilmekte ve mikroskopik olarak “granüllü patern” olarak adlandırılan şekilde gözlenmektedir. Hastalık önceden geçirildiğinde ise viral zarf glikoproteinlerine karşı oluşan antikorların da artması nedeniyle mikroskopik olarak “diffüz paternde” pozitiflik gözlenmektedir. Akut Hantavirus enfeksiyonlarının tanısında IFA testlerine ek olarak Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), immunoblot ve IgM antikorlarının μ zincirini yakalayan enzim immunoassay (EIA), nötralizasyon yöntemleri de kullanılmaktadır (45). Nötralizasyon testi Hantavirusların serotiplendirilmesinde altın standart yöntemdir. Ancak zahmetli olması ve biyogüvenlik düzeyi 3 laboratuvarlarda çalışılması gerektiğinden tanıda genellikle kullanılmamaktadır (7,8). Bu nedenle ELISA testinin doğrulanmasında duyarlılık ve özgüllüğü ELISA testine göre yüksek olan immunoblot testleri kullanılmaktadır (46).

Serolojik olarak akut Hantavirus enfeksiyonlarının tanısında geliştirilen en yeni teknoloji ise hasta başında yapılabilen immunokromatografik IgM testleridir. Özellikle Puumala virus enfeksiyonlarının hasta başında hızlı tanısı için geliştirilen bu testlerin duyarlılık ve özgüllüklerinin yüksek olduğu bildirilmektedir (45).

2.1.9. Tedavi

Tedavide temel amaç hastada organ ve doku perfüzyonunun yeterli şekilde sürdürülebilmesidir. Bu nedenle hastanın hipotansiyon ve şoktan korunması için yeterli sıvı desteğinin sağlanması tedavinin esasını oluşturur. RSKA olgularında Ribavirin'in etkinliğini gösteren çalışmalar olmakla birlikte bu ilacın hastalığın tedavisinde kullanımı konusunda görüş birliği yoktur (7).

2.1.10. Korunma

Hantavirusun insanlara bulaşı çoğunlukla orman, bahçe gibi doğal alanlar içinde ve inhalasyon yoluyla olmaktadır. Hastalıktan korunmada en iyi yol, kemirgenlerin idrar, feçes ve salgı gibi çıkartıları ile maruziyetten kaçınmaktır. Kiler, depo, ambar gibi alanlarda oluşabilecek bulaşmadan korunmak için bu alanlarda kemirici kontrolünün sağlanması gerekmektedir. Gıdaların uygun koşullarda saklanması, binaların kemirici girişini engelleyecek şekilde yapılandırılması önerilmektedir (28). Korunma önlemleri içinde en çok dikkat edilmesi gerekenler, Hantavirus enfeksiyonu görülen bölgelerde çatı katı, bodrum, depo gibi riskli alanların temizliği sırasında maske kullanılması, süpürme yerine yıkama yapılması, temizlik sırasında toz kaldıran yöntemlerden kaçınılması ve el hijyenine dikkat edilmesidir. Kemirici idrar ve dışkıyla kontamine olduğu düşünülen alanların dekontaminasyonu için 10 kat sulandırılmış çamaşır suyu kullanılması gerekmektedir (7).

Aşılama Hantavirus enfeksiyonundan korunmada uygulanabilecek diğer bir yöntemdir. Hantaviruslara karşı koruyucu immünite esas olarak Gn ve Gc'ye karşı oluşan nötralizan antikorlarla sağlanmaktadır (47). Hantaviruslar için kemirici

beyninde veya hücre kültürlerinde üretilmiş iki tür aşı bulunmaktadır. Fare beyninde üretilen aşılarda otoimmün ensefalit riski nedeniyle Batı ülkelerinde tercih edilmemekle birlikte Kore’de yavru fare beyninden elde edilen Hantavax® isimli aşı kullanılmaktadır. Aşılanan bireylerin yarısında nötralizan antikorlar oluşmuş ve aşıya bağlı ciddi yan etki bildirilmemiştir. Çin’de kemirici böbrek hücrelerinde üretilen inaktif HTNV ve SEOV aşılardan üç doz SEOV aşısı % 80, üç doz HTNV aşısı ise ancak % 50 olguda nötralizan antikorlar oluşturmuştur. Çin’de hamster böbrek hücrelerinde üretilen, içeriğinde hem HTNV hem de SEOV bulunan bivalent aşıların etkinliği yaklaşık % 90 olarak tespit edilmiştir. Konvansiyonel Hantavirus aşıları etkinlik ve güvenilirliği henüz kesin olarak gösterilmediği için Avrupa ve Amerika’da kullanılmamaktadır (7).

2.2. *Borrelia burgdorferi*

2.2.1. Sınıflandırma

Borrelia burgdorferi, *Spirochaetaceae* ve *Leptospiraceae* ailelerini içeren *Spirochaetales* sınıfında yer almaktadır. *Spirochaetaceae* ailesinde, insanlarda hastalığa neden olan iki cins bulunmaktadır. Bunlar *Borrelia* ve *Treponema*’dır. Bakteri aleminde spiroketler, 16S rRNA sekans analiz sonuçlarına göre farklı bir grup oluşturmaktadır. Spiroketler, morfolojik özellikler ve DNA verileri bakımından birbirine uygun filogeniler oluşturmaktadır (48,49).

2.2.2. Genel özellikleri

Borrelia burgdorferi 0.2 -0.5 µm çap ve sekiz ila 30 µm uzunluğunda, üç ila 30 adet yumuşak kıvrıma sahip olan, burğu ve titreşim şeklinde hareketleri ile oldukça hareketli organizmalardır (48,50). Diğer bakterilerin flajellaları ekzoflajella iken, spiroketlerin flajellaları endoflajella özelliğindedir. Bakterinin yapısı en içte protoplazmik silindir, bunu saran hücre membranı ve 15 ila 29 adet periplazmik

flagella ile en dışta plazmidlerce kodlanan dış membrandan oluşmaktadır (51,52). *B. burgdorferi* endoflajellaları, dış membran altında ve protoplazmik silindirin her iki ucunda, her uçta yedi ila 20 adet olmak üzere subterminal olarak bulunmaktadır (53). *B. burgdorferi* Gram negatif veya pozitif olarak değerlendirilememekte ve Giemsa, Wright veya akridin oranj boyaları ile boyanmaktadır (48,50). Bakteri karanlık saha, faz kontrast ve elektron mikroskopisiyle görülebilmektedir. Kültürde mikroaerofilik ya da anaerobik koşullarda oldukça yavaş üremektedirler. Üremeleri için, N-asetilglikozamin, uzun zincirli doymuş ve doymamış yağ asitlerine gereksinim duymakta ve glikoz fermentasyonu sonucu laktik asit oluşturmaktadırlar (54,55). Optimal üreme sıcaklığı 33 ila 35°C 'dir ve Barbour-Stoenner-Kelly (BSK) besiyerinde, nadiren katı besiyerlerinde zor üremektedir (52). Borreliaların BSK besiyerinde replikasyon süresi 10 ila 26 saattir (50).

Borrelia burgdorferi altı değişik özgül dış yüzey lipoproteini (Outer surface protein: Osp) içermektedir. Bunlar OspA, OspB, OspC, OspD, OspE ve OspF'dir (56-58). Bu lipoproteinler, *B. burgdorferi*'nin sirküler ekstrakromozomal ve lineer tipte plazmidleri tarafından kodlanmaktadır. Bu proteinlerin kronik immünopatolojik değişikliklerden sorumlu olduğu düşünülmektedir (50). Bunların dışında antijenik yüzey lipoproteini olarak değişken yüzey antijeni (VlsE), fibronektin bağlayan protein (BBK32) ve dekorin bağlayan proteinleri (DbpA ve DbpB) de içermektedir. Farklı yüzey proteinlerinin ekspresyonu *B. burgdorferi*'ye virulans, antijenik değişim kapasitesi ve değişik çevrelerde hayatta kalma yeteneği kazandırmaktadır (59).

Lyme hastalığı (LH) etkeni olan *B. burgdorferi* (*B. burgdorferi sensu lato*)'nin OspA'ya göre yedi değişik serotip ve üç değişik genotipi bildirilmiştir. Bu üç genotip; *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* ve *B. afzelii*'dir (60). Genotiplerin OspA içeriğine göre virulansının ve organotropizminin değiştiği sanılmaktadır (61).

2.2.3. Tarihçe

Lyme hastalığına ait ilk bulgu 1883'te Buchwald'ın rapor ettiği atrofik cilt lezyonudur. Herxheimer ve Hartmann 1902'de bu lezyonu akrodermatitis kronika atrofikans (AKA) olarak isimlendirmiş ve AKA tanısı konan hastaların çoğunda

koyun kenesi (*Ixodes ricinus*) tarafından ısırılma öyküsü olduğu tespit edilmiştir (62). İlerleyen yıllarda Afzelius, LH'nin birinci evre lezyonu olan Eritema Kronikum Migrans (EKM)'i, bir hastada kene ısırığı sonrasında genişleyen kızamıklık şeklinde ifade etmiştir (59,63). Lipschütz, 1913'te kene ısırığı sonrasında genişleyen kızamıklık tablosunu Eritema Kronikum Migrans olarak adlandırmıştır. Hellerstorm, 1930'da nörolojik bulgular ve EKM birlikteliğini fark etmiştir. Lennhoff 1948'de, Thyressonise 1949'da hastalığın bakteriyel kaynaklı olabileceğini belirtmiştir (59). ABD'de 1970'lerin başında Connecticut şehrinin Lyme kasabasında çocuklar arasında meydana gelen artrit ile EKM arasında bağlantı olduğu anlaşılmış ve hastalık Lyme hastalığı (LH) olarak tanımlanmıştır (64). Steere ve ark. 1977 yılında LH'nin kırsal kesimlerde yaşayan insanlarda kümeleşme göstermesi ve semptomların mevsimsel olması nedeniyle artropod vektörlerle taşındığını düşünmüşlerdir (65).

Spiroket 1982 yılında Dr. Willy Burgdorfer tarafından karakterize edildiği için etken *Borrelia burgdorferi* olarak adlandırılmıştır (66). Yapılan çalışmalar sonucunda 1992 yılından bu yana *B. burgdorferi* kompleksi (*B. burgdorferi sensu lato*) içinde yer alan üç patojen tür (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* ve *B. garinii*) ve bunlardan başka sekiz tür tanımlanmıştır (67).

2.2.4. Genom

Borrelia burgdorferi'nin genomu, yaklaşık 1000 kb büyüklüğünde küçük lineer kromozomdan ve dokuzu sirküler, 12'si lineer 21 plazmidten oluşmaktadır. Borrelialar, diğer çoğu bakteriden farklı olarak düşük G+C içeriğine sahiptir (48). Büyük lineer plazmid lp54, bir operonda çift dizi halinde sıralanmış iki majör dış yüzey proteini olan OspA ve OspB'yi kodlamaktadır (68). Sirküler bir plazmidde saptanan ilk gen, *B. burgdorferi*'nin bir diğer majör dış yüzey proteini olan OspC'yi kodlamaktadır (69). OspD geninin 38 kb'lık bir lineer plazmid, OspE ve OspF genlerinin 45 kb'lık bir plazmid üzerinde lokalize olduğu bilinmektedir. Spiroketlerin yaşam döngüsünde önemli rolleri olduğu düşünülen lipoproteinleri kodlayan genlerin sayısı oldukça (>150) fazladır. İki plazmid (lp54 ve cp26)'in LH'ya neden olan *Borrelia* türlerinde bulunduğu tespit edilmiştir (48).

Borrelia burgdorferi sensu lato kompleksinde yer alan farklı genotiplerin coğrafik dağılımına göre LH'nın farklı klinik tabloları ön plana çıkmaktadır. Amerika'da yalnız *Borrelia burgdorferi sensu stricto* görülürken, Avrupa'da her üç genotip de bulunmaktadır (70). *B. burgdorferi*'nin Amerika ve Avrupa izolatları arasında morfoloji, dış yüzey proteinleri, plazmidleri ve DNA homolojileri açısından belirgin farklılıklar vardır (71). Avrupa suşlarında Amerika suşlarına göre genetik farklılık daha fazladır (72). Amerika'da *Borrelia burgdorferi sensu stricto* türü ile en sık kas-iskelet sistemi belirtileri görülürken, Avrupa'da en yaygın türler olan *B. garinii* nörolojik bulgularla, *B. afzelii* ise dermatolojik bulgularla seyretmektedir (73,74).

2.2.5. Epidemiyoloji ve bulaş

Lyme hastalığı Kuzey Amerika, Avrupa, Asya'nın bazı bölgeleri ve Kuzey Japonya'da kene kaynaklı en yaygın enfeksiyon hastalığıdır (75). CDC (Centers for Disease Control and Prevention)'nin raporuna göre 1982-1989 yılları arasında vaka sayıları 18 kat artış göstermiştir. Kırk dört devletten 13083 olgu, 1994'te 1993'e göre % 58 artışla rapor edilmiştir (51).

Amerika'nın en çok LH görülen bölgelerinde insidans yaklaşık 0.5/1000'dir. Hastalık en sık 5-9 yaş arasındaki çocuklar ve 45-59 yaş arasındaki yetişkinlerde görülmekle birlikte bütün yaş gruplarında ortaya çıkabilmektedir (75,76).

Lyme hastalığının yıllık insidansı Güney Avrupa'da Kuzey Avrupa'ya göre daha yüksektir. Almanya, Avusturya, Slovenya, İsviçre, İsveç ve batı Rusya en yüksek insidansa sahip ülkelerdir (59,77,78). Hastalığın insidansı İsveç'te 69/100000, Almanya'da 111/100000, Slovenya'da ise 315/100000 olarak bildirilmiştir (76).

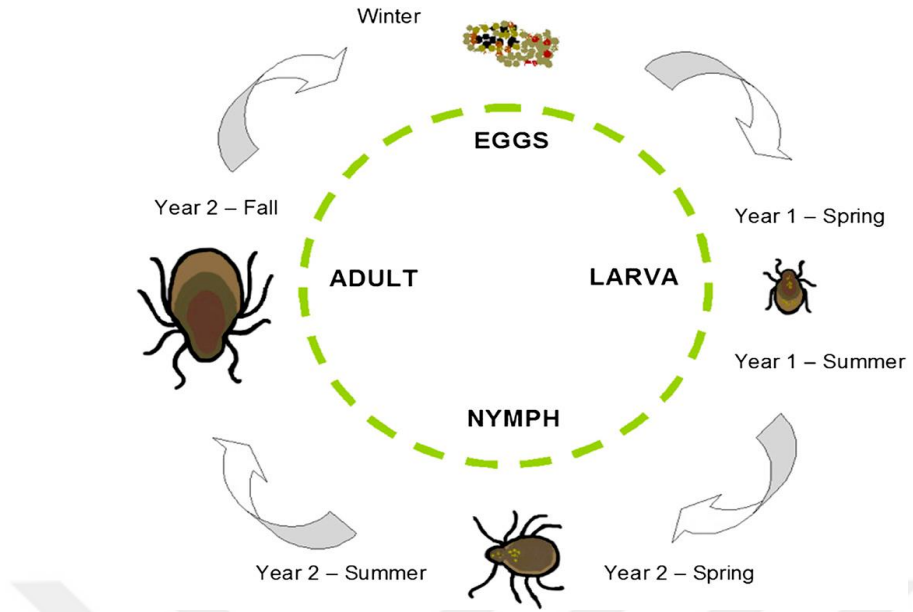
EKM çoğunlukla Haziran ile Ağustos ayları arasında görülmekle birlikte ekstrasutanöz bulguların mevsimsel dağılımı bilinmemektedir. LH erkeklerde kadınlardan daha fazla görülmektedir (59,76,79). Klinik bulgular genellikle çocuklar

ve yetişkinlerde aynı olmakla birlikte Lyme meningoradikülit ve AKA çocuklarda görülmemektedir (80).

Türkiye’de *B. burgdorferi* antikor pozitifliği Ankara’da % 6, Antalya’da % 22.1-35.9, Denizli’de % 18.9, İzmir’de % 7.8, Isparta’da % 19, Kıbrıs’ta % 2.2-17.6 olarak bulunmuştur (81,82). Türkiye’de bulunan *Ixodes* cinsi kenelerde de *B. burgdorferi* araştırılmış, pozitiflik oranları Trakya’da % 95.8, İstanbul’da erişkin kenelerde % 44, nimflerde % 39, Antalya’da % 1.1 iken, Silivri’de pozitiflik tespit edilmemiştir (81,83).

Coğrafik olarak LH dağılımı ile *Ixodes* cinsi kenelerin dağılımı benzerlik göstermektedir. Hastalık ABD’nin kuzeydoğusunda *I. scapularis* tarafından taşınırken kuzeybatısında *I. pacificus* tarafından taşınmaktadır (84,85). Avrupa’da en yaygın vektör *I. ricinus* iken Asya’da ise *I. persulcatus*’tur (86). Yapılan çalışmalarda bazı bölgelerde kenelerin enfeksiyon oranı % 75’in üzerinde bulunmuştur (70).

Ixodes cinsi kenelerin yaşam döngüsü üç farklı aşamadan oluşmaktadır ve yaklaşık iki yıl sürmektedir. Dişiler yumurtalarını toprağa bıraktıktan sonra birinci yılın ilkbaharında larvalar yumurtadan çıkmaktadır. Larvalar kuşlardan ve kemirgenlerden birkaç gün beslenmekte ve ikinci yılın baharına kadar uyuma evresine geçmektedir. Uyuma evresinden sonra nimf formuna geçen keneler bahar sonunda, yaklaşık dört ila yedi gün beslenerek erişkin hale gelmektedir (87). *Ixodes* cinsi kenelerin yaşam döngüsü şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. *Ixodes* cinsi kenelerin yaşam döngüsü (59).

Kenelere bulaş *B. burgdorferi* ile enfekte rodentlerden beslenme yoluyla olmaktadır. Erişkin keneler hastalığı vertikal olarak bulaştırmadıklarından larva formları asla enfekte olmamakta ve hastalığı bulaştırmamaktadır. Hastalığın bulaşında en etkili evre nimf evresidir. Kene bu evreye ilkbahar sonu, yaz başında geçmekte ve insanlarda hastalık en çok bu aylarda ortaya çıkmaktadır. Nimf evresi, erişkin evreye göre çok küçük olduğu için hastalar tarafından geç farkedilmektedir. Bu nedenle de erişkin evreye oranla hastalık bulaşından daha çok sorumludur (51).

Deneyisel verilere göre keneler yoluyla *B. burgdorferi* bulaşı için kenenin insan vücuduna en az 24 saat yapışık kalması gerekmektedir. 24 saatte % 5, 48 saatte % 50 ve dört günden fazla yapışık kaldığında % 100 *B. burgdorferi* bulaşı olmaktadır (88).

2.2.6. Patogenez

Ixodes cinsi kenelerin *B. burgdorferi* ile enfekte olması spiroketi taşıyan omurgalı konaklarından beslenme sırasında olmaktadır. *B. burgdorferi*'nin keneye geçişi sırasında yüzey proteinlerinden OspA ekspresyonu azalırken, OspC ve DbpA ekspresyonu artmaktadır. Keneye geçişinden sonra spiroket kenenin orta barsak

epiteline yerleşerek burada luminal proteazlardan korunmakta ve dormant olarak kalmaktadır (53). Kenenin orta barsak epitelinde OspA için spesifik bir reseptör (TROSPA) bulunmaktadır. *B. burgdorferi* kenenin barsaklarında kolonize olabilmek için adezyon molekülleri olan OspA ve OspB ekspresyonunu artırmaktadır (89).

İnsanlara *B. burgdorferi* bulaşı *Ixodes* cinsi kenelerin ısırmasıyla olmaktadır. Kenenin beslenmesi sırasında barsağında meydana gelen ısı ve pH değişimi spiroketlerin aktivasyonuna neden olmaktadır (90-92). Aktivasyon ile spiroketin yüzey proteinleri değişmekte, çoğalmakta ve barsaktan kenenin hemolenfine ve tükrük bezlerine geçmektedir (49,93). Kenenin tükrük bezinde OspA ekspresyonu azalırken, OspC ve DbpA ekspresyonu artmaktadır. OspC tükrük bezine invazyondan ve konakta ciltteki spesifik reseptörlere bağlanmadan sorumludur (94,95). DbpA ise konak cilt ve cilt altı dokusundaki dekorin ilişkili reseptörlere adezyondan sorumludur (56).

Borrelia burgdorferi vücuda girdikten sonra ilk olarak Toll Like Receptor 2 (TLR 2) tarafından *B. burgdorferi* yüzey proteinleri tanınmakta ve uyarılan fagositlerden proinflatuar sitokinler salınmaktadır (96). Deride mononükleer fagositik hücrelerden ve granülositlerden oluşan, derinin lenfoid hiperplazisini takip eden iltihabi yanıt meydana gelmektedir (97). *B. burgdorferi* lenf yoluyla bölgesel lenf bezlerine ulaşarak kana karışarak diğer organlara yayılmaktadır. Deri, beyin-omurilik sıvısı, eklem sinovyası, miyokart tutulumu yaparak multisistemik enfeksiyona neden olmaktadır (59). *B. burgdorferi*'nin hücre yüzey membranında bulunan immünolojik olarak aktif komponentleri IL-1, IL-6, tümör nekrozis faktör (TNF) ve prostaglandin üretimini indüklemektedir (52). *B. burgdorferi* makrofajların içinde kalarak, fibroblastlara girerek, yüzey proteinlerini değiştirerek veya kollajen liflerle diğer sinovyal yapılara bağlanarak ısrarcı ve kronik inflamasyona neden olmaktadır (98).

2.2.7. Klinik

Lyme hastalığında sifilizin evrelerine benzer şekilde, erken lokalize dönem, erken yaygın dönem ve geç dönem belirtileri şeklinde üç evre tanımlanmaktadır (99).

Tedavi edilmemiş *B. burgdorferi* enfeksiyonlarının doğal seyri oldukça çeşitlidir ve klinik bulgular tek başına ya da çeşitli kombinasyonlar şeklinde ortaya çıkabilmektedir. Olguların çoğunda enfeksiyon kendini sınırlamakta; ancak nadiren *B. burgdorferi* kalıcı olarak kronik hastalık bulguları gelişebilmektedir (48).

Erken evre (evre I) LH'nın en yaygın gözlenen bulgusu kene ısırığı yerinde oluşan EKM'dir. Olguların % 60-90'ında EKM gelişmektedir. Yayılan dairesel lezyon, merkezden itibaren yavaşça solmaya başlayarak 'boğa gözü' olarak tanımlanan görüntüyü oluşturmaktadır. Ateş, myalji, baş ağrısı gibi genel semptomlar ve nadiren menenjit bulguları EKM'ye eşlik etmektedir (59).

Bazı hastalarda, spiroketlerin diğer organ ve dokulara hematogen yolla yayılımı günler hatta haftalar alabilmektedir (evre II). Hastalarda yorgunluk, ateş, baş, eklem, kas ağrıları ve kırgınlık meydana gelmektedir. Meninks, beyin, spinal kord, periferik sinirler ve sinir kökleri gibi nörolojik yapılar da potansiyel hedefler arasında bulunmaktadır. Lyme menenjitinde BOS bulguları çoğunlukla mononükleer pleositöz (10-1000 hücre/ μ l) ve BOS proteininde yükselme şeklindedir. Evre II'de ciddi ensefalit nadiren gözlenmektedir. İkinci evrenin daha ileri klinik bulguları; atriyoventriküler iletim blokları ve oftalmik tutulumla seyreden Lyme karditidir (48).

Enfeksiyonun başlangıcından aylar-yıllar sonra gelişebilen geç evre (evre III)'nin en yaygın bulguları Lyme artriti ve AKA'dır. Tipik olarak dizleri tutan Lyme artriti, genellikle intermittan seyretmektedir. AKA'lı hastalarda infiltratif dönemi atrofik dönem takip etmektedir. Atrofik dönemde deride morumsu renklenmeler, damarların belirginleşmesi ve kırışıklıklar görülmektedir (100). AKA, *B. afzelii* enfeksiyonu ile korele olarak hemen hemen sadece Avrupa'da görülmektedir. Geç evrenin nadir bulgularından biri nöroborreliyozdur. En yaygın semptomlar paraparezi ve tetraparezidir (59).

Lyme hastalığının erken dönem lezyon ve bulguları, kenelerin aktiviteleri ile bağlantılı olarak en sık ilkbahar, yaz ve sonbahar aylarında görülmektedir. Geç dönem bulgularının ise mevsimsel dağılım özelliği bulunmamaktadır (48).

2.2.8. Laboratuvar tanısı

Lyme hastalığının tanısı spiroketin kültürde üretilmesi, immünolojik ya da moleküler tekniklerle spiroketin dokuda gösterilmesi ya da serolojik cevabın dökümente edilmesi ile konulabilmektedir (51).

Lyme hastalığında spiroketemi düzeyi borreliaların mikroskopik olarak saptanabilme sınırının altındadır. Bu nedenle LH'da kan örneğinde kültür ve PCR yöntemlerinin uygulanması önerilmemektedir (101). Hastaların *B. burgdorferi* ile karşılaşp karşılaşmadıklarını belirlemede indirekt bulgu olarak serumda antikor bakılması en uygundur. LH'nın laboratuvar tanısında en yaygın kullanılan testler, özgül antikor saptama testleridir (51).

Ön tanı olarak nöroborrelioz düşünülen hastalarda BOS'ta hücre sayısı ve tiplerinin, protein miktarının ve intratekal IgM ve IgG antikorlarının araştırılması gerekmektedir. Nöroborreliozun en hızlı tanısı intratekal borrelia spesifik antikorların gösterilmesi ile koyulmaktadır (102).

Eritema Kronikum Migrans olgularında lezyondan alınan biyopsi örneklerinde *B. burgdorferi*'nin kültür ile izolasyon oranı % 86'dır (103). Buna rağmen kültür, rutin tanı yöntemi olarak değil esas olarak araştırma amaçlı kullanılmaktadır. Tedavi edilmediğinde *B. burgdorferi* sensu lato deride uzun süre canlılığını koruyabilmektedir. *B. burgdorferi*'nin 10 yıllık bir AKA lezyonundan izole edilmesi bunun ispatı niteliğindedir (104). Kültürde Barbour-Stoenner-Kelly besiyeri kullanılmaktadır. Bu besiyerinde optimum üreme 30-33°C'de mikroaerofilik ortamda gerçekleşmektedir. *B. burgdorferi*'nin jenerasyon zamanı 7-20 saat olduğundan izolatların çoğu üremek için haftalara gereksinim duymaktadır. Besiyerinin renginin kırmızıdan sarıya dönmesi üremenin olduğunu göstermektedir. Üreme gözlenen besiyerlerinden lam-lamel arası preparatlar karanlık alan mikroskobunda incelendiğinde hareketli borreliaların varlığı gözlenmektedir (105,106).

Lyme hastalığında erken antikor yanıtı IgM yapısındadır ve esas olarak dış zarla ilişkili OspC, p39 ve p35 yanısıra flajellum alt birimleri p37 ve p 41'e karşı gelişmektedir (107-109). Çoğu spiroketal antijene karşı IgM antikor yanıtı,

enfeksiyonun ilk haftalarında doruk düzeye ulaşmakta, etkin tedavi ve iyileşmeden aylar sonra da saptanabilmektedir (107). Hastalığın ilk haftalarından itibaren IgG düzeyleri artmaya başlamaktadır. Erken IgG yanıtına neden olan reaktif antijenler; p35, p37, p41, OspC ve VlsE antijenleridir (107,108).

Lyme hastalığının serolojik tanısı için, Ulusal ve Bölgesel Halk Sağlığı Laboratuvarı Yöneticileri Derneği ve CDC tarafından iki aşamalı bir yaklaşım önerilmiştir. Buna göre serum örnekleri birinci adım olarak enzim immünoassay (EIA) veya IFA gibi duyarlı bir serolojik yöntem ile incelenmelidir. Bu yöntemler ile pozitif ya da sınırda bir değer bulunduğunda, standardize WB yöntemi uygulanmalıdır. Negatif bulunan örnekler için bir daha test yapılması gerekmemektedir (110).

Serolojik testlerin hastalığın ilk haftalarında duyarlılıkları düşüktür ve erken dönemde antibiyotik almış vakalarda negatif kalabilmektedir (111). Erken tanıda, rekombinant OspC kullanılan IgM ELISA, tam hücre antijeninin kullanıldığı ELISA'dan daha duyarlıdır. VlsE veya C6 rekombinant antijenleri ise IgG immüno blot duyarlılığını yükseltmektedir. Hastalığın ilerleyen evrelerinde test duyarlılıkları artmakla birlikte bazı kronik LH vakalarının seronegatif kalabileceği hatırlanmalıdır. Sifiliz, leptospiroz ve diğer spiroket hastalıklarında, HIV enfeksiyonu, enfeksiyöz mononükleoz, lupus veya romatoid artritte çapraz reaksiyonlar IFA ve ELISA'da yanlış pozitifliklere neden olabilmektedir (111,112).

Borrelia burgdorferi sensu lato genetik materyalini PCR ile eklem sıvısı, BOS, kan, idrar, deri ve diğer dokularda saptamak mümkün olmakla birlikte duyarlılığı oldukça düşüktür. En yüksek duyarlılık oranları Lyme artritli olguların eklem sıvılarının PCR'ında kaydedilmiş olmakla birlikte, bu tür olguların çok büyük bir kısmı aynı zamanda seropozitif oldukları için eklem sıvısından PCR öncelikli bir seçenek olmamaktadır (112).

2.2.9. Tedavi

Lyme hastalığında erken tedavi sekel bırakmadan iyileşme sağlamaktadır. Üçüncü evre olan kronik evredeki hastalarda tam şifa mümkün olmayabilmektedir. İn vitro birçok antibiyotiğin duyarlılık göstermesine karşın, özellikle makrolid grubu antibiyotikler *invivo* yeterli başarı sağlayamamaktadır. Tedavide özellikle seftriakson olmak üzere geniş spektrumlu sefalosporinler veya kloramfenikol kullanılabilir (113). Tedavi başarısı IgM ve IgG titrelerinin düşmesi ile belirlenmekle birlikte, evre III hastalarda bazen yüksek titre antikor düzeyleri saptanabilmektedir (114).

Kortikosteroidler genel semptomların giderilmesinde, otoimmün mekanizmanın geri döndürülmesinde ve özellikle eklem ağrılarının dindirilmesinde antibiyotik tedavisi ile birlikte kullanılabilir (114).

Antibiyotik tedavisinin ilk üç gününde, özellikle de ilk iki saat içerisinde *Jarish-Herxheimer* (JH) reaksiyonu gözlemlenebilir. Kardile seyreden evre II hastalarda JH reaksiyonu nedeniyle ilk günlerde kardiyak izlem gereklidir (115).

Tedavide özellikle dokuz yaş altındaki çocuklarda ve gebelerde tetrasiklin grubu antibiyotiklerin kullanılmamasına dikkat edilmelidir. Absorbsiyonu ve özellikle BOS'a penetrasyonunun daha iyi olması nedeniyle semisentetik tetrasiklinler (doksisisiklin veya minosiklin) tetrasiklinlere tercih edilmektedir (114).

Meningoradikülit ve Bannwarth Sendromu'nun tedavisi oldukça zordur. Tedaviden sonra hastaların % 50 kadarında spastik paraparezi devam edebilmektedir. Aynı şekilde penisilin tedavisine rağmen artritli ve AKA'lı hastaların yaklaşık % 50'sinde tedavi başarısız kalmaktadır (115,116). Tedavideki başarısızlıklar persistan enfeksiyon, enfeksiyon tarafından tetiklenen immün otoreaktivite ve tedavi öncesi mevcut patolojik değişiklikler nedeniyle olabilmektedir (114).

2.2.10. Korunma

Hastalıktan korunmanın en etkili yolu kene maruziyetinden kaçınmaktır. Uzun kollu giysiler ve uzun pantolon giyerek, böcek uzaklaştırıcı losyonlar sürerek kenelerden korunulabilir, ancak etkili olup olmadığı kontrollü çalışmalarla gösterilmemiştir. Kene ısırmasında parazit en erken sürede deriden tekniğine uygun olarak uzaklaştırılmalıdır. Kene çıkarıldıktan sonra çıkarılan bölge antiseptik solüsyonlarla temizlenmelidir (51).

Hastalıktan korunmanın diğer bir yolu da aşılamaştır. Aşıda *B. burgdorferi*'nin Osp A antijeni kullanılmaktadır. İki kontrollü çalışmada iki doz aşı sonrası birinci yılın sonunda koruyuculuğu % 49-68 iken, ikinci yıl yapılan üçüncü doz aşı sonrası koruyuculuk % 76-92'ye çıkmıştır (117,118). Ne yazık ki aşının etkisinin devam etmesi için düzenli rapel yapılması gerekmektedir. Aşının sadece 15-70 yaş arasındaki riskli bölgelerde yaşayan kişilere yapılması tavsiye edilmektedir (119).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamız Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenen 2016.04.01.424 protokol numaralı projedir. Etik kurul onayı 2016/16 karar no ile 27.06.2016 tarihinde alınmıştır.

3.1. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi

Hantavirus ve *B.burgdorferi*'nin insanlara bulaşmasında etkili olan kemirici hayvanlar ve kenelerin yaşaması için uygun ortam oluşturan Düzce iline ait orman içi köyler çalışmanın evreni olarak belirlenmiştir. Orman Genel Müdürlüğü'nün internet sitesinden edinilen verilere göre yapılan değerlendirmede Düzce ilinde 58 adet ormana bitişik köy, 13 adet orman içi köy olduğu belirlenmiştir. 39070 kişiden oluşan toplam köy nüfusunun 5001'i orman içi köyde yaşamaktadır. Örneklem büyüklüğünün belirlenmesinde testin gücü % 80, birinci tip hata yapma olasılığı % 5 ve literatürdeki görülme sıklıklarının ortalama değeri baz alındığında çalışma için orman içi köylerde yaşayan en az 150 kişiden kan örneği alınması uygun görülmüştür. Orman içi köylerden örnek vermeyi kabul eden toplam 193 kişi çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2. Örneklerin Toplanması

Araştırmaya, 28.06.2016 ile 10.07.2016 tarihleri arasında yapılan saha çalışması ile Düzce iline bağlı orman içi köylerde yaşayan 18-70 yaş arasındaki kişilerden alınan venöz kan örnekleri dahil edilmiştir. Bu amaçla Düzce iline bağlı orman içi köylerden; Aktarla, Alacamescit, Ballar, Çakırsayvan, Çınardüzü, Derdin, Kavakbıçkı, Samandere, Uğur, Nasırlı ve Kemerkasım köylerine gidilerek kan örnekleri çalışmaya katılan kişilerden uygun koşullarda alınmış ve örnek alınan herkese anket yapılmıştır. Anket formunda kişilere yaşı, mesleği, eğitim durumu, evlerinin yapımında kullanılan malzemenin içeriği, sosyo-ekonomik düzeyi, içme suyunu nereden temin ettiği, kirli su ile temas öyküsü, ev ya da çevresinde kemirici hayvan görme öyküsü, kemirici hayvanla temas öyküsü, kene ısırma öyküsü, doktora yüksek ateş ve kanamalı bir hastalıkla başvurma öyküsü ile ciltte kızarıklık ve

eklemde ağrı, kızarıklık, şişlik öyküsü sorulmuştur. Alınan kan örnekleri soğuk zincire uyularak Düzce Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na getirilmiş ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası serumları ayrılan örnekler çalışma gününe kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.3. Çalışma Yöntemi

Çalışmada serum örneklerinde Hantavirus ve *B. burgdorferi* IgM ve IgG tipinde antikorların tespitinde Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) yöntemi kullanılmış, Hantavirus IgG ile *B.burgdorferi* IgM ve IgG pozitiflikleri Westren blot (WB) yöntemi ile doğrulanmıştır.

3.3.1. Anti-Hantavirus IgM ELISA testi

Serum örnekleri Anti- Hanta Virus Pool 1 “Eurasia” ELISA (IgM) test kiti (Euroimmun, Lübeck, Almanya) ile çalışılmıştır. Kuyucuklar Hantavirusun Hantaan, Dobrava ve Puumala serotiplerine ait rekombinant nükleokapsit antijeni ile kaplıdır. Kitler temin edildikten sonra kullanılabilecek kadar üretici firmanın talimatına uygun olarak 2-8°C'de muhafaza edilmiştir. Kitin içeriği aşağıda listelenmiştir.

1. Mikrokuyucuklu plak (12x8 kuyucuk, antijen ile kaplı)
2. Kalibratör (2 ml, IgM, human)
3. Pozitif kontrol (2 ml, IgM, human)
4. Negatif Kontrol (2 ml, IgM, human)
5. Enzim konjugat (12 ml, peroksidaz ile işaretle anti-human IgM)
6. Örnek tamponu (100 ml, IgG/RF absorbenti içerir)
7. Yıkama tamponu(100 ml, 10x konsantre)
8. Kromojen substrat solüsyonu (12 ml, tetrametilbenzidin/H₂O₂)
9. Durdurma solüsyonu (12 ml, 0,5 M sülfirik asit)
10. Koruyucu folyo

Kit içeriği dışında kullanılan malzemeler

- 10 µl, 100 µl ve 1000 µl'lik mikropipetler
- Tek kullanımlık pipet ucu

- 1.5 ml'lik eppendorf
- Distile su
- 1 litrelik temiz erlenmayer
- Vorteks
- ELISA yıkayıcısı (BİO-RAD, model 1575)
- Spektrofotometre (BİO-RAD, model 680)

3.3.1.1. Anti- Hanta Virus Pool 1 “Eurasia” ELISA (IgM) test kiti çalışma prosedürü

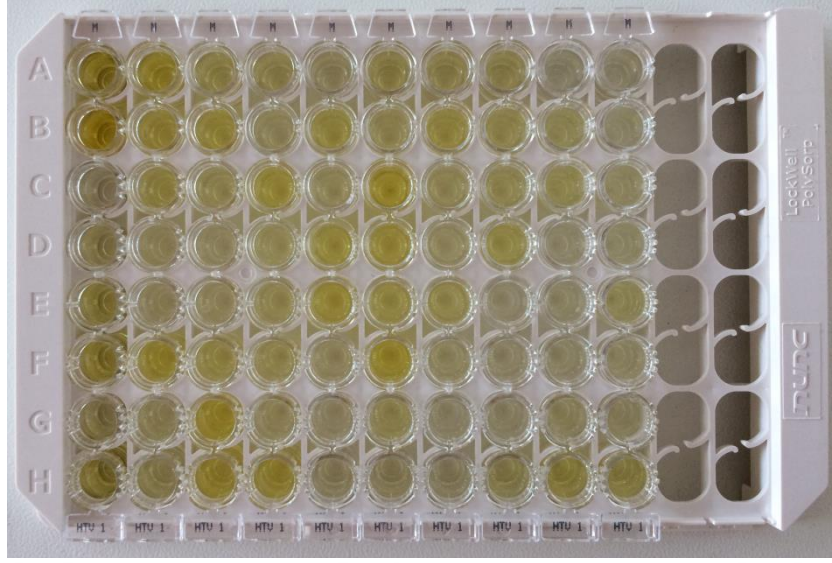
Çalışmaya başlamadan önce tüm malzemeler ve serumlar oda ısısına getirildi. 60 ml'lik konsantre yıkama solüsyonu karıştırıldıktan sonra erlenmayere koyuldu, üzerine 540 ml distile su eklenerek 1/10 oranında dilüe edildi.

Eppendorflara 1000 µl örnek tamponu koyulup üzerlerine karıştırılmış serumlardan 10 µl eklenerek 1/101 oranında sulandırıldı. Vorteks yardımıyla iyice karıştırıldı ve oda ısısında en az 10 dakika bekletildi.

Kalibratör, pozitif ve negatif kontrol reaktifleri karıştırıldı. Birinci, ikinci ve üçüncü kuyucuklara sırasıyla 100'er µl kalibratör, pozitif kontrol ve negatif kontrol koyuldu. Diğer kuyucuklara da 100 µl dilüe serumlar koyularak mikrokuyucuklu plak plastik folyo ile kapatıldı ve 60 dakika 37°C'de inkübe edildi.

Mikrokuyucuklu plak ELISA yıkayıcısına yerleştirilerek üç kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µl enzim konjugat koyularak mikrokuyucuklu plak plastik folyo ile kapatıldı. Oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.

Mikrokuyucuklu plak ELISA yıkayıcısına yerleştirilerek üç kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µl kromojen substrat koyularak karanlıkta ve oda ısısında 15 dakika inkübe edildi. Tüm kuyucuklara 100 µl stop solüsyonu koyuldu. Otuz dakika içinde 450 nm dalga boyundaki spektrofotometrede okutuldu (Şekil 3). Elde edilen optik dansite (OD) değerleri kantitatif olarak değerlendirildi.



Şekil 3. ELISA yöntemiyle anti-Hantavirus IgM tayininde son aşamaya ait görüntü. İlk üç kuyucuk sırasıyla kalibratör, pozitif ve negatif kontrole, kalan kuyucuklar ise çalışma serumlarına aittir.

Firmanın önerisi ile cut-off değerinin üzerindeki değerler pozitif, altındaki değerler negatif olarak kabul edildi ve sonuçları yorumlamada serum örnekleri ile elde edilen kantitatif OD değerleri kalibratör kuyucuğunun OD değerine oranlandı. Oranı $<0,8$ olanlar negatif, $\geq 0,8$ ile $<1,1$ arasında olanlar borderline ve $\geq 1,1$ olanlar pozitif olarak değerlendirildi.

3.3.2. Anti-Hantavirus IgG ELISA testi

Serum örnekleri Anti- Hanta Virus Pool 1 “Eurasia” ELISA (IgG) test kiti (Euroimmun, Lübeck, Almanya) ile çalışılmıştır. Kuyucuklar Hantavirusun Hantaan, Dobrava ve Puumala serotiplerine ait rekombinant nükleokapsit antijeni ile kaplıdır. Kitler temin edildikten sonra kullanılabilecek kadar üretici firmanın talimatına uygun olarak 2-8°C’de muhafaza edilmiştir. Kitin içeriği aşağıda listelenmiştir.

1. Mikrokuyucuklu plak (12x8 kuyucuk, antijen ile kaplı)
2. Kalibratör 1 (2 ml, 200 RU/ml IgG, human)
3. Kalibratör 2 (2 ml, 20 RU/ml IgG, human)
4. Kalibratör 3 (2 ml, 2 RU/ml IgG, human)
5. Pozitif kontrol (2 ml, IgG, human)
6. Negatif Kontrol (2 ml, IgG, human)

7. Enzim konjugat (12 ml, peroksidaz ile işaretli anti-human IgG)
8. Örnek tamponu (100 ml)
9. Yıkama tamponu (100 ml, 10x konsantre)
10. Kromojen substrat solüsyonu (12 ml, tetrametilbenzidin/H₂O₂)
11. Durdurma solüsyonu (12 ml, 0,5 M sülfirik asit)
12. Koruyucu folyo

Kit içeriği dışında kullanılan malzemeler

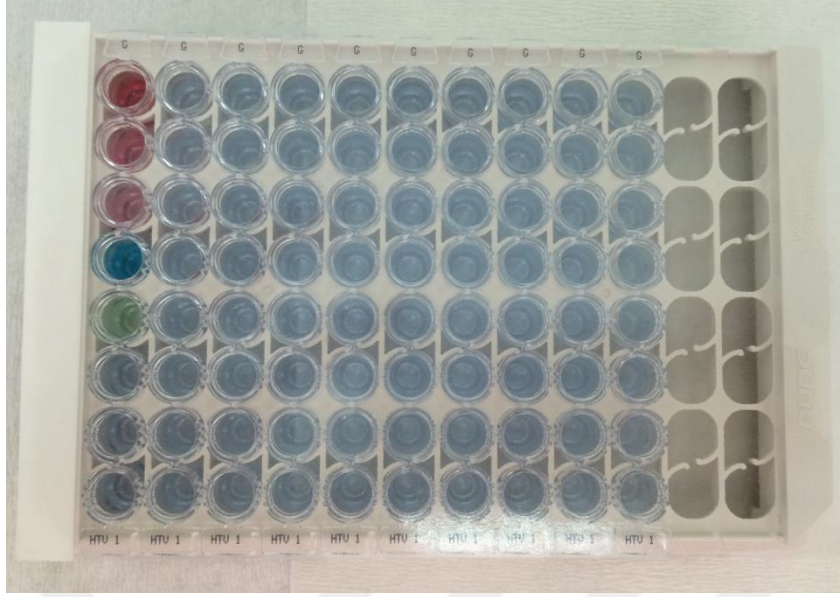
- 10 µl, 100 µl ve 1000 µl'lik mikropipetler
- Tek kullanımlık pipet ucu
- 1.5 ml'lik eppendorf
- Distile su
- 1 litrelik temiz erlenmayer
- Vorteks
- ELISA yıkayıcısı (BİO-RAD, model 1575)
- Spektrofotometre (BİO-RAD, model 680)

3.3.2.1. Anti- Hanta Virus Pool 1 “Eurasia” ELISA (IgG) test kiti çalışma prosedürü

Çalışmaya başlamadan önce tüm malzemeler ve serumlar oda ısısına getirildi. 60 ml'lik konsantre yıkama solüsyonu karıştırıldıktan sonra erlenmayere koyuldu, üzerine 540 ml distile su eklenerek 1/10 oranında dilüe edildi.

Eppendorflara 1000 µl örnek tamponu koyulup üzerlerine karıştırılmış serumlardan 10 µl eklenerek 1/101 oranında sulandırıldı. Vorteks yardımıyla iyice karıştırıldı.

Kalibratör 1, kalibratör 2, kalibratör 3, pozitif ve negatif kontrol reaktifleri karıştırıldı. Birinci, ikinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci kuyucuklara sırasıyla 100'er µl kalibratör 1, kalibratör 2, kalibratör 3, pozitif kontrol ve negatif kontrol koyuldu. Diğer kuyucuklara da 100 µl dilüe serumlar koyularak mikrokuyucuklu plak plastik folyo ile kapatıldı ve 60 dakika 37°C'de inkübe edildi (Şekil 4).



Şekil 4. ELISA yöntemiyle anti-Hantavirus IgG tayininde ilk inkübasyon aşamasına ait görüntü. İlk beş kuyucuk sırasıyla kalibratör 1, kalibratör 2, kalibratör 3, pozitif ve negatif kontrole, kalan kuyucuklar ise dilüe edilmiş çalışma serumlarına aittir.

Mikrokuyucuklu plak ELISA yıkayıcısına yerleştirilerek üç kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µl enzim konjugat koyularak mikrokuyucuklu plak plastik folyo ile kapatıldı. Oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.

Mikrokuyucuklu plak ELISA yıkayıcısına yerleştirilerek üç kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µl kromojen substrat koyularak karanlıkta ve oda ısısında 15 dakika inkübe edildi. Tüm kuyucuklara 100 µl stop solüsyonu koyuldu. Otuz dakika içinde 450 nm dalga boyundaki spektrofotometrede okutuldu. Elde edilen optik dansite (OD) değerleri kantitatif olarak değerlendirildi.

Firmanın önerisi ile sonuçları yorumlamada kantitatif olarak serumların OD değerleri kullanıldı. OD değeri < 16 RU/ml olan serum örnekleri negatif, ≥ 16 ve <22 RU/ml arasında olan serum örnekleri borderline ve ≥ 22 RU/ml olan serum örnekleri pozitif olarak yorumlandı.

3.3.3. Anti-*Borrelia* IgM ELISA testi

Serum örnekleri Anti- *Borrelia* ELISA (IgM) test kiti (Euroimmun, Lübeck, Almanya) ile çalışılmıştır. Kuyucuklar *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii* ve *Borrelia garinii* antijenleri ile kaplıdır. Kitler temin edildikten sonra kullanılabilecek kadar üretici firmanın talimatına uygun olarak 2-8°C’de muhafaza edilmiştir. Kitin içeriği aşağıda listelenmiştir.

1. Mikrokuyucuklu plak (12x8 kuyucuk, antijen ile kaplı)
2. Kalibratör 1 (2 ml, 200 RU/ml IgM, human)
3. Kalibratör 2 (2 ml, 20 RU/ml IgM, human)
4. Kalibratör 3 (2 ml, 2 RU/ml IgM, human)
5. Pozitif kontrol (2 ml, IgM, human)
6. Negatif Kontrol (2 ml, IgM, human)
7. Enzim konjugat (12 ml, peroksidaz ile işaretle anti-human IgG)
8. Örnek tamponu (100 ml, IgG/RF absorbenti içerir)
9. Yıkama tamponu (100 ml, 10x konsantre)
10. Kromojen substrat solüsyonu (12 ml, tetrametilbenzidin/H₂O₂)
11. Durdurma solüsyonu (12 ml, 0,5 M sülfirik asit)

Kit içeriği dışında kullanılan malzemeler

- 10 µl, 100 µl ve 1000 µl’lik mikropipetler
- Tek kullanımlık pipet ucu
- 1.5 ml’lik eppendorf
- Distile su
- 1 litrelik temiz erlenmayer
- Vorteks
- ELISA yıkayıcısı (BİO-RAD, model 1575)
- Spektrofotometre (BİO-RAD, model 680)

3.3.3.1. Anti- *Borrelia* ELISA (IgM) test kiti çalışma prosedürü

Çalışmaya başlamadan önce tüm malzemeler ve serumlar oda ısısına getirildi. 60 ml’lik konsantre yıkama solüsyonu karıştırıldıktan sonra erlenmayere koyuldu, üzerine 540 ml distile su eklenerek 1/10 oranında dilüe edildi.

Eppendorflara 1000 µl örnek tamponu koyulup üzerlerine karıştırılmış serumlardan 10 µl eklenerek 1/101 oranında sulandırıldı. Vorteks yardımıyla iyice karıştırıldı ve oda ısısında en az 10 dakika bekletildi.

Kalibratör 1, kalibratör 2, kalibratör 3, pozitif ve negatif kontrol reaktifleri karıştırıldı. Birinci, ikinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci kuyucuklara sırasıyla 100'er µl kalibratör 1, kalibratör 2, kalibratör 3, pozitif kontrol ve negatif kontrol koyuldu. Diğer kuyucuklara da 100 µl dilüe serumlar koyularak mikrokuyucuklu plak plastik folyo ile kapatıldı ve 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.

Mikrokuyucuklu plak ELISA yıkayıcısına yerleştirilerek üç kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µl enzim konjugat koyularak mikrokuyucuklu plak plastik folyo ile kapatıldı. Oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.

Mikrokuyucuklu plak ELISA yıkayıcısına yerleştirilerek üç kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µl kromojen substrat koyularak karanlıkta ve oda ısısında 15 dakika inkübe edildi. Tüm kuyucuklara 100 µl stop solüsyonu koyuldu. Otuz dakika içinde 450 nm dalga boyundaki spektrofotometrede okutuldu. Elde edilen optik dansite (OD) değerleri kullanılarak kantitatif olarak değerlendirildi.

Firmanın önerisi ile sonuçları yorumlamada kantitatif olarak serumların OD değerleri kullanıldı. OD değeri < 16 RU/ml olan serum örnekleri negatif, ≥16 ve <22 RU/ml arasında olan serum örnekleri borderline ve ≥22RU/ml olan serum örnekleri pozitif olarak yorumlandı.

3.3.4. Anti-Borrelia IgG ELISA testi

Serum örnekleri Anti- *Borrelia* plus VlsE ELISA (IgG) test kiti (Euroimmun, Lübeck, Almanya) ile çalışılmıştır. Kuyucuklar *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii*, *Borrelia garinii* ve rekombinant *B. burgdorferi* VlsE antijenleri ile kaplıdır. Kitler temin edildikten sonra kullanılana kadar üretici firmanın talimatına uygun olarak 2-8°C'de muhafaza edilmiştir. Kitin içeriği aşağıda listelenmiştir.

1. Mikrokuyucuklu plak (12x8 kuyucuk, antijen ile kaplı)
2. Kalibratör 1 (2 ml, 200 RU/ml IgG, human)
3. Kalibratör 2 (2 ml, 20 RU/ml IgG, human)
4. Kalibratör 3 (2 ml, 2 RU/ml IgG, human)
5. Pozitif kontrol (2 ml, IgG, human)

6. Negatif Kontrol (2 ml, IgG, human)
7. Enzim konjugat (12 ml, peroksidaz ile işaretli anti-human IgG)
8. Örnek tamponu (100 ml)
9. Yıkama tamponu (100 ml, 10x konsantre)
10. Kromojen substrat solüsyonu (12 ml, tetrametilbenzidin/H₂O₂)
11. Durdurma solüsyonu (12 ml, 0,5 M sülfirik asit)

Kit içeriği dışında kullanılan malzemeler

- 10 µl, 100 µl ve 1000 µl'lik mikropipetler
- Tek kullanımlık pipet ucu
- 1.5 ml'lik eppendorf
- Distile su
- 1 litrelik temiz erlenmayer
- Vorteks
- ELISA yıkayıcısı (BİO-RAD, model 1575)
- Spektrofotometre (BİO-RAD, model 680)

3.3.4.1. Anti- *Borrelia* plus VlsE ELISA (IgG) test kiti çalışma prosedürü

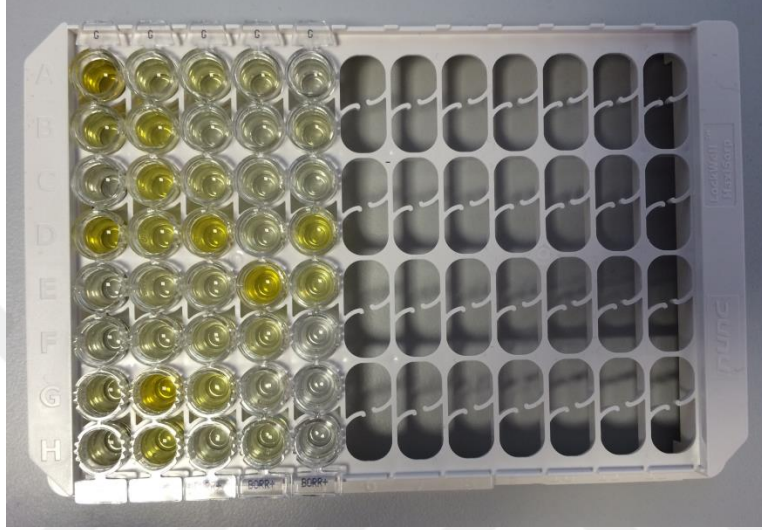
Çalışmaya başlamadan önce tüm malzemeler ve serumlar oda ısısına getirildi. 60 ml'lik konsantre yıkama solüsyonu karıştırıldıktan sonra erlenmayere koyuldu, üzerine 540 ml distile su eklenerek 1/10 oranında dilüe edildi.

Eppendorflara 1000 µl örnek tamponu koyulup üzerlerine karıştırılmış serumlardan 10 µl eklenerek 1/101 oranında sulandırıldı. Vorteks yardımıyla iyice karıştırıldı.

Kalibratör 1, kalibratör 2, kalibratör 3, pozitif ve negatif kontrol reaktifleri karıştırıldı. Birinci, ikinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci kuyucuklara sırasıyla 100'er µl kalibratör 1, kalibratör 2, kalibratör 3, pozitif kontrol ve negatif kontrol koyuldu. Diğer kuyucuklara da 100 µl dilüe serumlar koyularak mikrokuyucuklu plak plastik folyo ile kapatıldı ve 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.

Mikrokuyucuklu plak ELISA yıkayıcısına yerleştirilerek üç kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µl enzim konjugat koyularak mikrokuyucuklu plak plastik folyo ile kapatıldı. Oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.

Mikrokuyucuklu plak ELISA yıkayıcısına yerleştirilerek üç kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µl kromojen substrat koyularak karanlıkta ve oda ısısında 15 dakika inkübe edildi. Tüm kuyucuklara 100 µl stop solüsyonu koyuldu. Otuz dakika içinde 450 nm dalga boyundaki spektrofotometrede okutuldu (Şekil 5). Elde edilen optik dansite (OD) değerleri kantitatif olarak değerlendirildi.



Şekil 5. ELISA yöntemiyle anti-*B.burgdorferi* IgG tayini. İlk beş kuyucuk sırasıyla kalibratör 1, kalibratör 2, kalibratör 3, pozitif kontrol ve negatif kontrole, kalan kuyucuklar çalışma serumlarına aittir.

Firmanın önerisi ile sonuçları yorumlamada kantitatif olarak serumların OD değerleri kullanıldı. OD değeri < 16 RU/ml olan serum örnekleri negatif, ≥ 16 ve <22 RU/ml arasında olan serum örnekleri borderline ve ≥ 22 RU/ml olan serum örnekleri pozitif olarak yorumlandı.

3.3.5. Anti-Hantavirus IgG Western Blot testi

Anti-Hantavirus IgG ELISA testi ile pozitif sonuç veren serum örneklerinde Anti- Hanta Profile 1 (IgG) (Euroimmun, Lübeck, Almanya) test kiti ile doğrulama yapıldı. Test kiti ile serum ya da plazma örneklerinde Hantavirusun Puumala

(PUUV), Dobrava (DOBV) ve Hantaan (HTNV) serotiplerine karşı oluşmuş IgG antikorları kalitatif olarak tespit edilmektedir. Kitin içeriği aşağıda listelenmiştir.

1. Test stripleri (16 adet, Hantavirusun PUUV, DOBV ve HTNV serotiplerine ait nükleokapsid antijeni içerir.)
2. Pozitif kontrol (1x0.02 ml, IgG, human, 100x konsantre.)
3. Enzim konjugat (1x3ml, alkalen fosfataz ile işaretli anti-human IgG, 10x konsantre.)
4. Blocking buffer (1x30 ml, kullanıma hazır)
5. Universal buffer (1x50 ml, 10x konsantre)
6. Substrat solüsyonu (1x30 ml, Nitrobluetetrazoliumchloride/5-Bromo-4-chloro-3'-indolylphosphat (NBT/BCIP), kullanıma hazır)
7. Test talimatları (1 kitapçık).

Kitin içeriği dışında kullanılan malzemeler

- 10 µl, 100 µl ve 1000 µl'lik mikropipetler
- Tek kullanımlık pipet ucu
- 1.5 ml'lik eppendorf
- Distile su
- 1 litrelik temiz erlenmayer
- Vorteks
- Çalkalayıcı

3.3.5.1. Anti- Hanta Profile 1 (IgG) test kiti çalışma prosedürü

Çalışmaya başlamadan 30 dakika önce tüm malzemeler ve serumlar oda ısısına getirildi. Universal buffer distile su ile 1/10 oranında sulandırıldı. Kullanıma hazır hale getirmek üzere pozitif kontrol (100x konsantre) 1/100, enzim konjugat (10x konsantre) 1/10 oranında universal buffer ile dilüe edildi.

Kullanıma hazır stripler paketinden çıkarılarak sırayla, numaraları görülecek şekilde inkübasyon kanallarına yerleştirildi. Her strip üzerine 1.5 ml blocking buffer eklenerek 15 dakika çalkalayıcı üzerinde, oda ısısında inkübe edildi. Inkübasyon sonrası kanallardaki sıvı boşaltılarak, kanallara sırasıyla 1.5 ml universal buffer ile 1/101 oranında dilüe edilmiş serum örnekleri eklendi. 30 dakika çalkalayıcıda ve oda

ısısında inkübe edildi. Kanallardaki sıvı ortamdan uzaklaştırılarak her kanala 1.5 ml dilüe universal buffer koyuldu ve stripler beş dakika çalkalayıcıda yıkandı. Bu işlem üç kere tekrar edildi. Kanallardaki sıvı boşaltıldıktan sonra her kanala 1.5 ml dilüe enzim konjugat koyularak 30 dakika çalkalayıcıda ve oda ısısında inkübe edildi. Kanallardaki sıvı alındıktan sonra her kanala 1.5 ml dilüe universal buffer koyuldu ve stripler beş dakika çalkalayıcıda yıkandı. Bu işlem üç kere tekrar edildi. Kanallardaki sıvı boşaltıldıktan sonra her kanala 1.5 ml substrat eklenerek 10 dakika çalkalayıcıda ve oda ısısında inkübe edildi. Kanallardaki sıvı uzaklaştırılarak her strip distile su ile bir dakika çalkalayıcıda ve oda ısısında yıkandı. Bu işlem üç kere tekrar edildi.

İnkübe edilen stripler sırayla temiz kağıt üzerine koyuldu ve kuruduktan sonra yapıştırıcı folyoların üzerine düz bir şekilde yapıştırıldı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda EUROLinScan (Euroimmun, Lübeck, Almanya) programı ile stripler değerlendirildi. PUUV, DOBV ve HTNV serotiplerine ait pozitiflik ve negatiflikler dökümanite edildi.

3.3.6. Anti-Borrelia IgM ve IgG Western Blot testi

Anti-Borrelia IgM ELISA testi ile pozitif sonuç veren serum örneklerinde Anti-Borrelia IgM Western Blot (Euroimmun, Lübeck, Almanya) testi; Anti-Borrelia IgG ELISA testi ile pozitif sonuç veren serum örneklerinde Anti-Borrelia IgG Western Blot (Euroimmun, Lübeck, Almanya) testi ile doğrulama yapıldı. Test kiti serum ya da plazma örneklerinde *B. burgdorferi* antikorlarını kalitatif olarak göstermektedir. Test stripleri elektroforetik olarak ayrılmış *B. burgdorferi* antijenlerini içermektedir. Test striplerinde bulunan antijenler ve spesifiteleri tablo 2’de gösterildi.

Tablo 2. Test striplerinde bulunan antijenler ve spesifiteleri.

Bant	Antijen	Spesifite
83 kDa	Membran-vezikal protein, p83	p 100 protein ürünü, yüksek spesifik.
75 kDa	Isı şok proteini, p 75	Nonspesifik.
62 kDa	Isı şok proteini, p 62	Nonspesifik.
57/59 kDa	p 57 ve p 59	Nonspesifik.
50 kDa	p 50	Nonspesifik.
47 kDa	p 47	Muhtemelen cins spesifik.
43 kDa	p 43	Nonspesifik.
41 kDa	Flagellin, p 41	Cins spesifik, diğer spiroketler ve flagellası olan bakteriler ile çapraz reaksiyon verebilir.
39 kDa	Bmp A, p 39	Yüksek spesifik.
36 kDa	p 36	Spesifitesi belirsiz.
34 kDa	Osp B, p 34	Dış yüzey proteini B, yüksek spesifik.
32 kDa	p 32	Nonspesifik.
31 kDa	Osp A, p 31	Dış yüzey proteini A, yüksek spesifik.
29 kDa	p 29	Muhtemelen spesifik, araştırmalar yetersiz
28 kDa	p 28	Nonspesifik.
25 kDa	Osp C, p 25	Dış yüzey proteini C, yüksek spesifik.
21/22 kDa	p 21/22	Yüksek spesifik.
18 kDa	p 18	Muhtemelen spesifik.
17 kDa	p 17	Araştırmalar yetersiz.

Kitlerin içeriği aşağıda listelenmiştir.

1. Test stripleri (30 adet, elektroforetik olarak ayrılmış *B. burgdorferi* antijenlerini içerir.)
2. Kontrol stribi içeren değerlendirme matrisi (Pozitif kontrol serumu ile inkübe edilmiş bir adet strip içerir.)

3. Enzim konjugat (2x3ml, alkalen fosfataz ile işaretli anti-human IgM/IgG 10x konsantre.)
4. Universal buffer (1x100ml, 10x konsantre)
5. Substrat solüsyonu (1x50 ml, Nitrobluetetrazoliumchloride/5-Bromo-4-chloro-3'-indolylphosphat (NBT/BCIP), kullanıma hazır.)
6. İnkübasyon Tablası (1x30 kanal)
7. Plastik folyo (2 adet)
8. Yapıştırıcı folyo

Kitlerin içeriği dışında kullanılan malzemeler

- 10 µl, 100 µl ve 1000 µl'lik mikropipetler
- Tek kullanımlık pipet ucu
- 1.5 ml'lik eppendorf
- Distile su
- 1 litrelik temiz erlenmayer
- Vorteks
- Çalkalayıcı

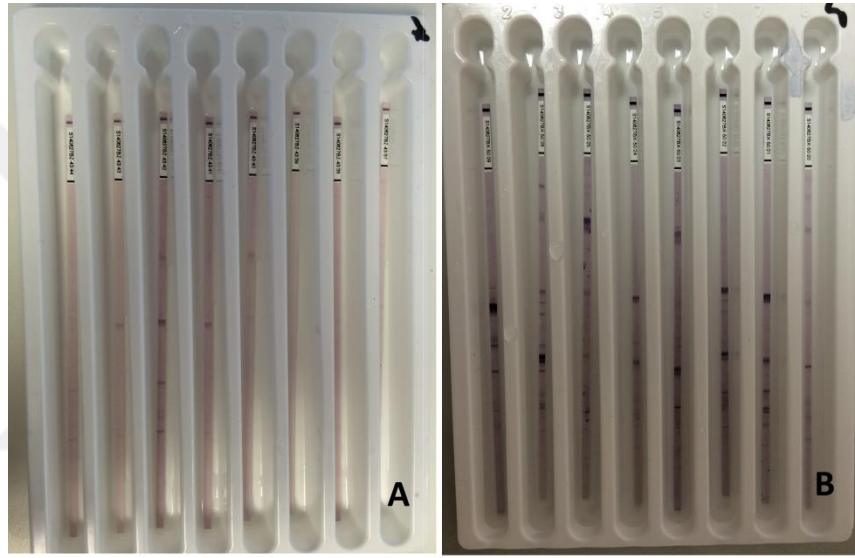
3.3.6.1. Anti-*Borrelia* IgM ve IgG Western Blot test kitleri çalışma prosedürü

Çalışmaya başlamadan 30 dakika önce tüm malzemeler ve serumlar oda ısısına getirildi. İlk olarak konsantre universal buffer karıştırılarak, her hasta için 13,5 ml distile su ve 1,5 ml konsantre universal buffer koyularak 1/10 oranında dilüe edildi.

Konsantre konjugat karıştırılarak, her hasta için 1,35 ml dilüe universal buffer ve 0,15 ml konsantre konjugat koyularak 1/10 oranında dilüe edildi. Eppendorflara 1,5 ml dilüe universal buffer koyularak üzerlerine karıştırılmış serumlardan 30 µl eklendi ve vorteks cihazı yardımıyla iyice karıştırıldı. Böylece serumlar 1/51 oranında sulandırıldı.

Stripler paketinden çıkarılarak sırayla, numaraları görülecek şekilde inkübasyon kanallarına yerleştirildi. Her strip üzerine 1,5 ml dilüe universal buffer eklenerek 15 dakika çalkalayıcı üzerinde, oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası kanallardaki sıvı boşaltılarak, kanallara sırasıyla 1,5 ml dilüe edilmiş serum örnekleri eklendi. 30 dakika çalkalayıcıda ve oda ısısında inkübe edildi. Kanallardaki

sıvı ortamdan uzaklaştırılarak her kanala 1,5 ml dilüe universal buffer koyuldu ve stripler beş dakika çalkalayıcıda yıkandı. Bu işlem üç kere tekrar edildi. Kanallardaki sıvı boşaltıldıktan sonra her kanala 1.5 ml dilüe konjugat koyularak 30 dakika çalkalayıcıda ve oda ısısında inkübe edildi. Kanallardaki sıvı alındıktan sonra her kanala 1,5 ml dilüe universal buffer koyuldu ve stripler beş dakika çalkalayıcıda yıkandı. Bu işlem üç kere tekrar edildi. Kanallardaki sıvı boşaltıldıktan sonra her kanala 1,5 ml substrat eklenerek 10 dakika çalkalayıcıda ve oda ısısında inkübe edildi. Kanallardaki sıvı uzaklaştırılarak her strip distile su ile bir dakika çalkalayıcıda ve oda ısısında yıkandı. Bu işlem üç kere tekrar edildi (Şekil 6).



Şekil 6. Western Blot yöntemiyle anti-*Borrelia* antikorlarının tayini. A) Anti-*Borrelia* IgM WB testinde son aşama görüntüsü. B) Anti-*Borrelia* IgG WB testinde son aşama görüntüsü.

İnkübe edilen stripler sırayla temiz kağıt üzerine koyuldu ve kuruduktan sonra yapıştırıcı folyoların üzerine düz bir şekilde yapıştırıldı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda EUROLinScan (Euroimmun, Lübeck, Almanya) programı ile stripler değerlendirildi. Sonuçlar pozitif ve negatif olarak bulundu.

3.4. İstatistiksel Yöntem

Elde edilen verilere ait tanımlayıcı değerler ortalama, standart sapma, sayı ve yüzde frekanslar halinde verilmiştir. ELİSA testi ve doğrulama testi olan Western Blot sonuçları ile diğer özellikler arasındaki ilişkiler Fisher-Freeman-Halton testi ile

incelenmiştir. Ayrıca tanı başarıları hesaplanmıştır. İstatistik anlamlılık düzeyi olarak % 5 alınmıştır. Hesaplamalarda SPSS (veri.18) programı kullanılmıştır.



4. BULGULAR

Düzce iline bağlı orman içi köylerden toplanan toplam 193 serum örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Toplanan serum örneklerinin alındığı köylere ve cinsiyete göre dağılımı tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Toplanan serum örneklerinin köylere ve cinsiyete göre dağılımı.

Köy	Kadın n (%)	Erkek n (%)	Toplam n (%)
Uğur	24 (50)	24 (50)	48 (24.8)
Çınardüzü	25 (69.4)	11 (30.6)	36 (18.6)
Ballar	13 (43.3)	17 (46.7)	30 (15.5)
Çakırsayvan	19 (65.5)	10 (34.4)	29 (15)
Derdin	4 (23.5)	13 (76.5)	17 (9)
Samandere	7 (50)	7 (50)	14 (7.5)
Kavakbıçkı	8 (72.7)	3 (27.3)	11 (5.6)
Aktarla	1 (33.3)	2 (66.7)	3 (1.5)
Nasırlı	2 (66.7)	1 (33.3)	3 (1.5)
Alacamescit	-	1 (100)	1 (0.5)
Kemerkasım	-	1 (100)	1 (0.5)
Toplam	103 (53.4)	90 (46.6)	193 (100)

ELISA yöntemi ile çalışılan 193 serum örneğinin 11 (% 5.7)'inde Hantavirus IgM, 13 (% 6.7)'ünde Hantavirus IgG, 27 (% 13.9)'sinde *B. burgdorferi* IgM ve 21 (% 10.9)'inde *B. burgdorferi* IgG pozitif olarak bulunmuştur. Borderline bulunan örnekler negatif kabul edilmiş olup, pozitif bulunan Hantavirus IgM dışındaki örneklerle WB yöntemi ile doğrulama yapılmıştır. WB sonuçlarına göre ELISA yöntemi ile *B. burgdorferi* IgM pozitif bulunan 27 örneğin üçü (% 11.1) pozitif, 25 (% 89.1)'i negatif; ELISA yöntemi ile *B. burgdorferi* IgG pozitif bulunan 21 örneğin 12 (% 57)'si pozitif, dokuzu (% 43) negatif olarak bulunmuştur. Yine ELISA yöntemi ile Hantavirus IgG pozitif bulunan 13 örneğin WB yöntemi ile beşinde (% 38.5) Hantavirusun Puumala tipi ve birinde (% 7.7) Dobrova tipi pozitif olarak bulunmuştur. Hantavirus IgG ELISA testinin duyarlılığı % 100, özgüllüğü %96.3,

pozitif prediktivite değeri % 46.2, negatif prediktivite değeri % 100, yanlış pozitiflik oranı % 3.7, yanlış negatiflik oranı % 0, genel doğruluk oranı % 96.4 olarak tespit edilmiştir. *B. burgdorferi* IgM ELİSA testi için bu oranlar sırasıyla % 66.7, % 86.8, % 7.4, % 99.4, % 92.6, % 0.6, % 86.5; *B. burgdorferi* IgG ELİSA testi için ise bu oranlar sırasıyla % 100, % 100, % 57.1, % 95, % 5, % 0, % 95.3 olarak saptanmıştır.

Örneklerin pozitifliklerinin köylere göre dağılımı incelenmiştir. Kavakbıçkı, Aktarla, Alacamescit ve Kemerkasım köylerinde Hantavirus pozitifliğinin olmadığı tespit edilmiştir. Hantavirus IgM pozitifliğinin ELİSA sonuçlarına göre en fazla Nasırlı köyünde (% 33.3) olduğu görülmüştür. Western Blot yöntemi ile yapılan doğrulama sonrasında Hantavirus IgG pozitifliği en sık Samandere köyünde (% 7.1) saptanmıştır. Samandere, Nasırlı, Aktarla, Alacamescit ve Kemerkasım köylerinde *B. burgdorferi* pozitifliğinin olmadığı görülmüştür. *B. burgdorferi* IgG pozitifliği en sık Çınardüzü köyünde (% 13.8) saptanırken, *B. burgdorferi* IgM pozitifliği en sık Uğur köyünde (% 6.3) saptanmıştır. Sonuçların köylere göre dağılımı tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Sonuçların köylere göre dağılımı.

Köyler	Hantavirus IgM ELİSA pozitif n (%)	Hantavirus IgG ELİSA pozitif n (%)	<i>B.burgdorferi</i> IgM ELİSA pozitif n (%)	<i>B.burgdorferi</i> IgG ELİSA pozitif n (%)	Hantavirus IgG WB pozitif n (%)	<i>B. burgdorferi</i> IgM WB pozitif n (%)	<i>B. burgdorferi</i> IgG WB pozitif n (%)	TOPLAM (n)
Aktarla	-	1 (33.3)	3 (100)	-	-	-	-	3
Alacamescit	-	-	-	-	-	-	-	1
Ballar	3 (10)	1 (3.3)	7 (23.3)	1 (3.3)	1 (3.3)	-	1 (3.3)	30
Çakırsayvan	1 (3.4)	1 (3.4)	2 (6.9)	2 (6.9)	-	-	1 (3.4)	29
Çınardüzü	2 (5.6)	3 (8.3)	2 (5.6)	7 (19.4)	2 (5.6)	-	5 (13.9)	36
Derdin	-	1 (5.9)	-	4 (23.5)	1 (5.9)	-	2 (11.8)	17
Kavakbıçkı	-	-	-	1 (9.1)	-	-	1 (9.1)	11
Kemerkasım	-	-	1 (100)	-	-	-	-	1
Nasırlı	1 (33.3)	1 (33.3)	3 (100)	1 (33.3)	-	-	-	3
Samandere	-	2 (14.3)	2 (14.3)	-	1 (7.1)	-	-	14
Uğur	4 (8.3)	3 (6.3)	7 (14.6)	5 (10.4)	1 (2.1)	3 (6.3)	2 (4.2)	48
P değeri	0.543	0.312	<0.0001	0.238	0.733	0.484	0.590	193

Hantavirus IgM'nin ELİSA yöntemi ile yapılan tarama sonuçlarına göre Hantavirus IgM pozitifliğinin cinsiyete göre değişim göstermediği görülmüştür. Yaş gruplarına göre yapılan incelemede ise istatistiksel olarak fark saptanmamakla birlikte en sık 31-45 yaş grubunda (% 8.6) pozitiflik bulunmuştur.

Eğitim durumları ile Hantavirus IgM pozitiflikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir.

Aylık gelir düzeyleri arasında istatistiksel fark görülmemiş olmakla birlikte aylık gelir düzeyi 3000-4000 TL olanlarda pozitiflik görülmemiştir. Meslek grupları ise istatistiksel olarak benzer bulunmuştur.

Ev yapısına göre yapılan değerlendirmede pozitiflik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

İçme suyu kaynakları Hantavirus IgM pozitifliği açısından istatistiksel olarak benzer bulunmuştur. Ayrıca kirli sularla temas durumunun Hantavirus IgM pozitifliğini artırmadığı gözlenmiştir.

Orman işlerinde çalışanlarda Hantavirus IgM pozitifliği (% 5.8) istatistiksel olarak anlamlı saptanmamakla birlikte orman işlerinde çalışmayanlardan daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

Evlerinin içinde ya da çevresinde kemirici hayvan görme durumuna göre pozitiflikler incelendiğinde istatistiksel olarak benzer bulunmuştur. ELİSA yöntemiyle Hantavirus IgM pozitifliği olanlarda kemirici hayvanlarla temas öyküsü saptanmamıştır.

Hantavirus IgM'nin ELİSA yöntemi ile yapılan değerlendirme sonuçları tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Hantavirus IgM'nin ELİSA yöntemi ile yapılan değerlendirme sonuçları.

	Hantavirus IgM pozitif n (%)	P değeri	Toplam n
Cinsiyet			
Erkek	6 (6.6)	0.588	90
Kadın	5 (4.8)		103
Yaş dağılımı			
18-30	2 (8)	0.424	25
31-45	5 (8.6)		58
46-60	2 (2.7)		75
61-70	2 (5.5)		35
Eğitim durumu			
Okur-yazar değil	2 (6.9)	0.684	29
Okur yazar	0 (0.0)		14
İlkokul	4 (4.3)		93
Ortaokul	2 (10.5)		19
Lise	2 (8.3)		24
Üniversite	1 (7.1)		14
Aylık gelir düzeyi			
<1000	2 (3.7)	0.130	54
<1500	6 (6.7)		89
1500-3000	2 (4.5)		44
3000-4000	0 (0.0)		5
>4000	1 (100)		1
Meslek grupları			
Ev hanımı	5 (5.2)	0.246	96
Çiftçi	1 (2.7)		37
İşçi	1 (3.1)		32
Memur	4 (16)		25
Öğrenci	0 (0.0)		3
Ev yapısı			
Betonarme	8 (6.5)	0.854	122
Ahşap	3 (4.8)		62
Kerpiç	0 (0.0)		9
İçme suyu kaynağı			
Musluk suyu	9 (5.8)	0.519	155
Mahalle çeşmesi	1 (3.7)		27
Satın alma	1 (16.6)		6
Kuyu suyu	0 (0.0)		5
Kirli sularla temas			
Var	1 (1.5)	0.101	67
Yok	10 (7.9)		126
Orman işlerinde çalışma			
Var	7 (5.8)	0.918	120
Yok	4 (5.5)		73
Toplam	11 (5.7)		193

Hantavirus IgG'nin ELİSA yöntemi ile yapılan tarama ve WB yöntemi ile yapılan doğrulama sonuçlarının çeşitli parametrelere göre dağılımları incelenmiştir.

Cinsiyete göre pozitiflik oranları değerlendirildiğinde hem ELİSA hem de WB yöntemleri ile kadınlar ve erkekler arasında fark olmadığı görülmüştür. Yaş grupları incelendiğinde ise 61-70 yaş grubunda ELİSA yöntemi ile (% 14.3) de WB yöntemi ile de (% 5.7) pozitiflik oranının diğer yaş gruplarından yüksek olduğu görülmüş ancak istatistik olarak farklı bulunmamıştır.

Kişilerin eğitim durumlarına göre yapılan değerlendirmede her iki yöntemle de pozitiflik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Aylık gelir düzeyine göre yapılan incelemede ise gelir düzeyi 3000 TL ve üzeri olanlarda her iki yöntemle de pozitifliğin olmadığı saptanmıştır. Meslek gruplarına göre pozitiflikler istatistiksel olarak benzer bulunmuştur.

Evlerin yapımında kullanılan malzemenin içeriğine göre ise istatistiksel fark olmamakla birlikte her iki yöntemle de en sık kerpiç evlerde yaşayanlarda (% 11.1) pozitiflik olduğu tespit edilmiştir.

İçme suyu kaynağına göre pozitifliklerin istatistiksel olarak benzer olduğu tespit edilmiştir. Yine kirli sularla temas durumuna göre pozitiflik oranları arasında her iki yöntemle de istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir.

Orman işlerinde çalışma durumuna göre yapılan değerlendirmede, orman işlerinde çalışanlarla çalışmayanların ELİSA yöntemi ile benzer pozitiflik gösterdiği, WB yöntemi ile ise pozitiflik oranının orman işlerinde çalışanlarda (% 4.2) çalışmayanlara göre (% 1.4) daha yüksek olduğu gözlenmiş ancak, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Evlerinin içinde ya da çevresinde kemirici hayvan görme durumuna göre pozitiflikler incelendiğinde istatistiksel olarak benzer olduğu gözlenmiştir. ELİSA ve WB yöntemiyle Hantavirus pozitifliği olanlarda kemirici hayvanlarla temas öyküsü olmadığı saptanmıştır. Hantavirus IgG'ye ait sonuçlar tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Hantavirus IgG'nin ELİSA yöntemi ve WB yöntemi ile yapılan değerlendirme sonuçları.

	Hantavirus IgG ELISA pozitif n (%)	P değeri	Hantavirus IgG WB pozitif n (%)	P değeri	Toplam n
Cinsiyet					
Erkek	6 (6.7)	0.971	5 (5.6)	0.099	90
Kadın	7 (6.8)		1 (1.0)		103
Yaş dağılımı					
18-30	1 (4.0)	0.344	0 (0.0)	0.625	25
31-45	3 (5.2)		1 (1.7)		58
46-60	4 (5.3)		3 (4.0)		75
61-70	5 (14.3)		2 (5.7)		35
Eğitim durumu					
Okur-yazar değil	1 (3.4)	0.858	0 (0.0)	0.689	29
Okur yazar	1 (4.2)		0 (0.0)		14
İlkokul	8 (8.6)		5 (5.4)		93
Ortaokul	2 (10.5)		1 (5.3)		19
Lise	1 (4.2)		0 (0.0))		24
Üniversite	0 (0.0)		0 (0.0)		14
Aylık gelir düzeyi					
<1000	4 (7.4)	0.928	2 (3.7)	0.966	54
<1500	6 (6.7)		3 (3.4)		89
1500-3000	3 (6.8)		1 (2.3)		44
3000-4000	0 (0.0)		0 (0.0)		5
>4000	0 (0.0)		0 (0.0)		1
Meslek grupları					
Ev hanımı	6 (6.3)	0.898	1 (1.0)	0.231	96
Çiftçi	2 (5.4)		2 (5.4)		37
İşçi	3 (9.4)		2 (6.3)		32
Memur	2 (8.0)		1 (4.0)		25
Öğrenci	0 (0.0)		0 (0.0)		3
Ev yapısı					
Betonarme	9 (7.4)	0.573	5 (4.1)	0.078	122
Ahşap	3 (4.8)		0 (0.0)		62
Kerpiç	1 (11.1)		1 (11.1)		9
İçme suyu kaynağı					
Musluk suyu	12 (7.7)	0.862	5 (3.2)	0.866	155
Mahalle çeşmesi	1 (3.7)		1 (3.7)		27
Satın alma	0 (0.0)		0 (0.0)		6
Kuyu suyu	0 (0.0)		0 (0.0)		5
Kirli sularla temas					
Var	2 (3.0)	0.107	1 (1.5)	0.317	67
Yok	11 (8.7)		5 (4.0)		126
Orman işlerinde çalışma					
Var	8 (6.7)	0.989	5 (4.2)	0.412	120
Yok	5 (6.8)		1 (1.4)		73
Toplam	13 (6.7)		6 (3.1)		193

B. burgdorferi IgM WB pozitifliklerinin cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde hem ELİSA hem de WB yöntemleri ile cinsiyetler arası fark olmadığı görülmüştür. Yine yaş gruplarına göre yapılan değerlendirme sonucunda *B. burgdorferi* IgM sıklığının ELİSA yöntemi ile en sık 31-45 yaş grubunda (% 20.7), WB yöntemi ile 46 yaş ve üzerinde (% 2.7) olduğu saptanmıştır. Ancak yaş grupları arasındaki pozitiflik oranlarının istatistiksel olarak benzer olduğu görülmüştür.

Eğitim durumuna göre pozitif sonuçların dağılımına bakıldığında her iki yöntemle de eğitim durumları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Aylık gelir düzeyleri bakımından istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. Meslek gruplarına göre yapılan incelemede de pozitiflik oranları arasında istatistiksel fark görülmemiştir.

Evlerin yapımında kullanılan malzemelerin içeriğinin istatistiksel olarak farklı pozitifliğe neden olmadığı görülmüştür.

WB yöntemi ile kene ısırma öyküsü olanlarda pozitiflik oranı (% 1.7) daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Kene ısırma öyküsü olmayanlarla aralarında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Orman işlerinde çalışanlarda hem ELISA (% 16.7) hem de WB (% 2.5) yöntemi ile pozitiflik daha fazla iken istatistiksel olarak fark anlamlı saptanmamıştır. WB yöntemi ile hayvancılık yapanlardaki pozitiflik oranı daha yüksek (% 1.8) olarak bulunmuştur. *B. burgdorferi* IgM'ye ait sonuçlar tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7. *B. burgdorferi* IgM'nin ELİSA ve WB yöntemi ile yapılan değerlendirme sonuçları.

	<i>B. burgdorferi</i> IgM ELİSA pozitif n (%)	P değeri	<i>B. burgdorferi</i> IgM WB pozitif n (%)	P değeri	Toplam n (%)
Cinsiyet					
Kadın	13 (12.6)	0.678	1 (1.0)	0.599	103
Erkek	14 (15.6)		2 (2.2)		90
Yaş dağılımı					
18-30	3 (12.0)	0.414	0 (0.0)	0.530	25
31-45	12 (20.7)		0 (0.0)		58
46-60	8 (10.7)		2 (2.7)		75
61-70	4 (11.4)		1 (2.9)		35
Eğitim durumu					
Okur-yazar değil	3 (10.3)	0.657	2 (6.9)	0.394	29
Okur yazar	1 (7.1)		0 (0.0)		14
İlkokul	12 (12.9)		1 (1.1)		93
Ortaokul	5 (26.3)		0 (0.0)		19
Lise	4 (16.7)		0 (0.0)		24
Üniversite	2 (14.3)		0 (0.0)		14
Aylık gelir düzeyi					
<1000	8 (14.3)	0.299	2 (3.7)	0.493	54
<1500	11 (12.4)		1 (1.1)		89
1500-3000	7 (15.9)		0 (0.0)		44
3000-4000	0 (0.0)		0 (0.0)		5
>4000	1 (100)		0 (0.0)		1
Meslek grupları					
Ev hanımı	10 (10.4)	0.408	1 (1.0)	0.511	96
Çiftçi	5 (13.5)		1 (2.7)		37
İşçi	7 (21.9)		1 (3.1)		32
Memur	5 (20.0)		0 (0.0)		25
Öğrenci	0 (0.0)		0 (0.0)		3
Ev yapısı					
Betonarme	18 (14.8)	0.718	1 (0.8)	0.363	122
Ahşap	9(14.5)		2 (3.2)		62
Kerpiç	0 (0.0)		0 (0.0)		9
Kene ısırma öyküsü					
Var	14 (12.2)	0.403	2 (1.7)	0.799	67
Yok	13 (16.7)		1 (1.3)		126
Orman işlerinde çalışma					
Var	20 (16.7)	0.203	3 (2.5)	0.291	120
Yok	7 (9.6)		0 (0.0)		73
Hayvan besiciliği yapma					
var	21 (12.7)	0.239	3 (1.8)	0.330	165
yok	6 (21.4)		0 (0.0)		28
Toplam	27 (13.9)		3 (1.6)		193

B. burgdorferi IgG pozitiflikleri ile cinsiyet arasındaki ilişki incelendiğinde kadınlarda hem ELİSA (% 13.6) hem de WB yöntemleri ile (% 8.7) erkeklerden daha yüksek oranda olduğu gözlenmiştir ancak cinsiyetler arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Yaş gruplarına göre *B. burgdorferi* IgG'nin dağılımına bakıldığında ise sıklığın hem ELİSA hem de WB yöntemleri ile 61-70 yaş grubunda diğer yaş gruplarından anlamlı olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Eğitim durumuna göre yapılan değerlendirmede üniversite mezunu olanlarda pozitiflik olmadığı görülmüştür. Aylık gelir düzeyine göre gelir düzeyi 3000 TL ve üzeri olanlarda *B. burgdorferi* IgG'nin negatif olduğu gözlenmiştir. Meslek gruplarına göre de *B. burgdorferi* pozitiflikleri araştırılmıştır. *B. burgdorferi* IgG pozitifliği her iki yöntemle de en sık ev hanımlarında saptanırken meslek grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.

Evlerin yapımında kullanılan malzemenin içeriğine göre pozitiflikler incelendiğinde kerpiç evde yaşayanlarda *B. burgdorferi* IgG'nin hem ELİSA hem de WB yöntemleri ile en yüksek oranda olduğu görülmüş ve bu oranlar istatistiksel olarak da anlamlı bulumuştur ($p<0.05$).

Kene ısırma öyküsüne göre *B. burgdorferi* IgG pozitiflikleri incelenmiştir. Pozitifliğin kene ısırma öyküsü olanlarda her iki yöntemle de daha yüksek oranda olduğu gözlenmiş olup istatistik olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

B. burgdorferi IgG pozitifliklerinin her iki yöntemle de orman işlerinde çalışma durumuna göre benzer olduğu, yine her iki yöntemle hayvan besiciliği yapanlarda hayvan besiciliği yapmayanlardan daha fazla görüldüğü tespit edilmiştir. Ancak istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. *B. burgdorferi* IgG'ye ait sonuçlar tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. *B. burgdorferi* IgG’nin ELISA ve WB yöntemi ile yapılan değerlendirme sonuçları.

	B. burgdorferi IgG ELİSA pozitif n (%)	Pdeğeri	B. burgdorferi IgG WB pozitif n (%)	P değeri	Toplam n (%)
Cinsiyet					
Kadın	14 (13.6)	0.249	9 (8.7)	0.144	103
Erkek	7 (7.8)		3 (3.3)		90
Yaş dağılımı					
18-30	1 (4.0)	0.019	1 (4.0)	0.037	25
31-45	3 (5.2)		1 (1.7)		58
46-60	8 (10.7)		4 (5.3)		75
61-70	9 (25.7)		6 (17.1)		35
Eğitim durumu					
Okur-yazar değil	7 (24.1)	0.177	3 (10.3)	0.920	29
Okur yazar	1 (7.1)		1 (7.1)		14
İlkokul	11 (11.8)		6 (6.5)		93
Ortaokul	1 (5.3)		1 (5.3)		19
Lise	1 (4.2)		1 (4.2)		24
Üniversite	0 (0.0)		0 (0.0)		14
Aylık gelir düzeyi					
<1000	9 (16.7)	0.370	4 (7.4)	0.953	54
<1500	10 (11.2)		6 (6.7)		89
1500-3000	2 (4.5)		2 (4.5)		44
3000-4000	0 (0.0)		0 (0.0)		5
>4000	0 (0.0)		0 (0.0)		1
Meslek grupları					
Ev hanımı	13 (13.5)	0.832	9 (9.4)	0.431	96
Çiftçi	4 (10.8)		2 (5.4)		37
İşçi	2 (6.3)		0 (0.0)		32
Memur	2 (8.0)		1 (4.0)		25
Öğrenci	0 (0.0)		0 (0.0)		3
Ev yapısı					
Betonarme	14 (11.5)	0.045	8 (6.6)	0.049	122
Ahşap	4 (6.5)		2 (3.2)		62
Kerpiç	3 (33.3)		2 (22.2)		9
Kene ısırma öyküsü					
Var	16 (13.9)	0.156	10 (8.7)	0.128	67
Yok	5 (6.4)		2 (2.6)		126
Orman işlerinde çalışma					
Var	10 (8.3)	0.159	6 (5.0)	0.375	120
Yok	11 (15.1)		6 (8.2)		73
Hayvan besiciliği yapma					
var	20 (12.1)	0.322	11 (6.7)	0.503	165
yok	1 (3.6)		1 (3.6)		28
Toplam	21 (10.9)		12 (6.2)		193

5. TARTIŞMA

Zarflı, negatif polariteli, tek iplikli, üç segmentli RNA genomuna sahip bir virus olan Hantavirus insanlarda “Renal sendromlu kanamalı ateş” ve “Hantavirus pulmoner sendromu” olarak isimlendirilen iki tür sendroma neden olmaktadır (1). Dünyada her yıl 150.000 ile 200.000 RSKA’lı olgu hastaneye yatırılmakta ve olguların çoğu gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir. Dünya genelindeki RSKA’lı olguların büyük bölümü yıllık 40.000-60.000 olgu sayısı ile Çin Halk Cumhuriyeti’ndedir. HPS’li olgular ise RSKA’dan daha az görülmekle birlikte, Amerika’da yıllık olgu sayısı 200, fatalite oranı yaklaşık % 40’tır. Türkiye’de Hantavirus epidemiyolojisi ile ilgili çalışmalar son dönemde başlamıştır (28). Dobrava, Hantaan ve Seoul virusların doğadaki rezervuarları olan Apodemus flavicollis, Apodemus agrarius, Rattus norvegicus ve Rattus rattus ile Puumala virusun rezervuarı olan Clethrionomys glareolus’un ülkemizde yaygın olarak bulunduğu bildirilmiştir. Bu bulgular Türkiye’de bu viruslarla enfekte endemik bölgelerin olabileceğini düşündürmektedir (32).

Spirochaetacea ailesinden gevşek kıvrımlı ve hareketli bir spiroket olan *Borrelia burgdorferi* ise *Ixodes* cinsi sert kenelerin ısırması ile insanlara geçerek tekrarlayan (dönek) ateş ve LH’ya neden olmaktadır (48). LH Kuzey Amerika, Asya ve Avrupa’nın uygun bölgelerinde en sık kene kaynaklı hastalıktır. LH’nın insidansı ABD’de 2002’de 2001’e göre % 40 artış göstermiştir (78-120). İnsidans birçok Avrupa devletinde de artmaktadır (121). Türkiye’de *Ixodes* cinsi kenelerin yaşıyor olması, ülkemizde de LH’nın yaygın olabileceğini düşündürmektedir. Ülkemizde 1990’da ilk Lyme vakaları bildirilmeye başlanmış, sonrasında vaka sayısı artmış ve epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır. Türkiye’de tarımla uğraşan risk gruplarında yapılan Lyme seropozitiflik çalışmalarında % 6-35,9 arasında değişen pozitiflik saptanmıştır (122).

Düzce İli Batı Karadeniz Bölgesi’nde yer almakta ve %51’i (122.712 hektar) ormanlık alandan oluşmaktadır. Karadeniz ikliminin hakim olduğu Düzce ili, özellikle sonbahar ve kış aylarında olmak üzere her mevsim yağış almaktadır. Bu

özellikleri nedeniyle Düzce iline ait orman köylerinin Hantavirus ve *B. burgdorferi* enfeksiyonları açısından risk taşıdığı düşünülmüştür. Bu çalışma ile Düzce iline ait orman köylerinde Hantavirus ve *B. burgdorferi* seroprevalansı araştırılmıştır.

Her rodent subfamilyası filogenetik olarak farklı Hantavirüs türünü taşımaktadır (123). Bu nedenle her ülkede endemik olan Hantavirus türü ve bu türlerle oluşan enfeksiyonların seroprevalansı değişmektedir. Farklı ülkelerde yapılan Hantavirus seroprevalans çalışmalarına bakılmıştır. Oldal ve ark. (124) 2011-2013 yılları arasında Macaristan'da yaptıkları çalışmada orman işçilerinde Hantavirus seroprevalansını araştırmış, Hantavirus IgG sıklığını ELISA yöntemiyle % 5.4, WB yöntemiyle ise % 4.6 olarak bulmuşlardır. Engler ve ark.'nın (125) İsviçre'de askeri personel ve kan donörlerinde Hantavirus IgG sıklığını araştırdığı çalışmada, ELISA ile askeri personelde % 8.9 ve kan donörlerinde % 10.7, WB ile kan donörlerinde % 0.3, bütün grupta % 0.3 olarak bulmuştur. Wilken ve ark. (126) Yosemite ulusal parkında çalışanlarda yaptığı çalışmada Sin Nombre virus seroprevalansını yaklaşık % 0.2 olarak bulmuştur.

Türkiye'de ise Giresun ilinde Gozalan ve ark. (127) tarafından Hantavirus seroprevalansının araştırıldığı çalışmada, Hantavirus IgG seroprevalansı ELISA yöntemiyle % 10.4, WB yöntemiyle % 3.2 olarak bulunmuştur. 2009'da Zonguldak ve Bartın'da meydana gelen salgında RSKA ön tanısıyla yatırılan 25 kişiden 12'sinde IFA ve WB yöntemi ile Hantavirus enfeksiyonu gösterilmiştir (128). Salgından sonra Bartın'da Ertek ve ark. (128) tarafından Hantavirus seroprevalansı araştırılmış ve % 5.2 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda ise Hantavirus seroprevalansının araştırılmasında Hantavirus IgM için sadece ELISA yöntemi kullanılmış ve seroprevalans % 5.7 olarak bulunmuş, Hantavirus IgG ise ELISA yöntemi ile % 6.7, WB yöntemi ile % 3.1 oranında pozitif olarak saptanmıştır. Seroprevalans oranları incelendiğinde Düzce ili orman köyleri ile Macararistan, Giresun ve Bartın'da yapılan çalışmaların seroprevalanslarının birbirine yakın olduğu, İsviçre ve Yosemite'de yapılan çalışmalarda ise seroprevalansın daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle orman işçisi olanlar ve orman köylerinde yaşayanların Hantavirus bulaşı açısından risk grubunda olduğu düşünülmüştür.

Lyme hastalığının sık görüldüğü Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya ülkelerinde seroprevalanslara bakılmıştır. Hatchette ve ark. (129) tarafından Kanada'nın Yeni İskoçya eyaletinde LH seroprevalansı araştırılmış ve ELISA yöntemiyle % 11.6 olarak bulunmuştur. Almanya'da Wilking ve ark. (130) tarafından yetişkinlerde *B. burgdorferi* IgG antikorlarının araştırıldığı çalışmada 6965 serum örneğinde pozitiflik % 9.4 olarak saptanmıştır. Norveç'te Vestrheim ve ark. (131) *B. burgdorferi* IgG antikorlarını araştırmış ve ELISA ile % 4 oranında pozitiflik tespit etmiştir. Fransa'da Rigaud ve ark. (132) orman işçilerinde *Ixodes ricinus* keneleriyle taşınan yedi patojenin seroprevalansını araştırmış, *B. burgdorferi* seroprevalansını % 5.7 olarak bulmuştur. Praharaj ve ark. (133) Hindistan'ın kuzeydoğusunda *B. burgdorferi* seroprevalansını araştırdığı çalışmasında ELISA yöntemiyle *B. burgdorferi* IgG pozitifliğini % 13 olarak saptamıştır.

Ülkemizde ise Parlak ve ark. (134) Van bölgesindeki riskli gruplarda *B. burgdorferi* IgG seropozitifliğini araştırmış ve ELISA yöntemiyle % 3.8, WB yöntemiyle % 0.9 oranında seropozitiflik tespit etmiştir. Gazi ve ark. (135) Manisa'nın kırsal kesimlerinde çeşitli zoonotik etkenlerin seroprevalanslarını araştırdıkları çalışmada WB yöntemi ile *B. burgdorferi* IgG seroprevalansını % 0.9 olarak bulmuşlardır. Bolu'da Bucak ve ark. (136) tarafından yapılan çalışmada *B. burgdorferi* sensu lato seroprevalansı araştırılmış, ELISA yöntemi ile IgM % 14.8, IgG % 13.7 oranında, WB yöntemi ile IgM % 3.8 ve IgG % 4.6 oranında saptanmıştır. Çalışmamızda ise *B. burgdorferi* IgM seroprevalansı ELISA yöntemi ile % 13.9, WB yöntemi ile % 1.6, *B. burgdorferi* IgG seroprevalansı ELISA yöntemi ile % 10.9, WB yöntemi ile % 6.2 olarak bulunmuştur. Seroprevalans oranları incelendiğinde Düzce ili orman köyleri ile Kanada, Almanya ve Hindistan'da yapılan çalışmaların seroprevalanslarının birbirine yakın olduğu, Norveç ve Fransa'da yapılan çalışmalarda ise seroprevalansın daha düşük olduğu gözlenmiştir (129-133). Ülkemizin diğer bölgelerinde yapılan çalışmalara bakıldığında Van'da ve Manisa'da seroprevalansın daha düşük olduğu, Bolu'da ise *B. burgdorferi* IgM seroprevalansının daha yüksek olduğu ve *B. burgdorferi* IgG seroprevalansının ise benzer olduğu gözlenmiştir (134-136). Bölgeler arasındaki farklılığın coğrafi konum, iklim koşulları ve bölgede yaşayan kene türlerinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Ülkemizin kuzeyinde *B. burgdorferi* seropozitifliğinin

diğer bölgelere kıyasla yüksek olması bölgemizin *B. burgdorferi* açısından endemik olduğunu göstermektedir.

Hantavirusun tanısında kullanılan serolojik testlerden ELISA yöntemi ile çapraz reaksiyonlar görülebilmektedir. Bu nedenle nötralizasyon testi, WB gibi yöntemlerle tanının doğrulanması gerekmektedir (46,137). Polat ve ark. (46) yabancı kemiriciler ile yaptığı çalışmada Hantavirus IgG antikorlarının saptanmasında ELISA ve WB yöntemlerini kullanmış, ELISA yönteminin duyarlılığını %100 ve özgüllüğünü % 95 olarak tespit etmişlerdir. Muyldermans ve ark. (138) Puumala virus IgM ve IgG antikorlarının araştırılmasında Progen ve Reagentia firmalarının ELISA kitlerini karşılaştırdığı çalışmasında IgM için duyarlılıklarını sırasıyla % 100 ve % 96.1, özgüllüklerini ise % 73.2 ve % 100 olarak tespit etmiştir. IgG için duyarlılıkları sırasıyla % 100 ve % 97.7 iken özgüllükleri her ikisi için de % 100 olarak saptanmıştır. Goeijenbier ve ark. (139) Hantavirus IgM ELISA yönteminin duyarlılığını % 95.1, özgüllüğünü %94.1, Hantavirus IgG ELISA yönteminin duyarlılık ve özgüllüğünü % 95 olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda ise Hantavirus IgG ELISA testinin duyarlılığı % 100, özgüllüğü % 96.3 olarak bulunmuş olup diğer çalışmalarla benzer olduğu görülmüştür. Pozitif prediktivite değeri % 46.2, negatif prediktivite değeri % 100, yanlış pozitiflik oranı % 3.7, yanlış negatiflik oranı % 0, genel doğruluk oranı % 96.4 olarak tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında Hantavirus IgG için ELISA yönteminin tarama amacıyla kullanılabileceği ve ELISA yöntemi ile pozitiflik tespit edildiğinde ileri testlerle doğrulanması gerektiği düşünülmüştür.

Marangoni ve ark. (140) LH tanısında kullanılan üç farklı ELISA testini karşılaştırdığı çalışmasında Quick ELISA C6 Borrelia testinin duyarlılığını % 80, özgüllüğünü % 96.7, RecomWell Borrelia testinin duyarlılığını % 95.0, özgüllüğünü % 97.1, Enzygnost Borreliosis testinin duyarlılığını %85.0, özgüllüğünü % 90.1 olarak bulmuşlardır. Chandrashekar ve ark. (141) ise köpeklerde ELISA yöntemiyle *B. burgdorferi* antikorlarını araştırmış, ELISA yönteminin duyarlılığını % 98.8 ve özgüllüğünü % 100 olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda ise *B. burgdorferi* IgM ELISA testinin duyarlılığı % 66.7, özgüllüğü % 86.8, *B. burgdorferi* IgG ELISA testinin duyarlılığı ve özgüllüğü % 100 olarak saptanmıştır. Diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında duyarlılık ve özgüllüğün uyguladığımız *B. burgdorferi* IgM

ELİSA testinde düşük olduğu, *B. burgdorferi* IgG ELİSA testinde ise daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda *B. burgdorferi* IgM ELİSA testi için pozitif prediktivite değeri% 7.4, negatif prediktivite değeri % 99.4, yanlış pozitiflik oranı% 92.6, yanlış negatiflik oranı % 0.6, genel doğruluk oranı % 86.5 olarak tespit edilmiştir. *B. burgdorferi* IgG ELİSA testi için ise bu oranlar sırasıyla % 100, % 100, % 57.1, % 95, % 5, % 0, % 95.3 olarak saptanmıştır. Bu veriler değerlendirildiğinde *B. burgdorferi* IgM ve IgG ELİSA testlerinin tarama amacıyla kullanılmasının uygun olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda Hantavirus IgM ELISA, Hantavirus IgG ELISA ve WB, *B. burgdorferi* IgM WB, *B. burgdorferi* IgG ELISA ve WB testlerindeki pozitifliklerin tüm köylerde benzer olduğu görülmüştür. *B. burgdorferi* IgM ELISA testinde ise köylere göre pozitiflik oranları arasında istatistiksel fark saptanmıştır. Ancak pozitif sonuçlar WB testiyle doğrulandığında köyler arasında fark olmadığı görülmüştür.

Hantavirüs enfeksiyonları tanısı hasta serumunda viruse özgül spesifik IgM varlığının gösterilmesi ya da akut ve konvelesan serumda spesifik IgG titresinin dört kat artışının gösterilmesi ile konulur. ELISA veya IFA ile spesifik IgM yanıtının gösterilmesi virüsle karşılaşmanın erken döneminde IgG yanıtının henüz gelişmemiş olması nedeniyle önerilmektedir (44). Vieira ve ark. (142) Brezilya'nın Mato Grosso Eyaleti'nde Hantavirus seroprevalansını araştırdığı çalışmasında ELISA yöntemiyle Hantavirus IgM pozitifliği saptamamıştır. Gimaque ve ark. (143) Brezilya'da yaptıkları çalışmada kırsal bölgeler ve şehirlerde yaşayan insanlarda Hantavirus seroprevalansını araştırmış ve ELISA yöntemiyle Hantavirus IgM pozitifliği saptamamıştır. Montgomery ve ark. (144) Bolivya'da meydana gelen HPS salgını sonrasında salgın bölgesinde Hantavirus antikorlarının prevalansını araştırmış ve ELISA yöntemiyle Hantavirus IgM pozitifliğini % 5.1 olarak tespit etmişlerdir. Cesur ve ark. (145) kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda Hantavirus seroprevalansını araştırdığı çalışmada ELISA yöntemiyle Hantavirus IgM pozitifliği saptamamışlardır. Sevencan ve ark. (146) Bartın'da trombositopeni, üre ve kreatinin yüksekliği hikayesi olan kişilerde Hantavirus enfeksiyonunu serolojik yöntemlerle araştırmış, ELISA yöntemiyle Hantavirus IgM sıklığını % 1.2 olarak bulmuşlardır. Hantavirus ELISA IgM sonuçlarının bölgelere göre farklılık gösterdiği saptanmıştır.

Çalışmamızda Montgomery ve ark. (144)'nın Güney Amerika'daki çalışması ile benzer şekilde Hantavirus IgM pozitifliği % 5.7 olarak bulunmuştur. Ancak Güney Amerika'da HPS etkeni olan Hantavirus türleri endemik iken, ülkemizde sıklıkla RSKA etkeni olan Hantavirus türleri görülmektedir. Hantavirus bulaşında risk olabilecek durumlardan kirli sularla temas öyküsü, içme suyu olarak kuyu suyu ya da mahalle çeşmesinin kullanılması, kerpiç ya da ahşap evde yaşıyor olmanın ve orman işlerinde çalışmanın pozitiflik oranını artırmadığı görülmüştür. Çalışmamızın yapıldığı bölge orman içi köylerden oluştuğu için, pozitif saptanan vakalardaki bulaşın ormanlık alandan inhalasyon yoluyla olduğu düşünülmüştür. Bu nedenle bölgede kemirici hayvanlar üzerinde yapılacak araştırmalara gerek olduğu düşünülmüştür.

Hantaviruslara karşı seropozitifliği araştırmak amacıyla en sık serolojik testlerden yararlanılmaktadır. Solid faz ELISA ile çapraz reaksiyonlar olabildiğinden daha özgül ve yeterince duyarlı olan immunoblot testleri Hantavirus enfeksiyonunun doğrulanması amacıyla kullanılabilir. Hantavirusların çeşitli alt tipleriyle gelişen enfeksiyonlarda prognoz birbirinden çok farklı olmaktadır. İmmunoblot yöntemleri ile farklı hantavirüs tiplerine ait antikorlar gösterilebilmektedir (147,148). Montgomery ve ark. (144) Bolıvyası'nın Santa Cruz şehrinde ortaya çıkan HPS salgınının ardından yaptıkları antikor prevalans çalışmasında ELISA yöntemiyle % 9.1 oranında Hantavirus IgG seropozitifliği saptamış, IgG sıklılığının cinsiyet, meslek, evlerin yapımında kullanılan malzeme ve ev veya iş yerinde kemirgenlerin bulunması durumuna göre fark göstermediğini tespit etmişlerdir. İstatistiksel olarak fark olmamakla birlikte 51-60 yaş grubunda ve kemiricilerle karşılaşma riskinin diğer mesleklerle göre fazla olduğu çiftçilerde IgG sıklığı diğer gruplardan yüksek olarak bulmuşlardır. Sane ve ark. (149) Hollanda'da Hantavirus seroprevalansını araştırmış, ELISA yöntemi ile % 5.3, İFA yöntemi sonrası ise PUUV IgG % 0.9 olarak saptanmıştır. Cinsiyet, yaş grupları ve herhangi bir hayvan ile temas durumu ile pozitiflik oranları arasında istatistiksel fark saptamamışlarken, hayvan besiciliği yapanlarda pozitifliği anlamlı bulmuşlardır. Seroprevalansı >60 yaş grubunda diğer yaş gruplarına göre yüksek olarak saptamışlardır. Oscarsson ve ark. (150) İsviçre'nin kuzeyinde PUUV Hantavirus seroprevalansını araştırmış ve ELISA yöntemiyle PUUV IgG sıklığını % 13.4 olarak saptamışlardır. Seroprevalansın erkeklerde

kadınlara göre ve çiftçilerde ofis çalışanlarına göre anlamlı şekilde yüksek olduğu, pozitiflik oranlarının her iki cinsiyet için de yaş arttıkça arttığı bildirilmiştir. Gozalan ve ark. (127) ise Giresun İli'nde yaptıkları Hantavirus seroprevalans çalışmasında ELISA yöntemiyle Hantavirus IgG seroprevalansını % 10.4, WB yöntemi ile doğrulama sonrasında ise % 3.2 olarak tespit etmiştir. Her iki yöntemle de ahşap ya da kerpiç evlerde yaşayanlarda prevalansın betonarme evlerde yaşayanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu, WB yöntemi ile Hantavirus IgG pozitifliğinin erkeklerde, >45 yaş grubunda, kemiricilerle temas hikayesi olanlarda ve tarlada çalışanlarda diğerlerine göre anlamlı fark olmamakla birlikte yüksek olduğu bildirilmiştir. Sevensan ve ark. (146) Bartın'da trombositopeni, üre ve kreatinin yüksekliği hikayesi olan kişilerde Hantavirus enfeksiyonunu serolojik yöntemlerle araştırdığı çalışmasında WB yöntemiyle Hantavirus IgG pozitifliğini % 8.3 olarak saptamış, PUUV tipinin % 7.1, DOBV tipinin ise % 1.2 oranında olduğunu gözlemişlerdir. Pozitifliğin erkeklerde ve orman işlerinde çalışanlarda anlamlı olarak yüksek olduğunu, yaş grupları arasında ise anlamlı fark olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise Hantavirus IgG seroprevalansı ELISA yöntemiyle % 6.7, WB yöntemiyle % 3.1 olarak saptanmış olup, PUUV tipinin % 2.6, DOBV tipinin ise % 0.6 oranında olduğu gözlenmiştir.

Bartın'da RSKA bulguları taşıyan kişilerle yapılan çalışmada PUUV sıklığı daha fazla olmak üzere DOBV ve PUUV tiplerine ait pozitiflikler saptanmıştır (146). Yine Bartın'da kemiricilerde Öktem ve ark. (151) tarafından Hantavirusun DOBV tipi araştırılmış, Apodemus flavicollis ve Apodemus uralensis türlerinin dokularında RT-PCR ile DOBV tipinin varlığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da Bartın'da yapılan çalışma ile benzer şekilde Hantavirus'un PUUV ve DOBV tiplerine ait pozitiflikler saptanmış ve PUUV sıklığı DOBV sıklığına göre yüksek bulunmuştur. Bu benzerliğin Düzce ve Bartın illerinin coğrafi konum olarak birbirine yakın olması dolayısıyla benzer bitki örtüsü ve iklim koşullarından kaynaklanabileceği ve Düzce ilinde de kemiricilerde Hantavirus seroprevalans çalışmalarının yapılması gerektiği düşünülmüştür.

Cinsiyetler arası fark, çalışmamızda anlamlı bulunmamış olup yapılan diğer çalışmalarla benzerdir (127,144,149). Ancak Oscarson ve ark. (150) ile Sevensan ve

ark. (146) erkeklerde pozitifliğin anlamlı şekilde yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda diğer çalışmalarla benzer şekilde yaş grupları arasında istatistiksel fark saptanmamış olup, 61-70 yaş grubunda seroprevalansın daha yüksek olduğu gözlenmiştir (127,144,146,149). Diğer çalışmalarda da prevalansın yaş ile arttığı görülmüştür (149,150).

Gozalan ve ark. (127) çalışmalarında kerpiç ya da ahşap evlerde yaşamının Hantavirus bulaşında önemli bir risk faktörü olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda da istatistiksel olarak fark olmamakla birlikte kerpiç evlerde yaşayanlarda seroprevalans daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda aylık geliri 3000 TL'nin altında olanlarda pozitiflik anlamlı olmamakla birlikte yüksek bulunmuştur. Sosyoekonomik düzeyin hijyen ve yaşam koşullarını etkilemesi nedeniyle pozitifliğin daha fazla olabileceği düşünülmüştür.

Hantavirusun kemiricilerin çıkartıları ile dış ortama saçılıp aerosol oluşturarak insanlara inhalasyon yoluyla bulaştığı bilinmektedir (7). Bu nedenle orman içinde çalışmanın bulaş ihtimalini artırabileceği düşünülmüştür. Orman işçilerinde WB yöntemi ile pozitiflik diğer meslek gruplarından daha yüksek bulunmuş ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Hantaviruslar aerosol yoluyla bulaşabildiğinden bulaş için kemirici hayvanlarla temas şart değildir. Çalışmamızda Hantavirus IgG pozitif olanlarda kemirici hayvanla temas öyküsü bulunmamaktadır. Evlerinin içinde ya da çevresinde kemirici hayvan görenlerde pozitiflik oranının daha düşük bulunması görülen kemiricilerin Hantavirus taşıyıcısı olmayabileceğini düşündürmüştür.

Lyme hastalığı deri, kas-iskelet sistemi, kardiyovasküler sistem ve santral sinir sistemi (SSS)'ni tutan multisistemik bir hastalıktır (152). LH'nın serolojik olarak tanısında önerilen, serum örneklerinin ilk olarak ELISA veya IFA yöntemi ile çalışılması ve pozitif veya ara değerde sonuç alınan örneklerin WB ile doğrulamasının yapılması şeklindedir. Hastalığın ilk döneminde serolojik tanı henüz antikorlar oluşmamış olabileceğinden duyarlı değildir. İki-dört hafta sonra testin tekrarı önerilmektedir (153).

Zajac ve ark. (154) doğu ve orta Polonya'da çiftçilerde *B. burgdorferi* seroprevalansını araştırdığı çalışmalarında ELISA yöntemi ile *B. burgdorferi* IgM seroprevalansını % 16 olarak saptamışlardır. Jovanovic ve ark. (155) Sırbistan'ın Belgrad bölgesinde çiftçilerde ELISA yöntemiyle *B. burgdorferi* IgM pozitifliği saptamazken, WB yöntemiyle seroprevalansını % 2.9 olarak; askerlerde ise seroprevalansı her iki yöntemle de % 8.6 olarak saptamışlardır. Altındış ve ark. (82) ise Kıbrıs'ta askere alınmak üzere tıbbi kontrol yapılan kişilerde yaptıkları çalışmada *B. burgdorferi* seroprevalansını araştırmış, ELISA yöntemiyle *B. burgdorferi* IgM seroprevalansını % 2.2 olarak saptamıştır. Çalışmaya katılanların hiçbirinde kene ısırığı öyküsünün olmadığını ve LH'nin cilt bulgusu olan EKM'nin bulunmadığını bildirmişlerdir. *B. burgdorferi* IgM pozitif olan bir kişide diz eklemi tutulumu olduğunu belirtmişlerdir.

Türkiye'de yapılan çalışmalara bakıldığında Aslan Başbulut ve ark. (152) Samsun kırsalında yaptığı çalışmada *B. burgdorferi* seroprevalansını araştırmış ve ELISA yöntemiyle 419 kişiden birinde (% 0.2) *B. burgdorferi* IgM antikoru saptamış, ancak WB yöntemi ile doğrulamada pozitiflik tespit etmemiştir. Parlak ve ark. (134) Van bölgesindeki riskli gruplarda *B. burgdorferi* seroprevalansını araştırmış ve WB yöntemiyle *B. burgdorferi* IgM pozitifliği olmadığını bildirmişlerdir. Bucak ve ark. (136) 2013'de Bolu İlinde *B. burgdorferi* seroprevalansını araştırdığı çalışmada *B. burgdorferi* IgM seroprevalansını ELISA yöntemiyle % 14.8, WB yöntemi ile doğrulama sonrası ise % 3.8 olarak saptanmıştır. Seroprevalansın istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte kadınlarda, 40-60 yaş grubunda, kene maruziyeti olanlarda, okuryazar olmayanlarda ve tarlada çalışanlarda yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Kaya ve ark. (156) ise 2007 yılında Düzce iline ait köylerde yaşayan orman işçileri ve çiftçilerde *B. burgdorferi* seroprevalansını araştırmış, ELISA yöntemiyle *B. burgdorferi* IgM pozitifliği saptamamışlardır.

Çalışmamızda ise *B. burgdorferi* IgM seroprevalansı ELISA yöntemiyle % 13.9, WB yöntemiyle % 1.6 olarak saptanmıştır. Düzce ilinde 2007 yılından bu yana *B. burgdorferi* IgM seroprevalansının arttığı gözlenmiştir. Bolu ilinde seroprevalansın Düzce ili ile benzer olduğu gözlenmiş, benzerliğin coğrafi konum olarak komşu olan iki ilin benzer bitki örtüsüne sahip olmalarından kaynaklandığı

düşünülmüştür. Düzce ile kıyaslandığında Polonya’da seroprevalansın yüksek olduğu, Samsun ve Van’da ise düşük olduğu görülmüştür. Polonya’da seroprevalansın yüksek olmasının çalışma grubunda sadece çiftçilerin olmasından kaynaklanabileceği, Samsun ve Van’da ise çalışmanın özel bir meslek grubunda yapılmaması nedeniyle seroprevalansın düşük olduğu düşünülmüştür. Bizim çalışmamız ise özel bir meslek grubunda yapılmamakla birlikte örneklem seçiminde *B. burgdorferi* enfeksiyonu riskinin olabileceği orman içi köyler tercih edilmiştir.

Çalışmamızda cinsiyetler arası fark anlamlı bulunmamıştır. *B. burgdorferi* IgM sıklığının istatistiksel olarak benzer olmakla birlikte ELISA yöntemi ile en sık 31-45 yaş grubunda, WB yöntemi ile 46 yaş ve üzerinde olduğu saptanmıştır. *B. burgdorferi* bulaşında risk olabilecek durumlardan kene ısırma öyküsü, hayvan besiciliği yapma, orman işlerinde çalışma ve kerpiç ya da ahşap evde yaşıyor olmanın pozitiflik oranını artırmadığı görülmüştür. Kene ısırma öyküsünün ELISA yöntemiyle *B. burgdorferi* IgM pozitifliği olanların % 51.8’inde, WB yöntemiyle *B. burgdorferi* IgM pozitifliği olanların ise % 66.6’sında olduğu saptanmıştır. *B. burgdorferi* IgM pozitifliği olup kene ısırma öyküsü olmayanlarda, nimf formundaki keneler çok küçük olduğu için ısırmanın farkedilmemiş olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca endemik bölgelerde kene için potansiyel yerler olan ormanlık, çimenlik bir alanda yaralanma ile *B. burgdorferi* bulaşı kene ısırması olmadan da olabilmektedir (157).

Çalışmamızda ELISA yöntemiyle *B. burgdorferi* IgM pozitif bulunan bir kişide ciltte kızarıklık ve eklemde ağrı, kızarıklık, şişlik öyküsü bulunmaktadır. Altındiş ve ark. (82) da Kıbrıs’ta yaptıkları çalışmada *B. burgdorferi* IgM pozitif saptadıkları bir kişide diz eklemi tutulumu olduğunu bildirmişlerdir. *B. burgdorferi* IgM’nin pozitif saptandığı diğer kişilerin semptomların henüz ortaya çıkmadığı erken dönemde olabilecekleri ya da asemptomatik enfeksiyon olarak hastalığı geçirebilecekleri düşünülmüştür.

Lyme hastalığı genel olarak yaş, cinsiyet ve ırk farkı göstermeyen bir hastalıktır. Ancak kenelerin yaygın olarak bulunduğu alanlarda ikamet edenler veya çalışanlar yüksek risk altındadır. Yürüyüş, kamp, avcılık, balık tutma ve bahçecilik gibi açık hava etkinlikleri ile ağaçlık alanların etrafında vakit geçirme diğer risk

faktörleri arasındadır. Bununla birlikte enfeksiyonların çoğu ikamet edilen yerde rutin faaliyetler sırasında ortaya çıkmaktadır (152,153). Wilking ve ark. (130) Almanya’da erişkinlerde *B. burgdorferi* seroprevalansını % 9.4 olarak saptamış, sıklığın erkeklerde kadınlara göre anlamlı şekilde yüksek olduğunu ve her iki cinsiyette de yaş arttıkça seroprevalansın arttığını bildirmişlerdir. Zákutná ve ark. (158) doğu Slovakya’da yüksek risk gruplarında *B. burgdorferi* seroprevalansını araştırdıkları çalışmalarında ELISA yöntemiyle *B. burgdorferi* IgG sıklığını % 25.3 olarak bulmuşlardır. Seroprevalansın >30 yaş grubunda ve erkeklerde anlamlı şekilde yüksek olduğunu, çiftçilerde ve orman işçilerinde ise polislerle kıyaslandığında anlamlı fark bulunduğunu, ancak diğer meslek grupları ile aralarında istatistiksel olarak fark olmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca kene ısırma ve hayvanlarla temas öyküsünün *B. burgdorferi* IgG pozitifliğini artıran faktörler olmadığını bildirmişlerdir. Aslan Başbulut ve ark. (152) Samsun kırsalında *B.burgdorferi* IgG seropozitifliğini ELISA yöntemiyle % 4.1, WB yöntemiyle ise %3.3 olarak bulmuştur. 15-39 yaş grubunda ve kadınlarda seroprevalansın daha yüksek olduğunu ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir. Sosyoekonomik ve eğitim düzeyi yüksek kişilerde Lyme seroprevalansının düşük olduğunu belirtmişlerdir. Parlak ve ark. (134) Van bölgesindeki riskli gruplarda *B. burgdorferi* IgG seropozitifliğini araştırmış ve ELISA yöntemiyle % 3.8, WB yöntemiyle % 0.9 olarak tespit etmiş, kadınlarda erkeklere göre prevalansın anlamlı şekilde yüksek olduğunu, kene veya böcek ısırığına maruz kalmanın *B. burgdorferi* IgG seropozitifliğini artıran bir faktör olmadığını gözlemişlerdir. Bucak ve ark. (136) Bolu ilinde *B. burgdorferi* IgG seroprevalansını ELISA yöntemiyle % 13.7, WB yöntemiyle ise % 4.6 olarak saptamışlardır. Seroprevalansın kadınlarda, 40-60 yaş grubunda, okuryazar olmayanlarda, kene maruziyeti olanlarda ve tarlada çalışanlarda diğer gruplara göre yüksek olduğunu, ancak istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını bildirmişlerdir. Kaya ve ark. (156) 2007’de Düzce ilinde orman işçileri ve çiftçilerde *B. burgdorferi* IgG seroprevalansını ELISA yöntemiyle % 10.9, WB yöntemiyle % 1.1 olarak, sağlıklı kontrol grubunda ise ELISA yöntemiyle % 2.6 olarak bulmuş, WB yöntemiyle doğrulamada pozitif sonuç saptamamışlardır. ELISA yöntemi ile seroprevalansın orman işçileri ve çiftçilerde kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Seropozitifliğin 10-20 yaş

grubunda, erkeklerde ve hayvan teması olanlarda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu, kene ısırma öyküsü ve klinik özellikler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olmadığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda ise *B. burgdorferi* IgG seroprevalansı ELISA yöntemiyle % 10.9, WB yöntemiyle % 6.2 olarak saptanmıştır. Türkiye’de yapılan çalışmalara bakıldığında seroprevalansın Van ve Samsun’da Düzce’den düşük olduğu, Bolu’da Düzce ile benzer olduğu görülmüştür (134,136,152). 2007 yılından bu yana Düzce’de *B. burgdorferi* IgG seroprevalansının ELISA yöntemiyle yapılan değerlendirmede değişmediği gözlenmiş, WB yöntemi ile yapılan değerlendirmede ise % 5.1’lik artış olduğu gözlenmiştir. Türkiye ile Avrupa ülkeleri kıyaslandığında seroprevalansın Avrupa ülkelerinde daha yüksek olduğu gözlenmiştir (158-162). Batı Karadeniz bölgesinin bitki örtüsü ve iklim koşullarının *B. burgdorferi*’nin vektörü olan kenelerin çoğalması ve etkeni yaymasında önemli bir faktör olduğu düşünülmüştür. Ayrıca 2007 yılında ilimizde yapılan çalışmadan bu yana pozitifliğin artmış olması bölge halkının kenelerden korunma konusunda bilgi düzeylerinin yetersiz olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda *B. burgdorferi* IgG pozitiflikleri ile cinsiyet arasındaki ilişki incelendiğinde kadınlarda ELISA ve WB yöntemleri ile erkeklerden daha yüksek oranda pozitiflik olduğu gözlenmiş ancak cinsiyetler arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Bu bulgunun Aslan Başbulut ve ark. (152) ile Bucak ve ark. (136)’nın çalışması ile benzer olduğu gözlenmiş, Zákutná ve ark. (158), Wilking ve ark. (130) ve Kaya ve ark. (156) ise erkeklerde seroprevalansın anlamlı şekilde yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalardaki farklılıkların kadın ya da erkeklerin tarım ve hayvancılık işlerinde çalışma durumundaki farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Yaş gruplarına göre *B. burgdorferi* IgG’nin dağılımına bakıldığında çalışmamızda sıklığın hem ELISA hem de WB yöntemleri ile 61-70 yaş grubunda diğer yaş gruplarından anlamlı olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Zákutná ve ark. (158) >30 yaş grubunda, Kaya ve ark. (156) 10-20 yaş grubunda pozitifliğin anlamlı olarak yüksek olduğunu, Bucak ve ark. (136) 40-60 yaş grubunda, Aslan Başbulut ve ark. (152) ise 15-39 yaş grubunda pozitiflik oranlarının

yüksek olduğunu ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalar LH'nın çocuk, erişkin ve yaşlıları etkileyen bir hastalık olduğunu göstermektedir. Ömür boyu pozitif kaldığı bilinen *B. burgdorferi* IgG'nin bölgemizde ileri yaşlardaki pozitifliğinin yüksek olması, bölge şartlarında uzun süre yaşamanın bulaş riskini artırdığını düşündürmüştür.

B. burgdorferi seroprevalansının araştırıldığı çalışmalarda sosyoekonomik ve eğitim düzeyi yüksek kişilerde LH seroprevalansının düşük olduğu bildirilmiştir (152,158). Ayrıca Bucak ve ark. (136) okuryazar olmayanlarda prevalansın daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da eğitim durumuna göre yapılan değerlendirmede üniversite mezunu olanlarda pozitiflik olmadığı, aylık gelir düzeyine göre gelir düzeyi 3000 TL ve üzeri olanlarda *B. burgdorferi* IgG'nin negatif olduğu gözlenmiştir. Eğitim seviyesi yüksek olanların keneler ve bulaştırdıkları hastalıklar konusunda daha bilinçli olması, sosyoekonomik düzeyi yüksek olanların ise kişisel hijyen ve bakım imkanlarına daha kolay ulaşabilmesi nedeniyle prevalansın bu gruplarda düşük olduğu düşünülmüştür.

Lyme hastalığı için en yüksek risk grubunu, orman ve tarım işçileri, avcılar, hayvancılıkla uğraşanlar ve kırsal bölgelerde yaşayan bireyler oluşturmaktadır (134). Kaya ve ark. (156) ile Zákutná ve ark. (158) çalışmalarında orman işçileri ve çiftçilerde seroprevalansın anlamlı olarak yüksek olduğunu bildirmiş, Bucak ve ark. (136) istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte seroprevalansın tarlada çalışanlarda diğer meslek gruplarından daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda ise *B. burgdorferi* IgG pozitifliği her iki yöntemle de en sık ev hanımlarında saptanırken meslek grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Ev hanımlarında seroprevalansın daha yüksek olması ev hanımlarının tamamına yakınının tarım işlerinde çalışmasına bağlanmıştır.

Çalışmamızda *B. burgdorferi* IgG'nin kerpiç evde yaşayanlarda ahşap ve betonarme evlerde yaşayanlara göre hem ELİSA hem de WB yöntemleri ile daha yüksek oranda olduğu görülmüş ve bu oranlar istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Kerpiç evde yaşamanın sosyoekonomik ve eğitim durumlarıyla paralel olduğu, bu nedenle de kerpiç evde yaşayanların orman işlerinde çalışırken alınması gereken tedbirleri uygulamadıkları düşünülmüştür.

Yapılan alışmalarda *B. burgdorferi* IgG seroprevalansının kene ısırma öyküsü ile ilişkisine bakıldığında, Parlak ve ark. (134), Bucak ve ark. (136), Kaya ve ark. (156) ve Zákutná ve ark. (158) aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise pozitifliğin kene ısırma öyküsü olanlarda daha yüksek oranda olduğu gözlenmiş, diğer çalışmalarla benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bu sonuçlar bize etkenin kene ısırması dışında da bulaş yollarının olduğunu hatırlatmaktadır. Ayrıca *B. burgdorferi* IgG mr boyu pozitif kaldığından çocukluk çağındaki temasların hatırlanmıyor olması da önemli bir sebep olabilmektedir.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Çalışmaya Düzce ili orman içi köylerinde ikamet eden 18-70 yaş arası kişilerden toplanan 193 adet serum örneği dahil edilmiştir. Çalışma kapsamında 11 köyden örnek toplanmıştır. Örneklerin 103 (% 53.4)'ü kadınlardan, 90 (%46.6)'ı ise erkeklerden alınmıştır.

2. ELISA yöntemi ile çalışılan 193 serum örneğinin 11 (% 5.7)'inde Hantavirus IgM, 13 (% 6.7)'ünde Hantavirus IgG pozitif olarak saptanmış, Hantavirus IgG pozitif bulunan 13 örneğin WB yöntemi ile beşinde (% 38.5) Hantavirusun Puumala tipi ve birinde (% 7.7) Dobrova tipi pozitif olarak saptanmıştır. WB yöntemi ile Hantavirus IgG seroprevalansı % 3.1 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda Hantavirus IgM ELISA, Hantavirus IgG ELISA ve WB testlerindeki pozitifliklerin tüm köylerde benzer olduğu görülmüştür. Literatürdeki diğer çalışmalarda Hantavirus seroprevalansının bölgeden bölgeye değiştiği gözlenmiştir.

3. Hantavirus IgG ELISA testinin duyarlılığı % 100, özgüllüğü % 96.3 olarak bulunmuş ve bulgularımızın yapılan diğer araştırmalarla uyumlu olduğu gözlenmiştir. Hantavirus IgG ELISA testinin pozitif prediktivite değeri % 46.2, negatif prediktivite değeri % 100, yanlış pozitiflik oranı % 3.7, yanlış negatiflik oranı % 0, genel doğruluk oranı % 96.4 olarak tespit edilmiştir. Hantavirus IgG için ELISA yönteminin tarama amacıyla kullanılabileceği ve ELISA yöntemi ile pozitiflik tespit edildiğinde ileri testlerle doğrulanması gerektiği düşünülmüştür.

4. Hantavirus bulaşında risk olabilecek durumlardan kirli sularla temas öyküsü, içme suyu olarak kuyu suyu ya da mahalle çeşmesinin kullanılması, kerpiç ya da ahşap evde yaşıyor olmanın ve orman işlerinde çalışmanın pozitiflik oranını artırmadığı görülmüştür. Ayrıca cinsiyetler ve meslek grupları arasında da istatistiksel fark saptanmamıştır. Yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında risk

faktörleri ile Hantavirus seroprevalansı arasındaki ilişkinin kısmen uyumlu olduğu gözlenmiştir.

5. Bölge halkının, kemiricilerin çıkartıları yoluyla insanlara Hantavirus bulaşında rol oynayabileceği ve korunmada alınacak önlemler konusunda farkındalıklarının olmadığı gözlenmiştir.

6. Hantavirus'un PUUV ve DOBV tiplerine ait pozitiflikler saptanmış olup bölgedeki kemiricilerde Hantavirus seroprevalans çalışmalarının yapılması ve bölge halkının Hantavirus enfeksiyonlarından korunma konusunda bilinçlendirilmesi gerektiği düşünülmüştür.

7. ELISA yöntemi ile çalışılan 193 serum örneğinin 27 (% 13.9)'sinde *B. burgdorferi* IgM, 21 (% 10.9)'inde *B. burgdorferi* IgG pozitif olarak saptanmış olup, *B. burgdorferi* IgM pozitif bulunan 27 örneğin WB yöntemi ile üçü (% 11.1), *B. burgdorferi* IgG pozitif bulunan 21 örneğin WB yöntemi ile 12 (% 57.1)'si pozitif olarak tespit edilmiştir. WB yöntemi ile *B. burgdorferi* IgM seroprevalansı % 1.6, *B. burgdorferi* IgG seroprevalansı ise % 6.2 olarak bulunmuştur.

8. *B. burgdorferi* IgM ve IgG seroprevalanslarının Düzce ve Bolu'da benzer oranlarda olduğu, WB yöntemi ile çıkan sonuçlara göre Düzce ilinde 2007'den bu yana *B. burgdorferi* IgM ve IgG seroprevalanslarının arttığı gözlenmiştir. Avrupa ülkelerinde *B. burgdorferi* IgG seroprevalansının Türkiye'ye göre yüksek olduğu görülmüştür.

9. *B. burgdorferi* IgM ELISA testinin duyarlılığı % 66.7, özgüllüğü % 86.8, *B. burgdorferi* IgG ELISA testinin ise duyarlılığı ve özgüllüğü % 100 olarak saptanmıştır. Literatürdeki diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında duyarlılık ve özgüllüğün uyguladığımız *B. burgdorferi* IgM ELISA testinde düşük olduğu, *B. burgdorferi* IgG ELISA testinde ise daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

10. *B. burgdorferi* bulaşında risk olabilecek durumlardan kene ısırma öyküsü, hayvan besiciliği yapma, orman işlerinde çalışma ve kerpiç ya da ahşap evde yaşıyor olmanın *B. burgdorferi* IgM'nin pozitiflik oranını artırmadığı görülmüştür.

Ayrıca cinsiyetler ve yaş grupları arasında *B. burgdorferi* IgM sıklığı istatistiksel olarak benzer bulunmuştur.

11. *B. burgdorferi* IgG seroprevalansının hem ELİSA hem de WB yöntemleri ile 61-70 yaş grubunda diğer yaş gruplarından anlamlı olarak fazla olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Yapılan çalışmalar LH'nın çocuk, erişkin ve yaşlıları etkileyen bir hastalık olduğunu göstermektedir. Ömür boyu pozitif kaldığı bilinen *B. burgdorferi* IgG'nin bölgemizde ileri yaşlardaki pozitifliğinin yüksek olması, bölge şartlarında uzun süre yaşamanın bulaş riskini artırdığını düşündürmüştür.

12. *B. burgdorferi* IgG'nin kerpiç evde yaşayanlarda ahşap ve betonarme evlerde yaşayanlara göre hem ELİSA hem de WB yöntemleri ile daha yüksek oranda olduğu görülmüş ve bu oranlar istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Kerpiç evde yaşamanın sosyoekonomik ve eğitim durumlarıyla paralel olduğu, bu nedenle de kerpiç evde yaşayanların orman işlerinde çalışırken alınması gereken tedbirleri uygulamadıkları düşünülmüştür.

13. Bölge halkının keneler yoluyla bulaşan hastalıklar, kenelerden korunma ve keneler yoluyla hastalık bulaşını önlemek üzere alınacak tedbirler konusunda bilgi düzeyi ve farkındalığının az olduğu gözlenmiştir. Bölge halkının keneler ve Lyme hastalığı konusunda bilinçlendirilmesi gerektiği düşünülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Muranyi W, Bahr U, Zeier M, Fokko J, Woude VD. Hantavirus Infection. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16:3669–3679.
2. Plyusnin A, Vapalahti O, Vaheiri A. Hantaviruses: genome structure, expression and evolution. *Journal of General Virology*. 1996;77:2677-2687.
3. Johansson P, Yap G, Low HT, Siew CC, Kek R, Ng LC, Bucht G. Molecular characterization of two hantavirus strains from different rattus species in Singapore. *Virology Journal*. 2010;7:1-9.
4. Us AD. Virusların sınıflandırılması. Ed: Us AD, Genel Viroloji. pp. 35-77, Pelikan Kitabevi, Ankara, Türkiye, 2013.
5. Vaheiri A, Strandin T, Hepojoki J. Uncovering the mysteries of hantavirus infections. *Nature Reviews Microbiology*. 2013;11:539–550.
6. Jonsson CB, Figueiredo LT, Vapalahti O. A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease. *Clin Microbiol Rev*. 2010;23(2):412-441.
7. Çelebi G. Hantavirus İnfeksiyonları. *Klinik Dergisi*. 2011;24(3):139-149.
8. Pádua M, Souza WM, Lauretti F, Figueiredo LT. Development of a novel plaque reduction neutralisation test for hantavirus infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;110(5):624-628.
9. Fulhorst CF, Bowen MD. Hantaviruses. Ed: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. *Manual of Clinical Microbiology Vol. 2 9th Ed*. pp. 1501-1510, ASM Press, Washington DC, USA, 2007.
10. Lee PW, Johnson KM. Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J Infect Dis*. 1978;190(9):1711-1721.
11. Simpson SQ, Spikes L, Patel S, Faruqi I. Hantavirus pulmonary syndrome. *Infect Dis Clin North Am*. 2010;24(1):159-173.
12. Ennis FA, Cruz J, Spiropoulou CF, Waite D, Peters CJ, Nichol ST, Kariwa H, Koster FT. Hantavirus Pulmonary Syndrome: CD8/ and CD4/ Cytotoxic T

Lymphocytes to E pitopes on Sin Nombre Virus Nucleocapsid Protein Isolated during Acute Illness. *Virology*. 1997;238:380-390.

13. Mackow ER, Gavrilovskaya IN. Cellular receptors and hantavirus pathogenesis. 2001. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2001;256:91-115.

14. Markotić A, Hensley L, Daddario K, Spik K, Anderson K, Schmaljohn C. Pathogenic hantaviruses elicit different immunoreactions in THP-1 cells and primary monocytes and induce differentiation of human monocytes to dendritic-like cells. *Coll Antropol*. 2007; 31(4):1159-1167.

15. Ravkov EV, Nichol ST, Compans RW. Polarized entry and release in epithelial cells of Black Creek Canal virus, a New World hantavirus. *J Virol*. 1997;71(2):1147–1154.

16. Rowe RK, Pekosz A. Bidirectional virus secretion and nonciliated cell tropism following Andes virus infection of primary airway epithelial cell cultures. *J. Virol*. 2006;80:1087–1097.

17. Jin M, Park J, Lee S, Park B, Shin J, Song KJ, Ahn TI, Hwang SY, Ahn BY, Ahn K. Hantaan virus enters cells by clathrin-dependent receptor-mediated endocytosis. *Virology*. 2002;294(1):60-69.

18. Schmaljohn CS, Hooper JW. *Bunyaviridae: the viruses and their replication*. Ed: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, Fields virology. pp. 1581–1602, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, 2001.

19. Mir MA, W. A. Duran WA, Hjelle BL, Ye C, Panganiban T. Storage of cellular 5' mRNA caps in P bodies for viral cap-snatching. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(49):19294-19299.

20. Betenbaugh M, Yu M, Kuehl K, White J, Pennock D, Spik K, Schmaljohn C. Nucleocapsid- and virus-like particles assemble in cells infected with recombinant baculoviruses or vaccinia viruses expressing the M and the S segments of Hantaan virus. *Virus Res*. 1995;38(2-3):111-124.

21. Taylor SL, Frias-Staheli N, García-Sastre A, Schmaljohn CS. Hantaan virus nucleocapsid protein binds to importin alpha proteins and inhibits tumor necrosis factor alpha-induced activation of nuclear factor kappa B. *J Virol*. 2009;83(3):1271-1279.

22. Taylor SL, Krempel RL, Schmaljohn CS. Inhibition of TNF-alpha-induced activation of NF-kappaB by hantavirus nucleocapsid proteins. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1171(Suppl 1):86-93.
23. Hjelle B. Vaccines against hantaviruses. *Expert Rev Vaccines* 2002; 1(3):373-384.
24. Schonrich G, Rang A, Lutteke N, Raftery MJ, Charbonnel N, Ulrich RG. Hantavirus-induced immunity in rodent reservoirs and humans. *Immunol Rev.* 2008;225(1):163-189.
25. Vapalahti O, Mustonen J, Lundkvist A, Henttonen H, Plyusnin A, Vaheri A. Hantavirus infections in Europe. *Lancet Infect Dis.* 2003;3(10):653-661.
26. Lee HW, van der Groen G. Hemorrhagic fever with renal syndrome. *Prog Med Virol.* 1989;36:62-102.
27. Clement J, McKenna P. Hantaviruses. Ed: Palmer SR, Soulsby EJJ, Simpson DIH, Zoonoses, Biology, Clinical Practice and Public Health Control. pp. 331-351, Oxford University Press, New York, USA, 1998.
28. Altun DU, Öktem MA, Ünal B. Hantavirus enfeksiyonları ve önlenmesi. *TAF Prev Med Bull.* 2011;10(3):373-378.
29. Tsai TF. Hemorrhagic fever with renal syndrome: mode of transmission to humans. *Lab Anim Sci.* 1987;37(4):428-430.
30. Karataş A. Türkiye'deki Kemirici (Mammalia: Rodentia) Türleri. Hantavirus Sempozyumu Bildiri Kitabı, s. 7-18. Hantavirus Sempozyumu, Ankara, 29 Mart 2010.
31. Çelebi G, Sözen M. Hantavirus Infections in Turkey. *Flora.* 2009;14(4):145-152.
32. Öktem İMA. Hantavirus ve kene ile bulaşan ensefalit virusu enfeksiyonları. *Ankem Derg.* 2009;23(Ek 2):245-248.
33. Çelebi G, Pişkin N, Öktem MA, İrkörücü O, Külekçi Uğur A, Öztoprak N, Ertek M, Gözalan A, Korukluoğlu G, Türkyılmaz B, Yılmaz Ö, Bodur H, Baruönü F, Ayma Y, Demir F, Külah E, Dursak A, Tekin İ, Aköz A. Bir salgının anatomisi. 14. Türk Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi Bildiri Kitabı, s.163. Türk Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Antalya, 25-29 Mart 2009.
34. Oktem MA, Ozkul A, Uyar Y. Seroprevalence of Hantavirus infections among the rodent populations in Bartın, Turkey. The book of 12th Rodents et Spatium The

- International Conference on Rodent Biology, p.128. 12th Rodents et Spatium The International Conference on Rodent Biology, Zonguldak, Turkey, 19-23 July 2010.
35. Uyar Y. Hantavirus enfeksiyonu laboratuvar tanısında Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı deneyimleri. Hantavirus Sempozyumu Bildiri Kitabı, s. 51-56. Hantavirus Sempozyumu, Ankara, 29 Mart 2010.
36. Yigit N, Colak E, Sozen M, Karatas A. Rodents of Türkiye. Ed: Demirsoy A, Rodents of Türkiye. pp. 1-111, Meteksan, Ankara, Turkey, 2006.
37. Korukluoğlu G. Hantavirus. Hantavirus Sempozyumu Bildiri Kitabı, s. 29-33. Hantavirus Sempozyumu, Ankara, 29 Mart 2010.
38. Manigold T, Vial P. Human hantavirus infections: epidemiology, clinical features, pathogenesis and immunology. Swiss Med Wkly. 2014;144:w13937.
39. Jiang H, Du H, Wang LM, Wang PZ, Bai XF. Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome: Pathogenesis and Clinical Picture. Front Cell Infect Microbiol. 2016;6:1.
40. Pinto Junior VL, Hamidad AM, Albuquerque Filho Dde O, dos Santos VM. Twenty years of hantavirus pulmonary syndrome in Brazil: a review of epidemiological and clinical aspects. J Infect Dev Ctries. 2014;8(2):137-142.
41. Figueiredo LT, Campos GM, Rodrigues FB. Hantavirus pulmonary and cardiovascular syndrome: epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis and treatment . Rev Soc Bras Med Trop. 2001;34:13-23.
42. Silva-Vergara ML, Júnior JCC, Barata CH, Curi VGM, Júnior CGT, Teixeira AC. Hantavirus Pulmonary Syndrome in Uberada, Minas Gerais, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2002;97:783-787.
43. Armien B1, Pascale JM, Muñoz C, Mariñas J, Núñez H, Herrera M, Trujillo J, Sánchez D, Mendoza Y, Hjelle B, Koster F. Hantavirus fever without pulmonary syndrome in Panama. Am J Trop Med Hyg. 2013;89(3):489-494.
44. Kostakoğlu U. Hantavirüs enfeksiyonlarının kliniği. Hantavirus Sempozyumu Bildiri Kitabı, s. 59-62. Hantavirus Sempozyumu, Ankara, 29 Mart 2010.
45. Öktem MA. Hantavirüs enfeksiyonlarında laboratuvar tanı. Hantavirus Sempozyumu Bildiri Kitabı, s. 45-47. Hantavirus Sempozyumu, Ankara, 29 Mart 2010.
46. Polat C. Türkiye batı bölgelerinde hantavirus araştırılması: Trakya bölgesi kemiricilerinde hantavirus antikorlarının prevalansının araştırılması. Dokuz Eylül

Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Yüksek Lisans Tezi, İzmir 2013.

47. Schmaljohn C. Vaccines for hantaviruses. *Vaccine*. 2009;27(Suppl 4):61-64.

48. Wilske B, Johnson BJB, Schrieffer ME. *Borrelia*. Ed: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. *Manual of Clinical Microbiology* Vol. 2 9th Ed. pp. 971-987, ASM Press, Washington DC, USA, 2007.

49. Tilly K, Rosa PA, Stewart PE. Biology of infection with *Borrelia burgdorferi*. *Infect Dis Clin North Am*. 2008;22(2):217-234.

50. Doğanç L, Baylan O. *Borrelia* türleri. Ed: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi* 1. baskı. pp. 1764-1772, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, Türkiye, 2002.

51. Spirochetal Infections. Ed: Winn WJ, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL, Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th Ed. pp. 1126-1150, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, 2006.

52. Steere AC. *Borrelia burgdorferi* (Lyme Disease, Lyme borreliosis). Ed: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R, Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases 6th Ed. pp. 2798-2809, Churchill Livingstone, Philadelphia, USA, 2005.

53. Barbour AG, Hayes SF. Biology of *Borrelia* species. *Microbiol Rev*. 1986;50:381-400.

54. Barbour AG. Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. *Yale J. Biol. Med*. 1984;57:521-525.

55. Preac-Mursic V, Wilske B, Reinhardt S. Culture of *Borrelia burgdorferi* on six solid media. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 1991;10:1076-1079.

56. Guo BP, Brown EL, Dorward DW, Rosenberg LC, Hook M. Decorinbinding adhesins from *Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol*. 1998;30:711-723.

57. Haake DA. Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. *Microbiology*. 2000;146:1491-1504.

58. Indest KJ, Howell JK, Jacobs MB, Scholl-Meeker D, Norris SJ, Philipp MT. Analysis of *Borrelia burgdorferi* vlsE gene expression and recombination in the tick vector. *Infect Immun*. 2001;69:7083-7090.

59. Bhate C, Schwartz RA. Lyme disease: Part I. Advances and perspectives. *J Am Acad Dermatol.* 2011;64(4):619-636.
60. Dressler F, Ackerman R, Steere AC. Antibody responses to the three genomic groups of *Borrelia burgdorferi* in European Lyme borreliosis. *J Infect Dis.* 1994;169:313.
61. Wilske B, Preac-Mursic V, Göbel UB, Graf B, Jauris S, Soutschek E, Schwab E, Zumstein G. An OspA serotyping system for *Borrelia burgdorferi* based on reactivity with monoclonal antibodies and OspA sequence analysis. *J Clin Microbiol.* 1993;31(2):340–350.
62. Burgdorfer W. Discovery of *Borrelia burgdorferi*: Lyme disease. Ed: Coyle PK. Mosby Year Book, 1st Ed. pp. 3-7, Missouri, USA, 1993.
63. Steere AC. Lyme borreliosis in 2005, 30 years after initial observations in Lyme, Connecticut. *Wien Klin Wochenschr.* 2006;118:625-633.
64. Stanek G, Strle F. *Lancet.* Lyme borreliosis. 2003;362(9396):1639-1647.
65. Steere AC, Malawista SE, Snyderman DR, Shope RE, Andiman WA, Ross MR, Steele FM. Lyme arthritis: an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three connecticut communities. *Arthritis Rheum.* 1977;20(1):7-17.
66. Johnson RC, Schmid GP, Fred FW, Steigerwalt AG, Brenner DJ. *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: Etiologic agent of Lyme disease. *Int J Syst Evol Microbiol.* 1984;34(4):496-497.
67. Wang G, van Dam AP, Schwartz I, Dankert J. Molecular Typing of *Borrelia burgdorferi* Ssensu Lato: taxonomic, epidemiological, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12(4):633–653.
68. Bergström S, Bundoc VG, Barbour AG. Molecular analysis of linear plasmid-encoded major surface proteins, OspA and OspB, of the Lyme disease spirochaete *Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol.* 1989;3(4):479-86.
69. Sadziene A, Wilske B, Ferdows MS, Barbour AG. The cryptic ospC gene of *Borrelia burgdorferi* B31 is located on a circular plasmid. *Infect Immun.* 1993;61(5):2192–2195.
70. Anderson JF. Epizootiology of Lyme Borreliosis. *Scand J Infect Dis.* 1991;77:23-34.

71. Lefebvre RB, Perng GC, Johnson RC. Characterization of *Borrelia burgdorferi* isolates by restriction endonuclease analysis and DNA hybridization. J Clin Microbiol. 1989;27:636-639.
72. Hovind-Hougen K, Asbrink E, Stiernstedt G, Steere AC, Hovmark A. Ultrastructural differences among spirochetes isolated from patients with Lyme disease and related disorders, and from *Ixodes ricinus*. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A. 1986;263(1-2):103-111.
73. Magnarelli LA, Anderson JF, Johnson RC, Nadelman RB, Wormser GP. Comparison of different strains of *Borrelia burgdorferi* sensu lato used as antigens in enzyme-linked immunosorbent assays. J Clin Microbiol. 1994;32:1154-1158.
74. Kolbert CP, Podzorski DS, Mathiesen DA, Wortman AT, Gazumyan A, Schwartz I, Persing DH. Two geographically distinct isolates of *Borrelia burgdorferi* from the United States share a common unique ancestor. Res. Microbiol. 1995;146:415-424.
75. Murray TS, Shapiro ED. Lyme disease. Clin Lab Med. 2010;30:311-328.
76. Stanek G, Wormser PG, Gray J, Strle F. Lyme borreliosis. Lancet. 2012;379:461-473.
77. Rauter C, Hartung T. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies in *Ixodes ricinus* ticks in Europe: a metaanalysis. Appl Environ Microbiol. 2005;71:7203-7216.
78. Weber K. Aspects of Lyme borreliosis in Europe. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2001;20:6-13.
79. Fulop B, Poggensee G. Epidemiological situation of Lyme borreliosis in Germany: surveillance data from six Eastern German States, 2002 to 2006. Parasitol Res. 2008;103:117-120.
80. Strle F, Stanek G. Clinical manifestations and diagnosis of Lyme borreliosis. Curr Probl Dermatol. 2009;37:51-110.
81. Özkurt Z. Türkiye’de *Borrelia burgdorferi* infeksiyonları ve tanı ilkeleri. 13. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi Bildiri Kitabı, s.109-116. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Antalya, 14-18 Mart 2007.

82. Altındış M, Yılmaz S, Bilici D. Kuzey Kıbrıs bölgesinde *Borrelia burgdorferi* antikör sıklığının araştırılması. İnfek Derg. 2002;16:163-166.
83. Lyme hastalığı. T.C. Sağlık Bakanlığı, Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı, Zoonotik Hastalıklar Hizmet İçi Eğitim Modülü, Ankara 2011.
84. Schmid GP, Horsley R, Steere AC, Hanrahan JP, Davis JP, Bowen GS, Osterholm MT, Weisfeld JS, Hightower AW, Broome CV. Surveillance of Lyme disease in the United States, 1982. J Infect Dis. 1985;151(6):1144-1149.
85. Steere AC, Malawista SE. Cases of Lyme Disease in the United States: Locations Correlated with Distribution of Ixodes dammini. Ann Intern Med. 1979;91:730-733.
86. Oliver JH Jr, Owsley MR, Hutcheson HJ, James AM, Chen C, Irby WS, Dotson EM, McLain DK. Conspecificity of the ticks Ixodes scapularis and I. dammini (Acari: Ixodidae). J Med Entomol. 1993;30(1):54-63.
87. Malawista SE. Lyme disease. Ed: Koopman WJ., Arthritis and Allied Conditions 14th ed. pp: 2629-2648, Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, USA, 2000.
88. Matuschka FR, Spielman A. Risk of infection from and treatment of tick bite. Lancet. 1993;342(8870):529-530.
89. Pal U, Li X, Wang T, Montgomery RR, Ramamoorthi N, Desilva AM, Bao F, Yang X, Pypaert M, Pradhan D, Kantor FS, Telford S, Anderson JF, Fikrig E. TROSPA, an Ixodes scapularis receptor for *Borrelia burgdorferi*. Cell. 2004;119:457-468.
90. Revel AT, Talaat AM, Norgard MV. DNA microarray analysis of differential gene expression in *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease spirochete. Proc Natl Acad Sci USA. 2002;99:1562-1567.
91. 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;92:2909-2913.
92. Carroll JA, Garon CF, Schwan TG. Effects of environmental pH on membrane proteins in *Borrelia burgdorferi*. Infect Immun. 1999;67:3181-3187.
93. Ewing C, Scorpio A, Nelson DR, Mather TN. Isolation of *Borrelia burgdorferi* from saliva of the tick vector, Ixodes scapularis. J Clin Microbiol. 1994;32:755-758.

94. Pal U, Yang X, Chen M, Bockenstedt LK, Anderson JF, Flavell RA, Norgard MV, Fikrig E. OspC facilitates *Borrelia burgdorferi* invasion of Ixodes scapularis salivary glands. J Clin Invest. 2004;113:220-230.
95. Liang FT, Yan J, Mbow ML, Sviat SL, Gilmore RD, Mamula M, Fikrig E. *Borrelia burgdorferi* changes its surface antigenic expression in response to host immune responses. Infect Immun. 2004;72:5759-5767.
96. Hirschfeld M, Kirschning CJ, Schwandner R, Wesche H, Weis JH, Wooten RM, Weis JJ. Cutting edge: inflammatory signaling by *Borrelia burgdorferi* lipoproteins is mediated by toll-like receptor 2. J Immunol. 1999;163:2382-2386.
97. Madigan JE. Lyme Borreliosis (*Borrelia burgdorferi*). Ed: Smith BP, Large Animal Internal Medicine 2nd Ed. pp. 1118-1119, The C. V. Mosby Company, Toronto, 1990.
98. Pal U, Fikrig E. Adaptation of the *Borrelia burgdorferi* in the vector and vertebrate host. Microbes and Infection. 2003;5(7):659-666.
99. Steere AC, Coburn J, Glickstein L. The emergence of Lyme disease. J Clin Invest. 2004;113(8):1093-1101.
100. Çalışkan E, Uslu E, Turan H, Kılıç N, Aliğaoğlu C. *Borrelia burgdorferi* enfeksiyonu ile oluşan bir Akrodermatitis Kronika Atrofikans olgusu. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2015;45(3):145-148.
101. Goodman JL, Bradley JF, Ross AE, Goellner P, Lagus A, Vitale B, Berger BW, Luger S, Johnson RC. Bloodstream invasion in early Lyme disease: results from a prospective, controlled, blinded study using the polymerase chain reaction. Am J Med. 1995;99(1):6-12.
102. Lebech AM, Hansen K, Brandrup F, Clemmensen O, Halkier-Sørensen L. Diagnostic value of PCR for detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in clinical specimens from patients with erythema migrans and Lyme neuroborreliosis. Mol Diagn. 2000;5(2):139-150.
103. Berger BW, Johnson RC, Kodner C, Coleman L. Cultivation of *Borrelia burgdorferi* from erythema migrans lesions and perilesional skin. J Clin Microbiol. 1992;30(2):359-361.
104. Zore A, Ruzić-Sabljic E, Maraspin V, Cimperman J, Lotric-Furlan S, Pikelj A, Jurca T, Logar M, Strle F. Sensitivity of culture and polymerase chain reaction for

the etiologic diagnosis of erythema migrans. Wien Klin Wochenschr. 2002;114(13-14):606-609.

105. Pavia CS. Lyme Disease. Ed: Goldman E, Green LH, Practical Handbook of Microbiology 2nd Ed. pp. 252-256, CRC Press, Boca Raton, Florida, 2009.

106. Stanek S, Strle F, Gray JS, Wormser G. History and characteristics of Lyme borreliosis. Ed: Gray JS, Kahl O, Lane RS, Stanek G, Lyme Borreliosis: Biology, Epidemiology and Control. pp. 1–28, CAB International, Wallingford, Oxon, UK, 2002.

107. Aguero-Rosenfeld ME, Nowakowski J, Bittker S, Cooper D, Nadelman RB, Wormser GP. Evolution of the serologic response to *Borrelia burgdorferi* in treated patients with culture-confirmed erythema migrans. J Clin Microbiol. 1996;34(1):1-9.

108. Akin E, McHugh GL, Flavell RA, Fikrig E, Steere AC. The immunoglobulin (IgG) antibody response to OspA and OspB correlates with severe and prolonged Lyme arthritis and the IgG response to P35 correlates with mild and brief arthritis. Infect Immun. 1999;67(1):173-181.

109. Engstrom SM, Shoop E, Johnson RC. Immunoblot interpretation criteria for serodiagnosis of early Lyme disease. J Clin Microbiol. 1995;33(2):419-427.

110. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Recommendations for test performance and interpretation from the Second National Conference on Serologic Diagnosis of Lyme Disease. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1995;44(31):590-591.

111. Chomel B. Lyme disease. Ed: Heymann DL, Control of Communicable Diseases Manual 19th Ed. American Public Health Association (APHA). pp. 364-369, United Book Press, Inc., Baltimore, USA, 2008.

112. Schriefer ME. Borrelia. Ed: Versalovic J. Manual of Clinical Microbiology 10th Ed. p. 924-940, ASM Press, Washington D.C, USA, 2011.

113. Baron EJ, Finegold SM. Spirochetes and other spiral-shaped organisms. Ed: Finegold SM, Baron EJ, Bailey WR, Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology 8th Ed. pp. 445-450, The C.V. Mosby Company, St. Louis, USA, 1990.

114. Doğançlı L, Baylan O. Lyme hastalığı. Ed: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi 1. baskı. pp. 701-712, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, Türkiye, 2002.

115. Weber K, Pfister HW. Clinical management of Lyme borreliosis. Lancet. 1994;343:1017.
116. Kalish R. Lyme disease. Rheum Dis Clin N Am. 1993;19(2):399.
117. Sigal LH, Zahradnik JM, Lavin P, Patella SJ, Bryant G, Haselby R, Hilton E, Kunkel M, Adler-Klein D, Doherty T, Evans J, Molloy PJ, Seidner AL, Sabetta JR, Simon HJ, Klempner MS, Mays J, Marks D, Malawista SE. A vaccine consisting of recombinant *Borrelia burgdorferi* outer-surface protein A to prevent Lyme disease. Recombinant Outer-Surface Protein A Lyme Disease Vaccine Study Consortium. N Engl J Med. 1998;339(4):216-222.
118. Steere AC, Sikand VK, Meurice F, Parenti DL, Fikrig E, Schoen RT, Nowakowski J, Schmid CH, Laukamp S, Buscarino C, Krause DS. Vaccination against Lyme disease with recombinant *Borrelia burgdorferi* outer-surface lipoprotein A with adjuvant. Lyme Disease Vaccine Study Group. N Engl J Med. 1998;339(4):209-215.
119. Recommendations for the use of Lyme disease vaccine. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1997;46:577-579.
120. CDC. Lyme disease-United States, 2001-2002. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2004;53(17):365-369.
121. Smith R, Takkinen J. Lyme borreliosis: Europe-wide coordinated surveillance and action needed? Euro Surveill. 2006;22;11(6):E060622.
122. Mutlu G, Gultekin M, Ergin C, Sayın F, Kuşun AE. Antalya yöresinde *Borrelia burgdorferi* antikorlarının ve vektörlerinin araştırılması. Mikrobiyol Bul. 1995;29:1-6.
123. Gözalan A. Hantavirüs epidemiyolojisi ve saha çalışmaları. Hantavirus Sempozyumu Bildiri Kitabı, s. 35-37. Hantavirus Sempozyumu, Ankara, 29 Mart 2010.
124. Oldal M, Németh V, Madai M, Pintér R, Kemenesi G, Dallos B, Kutas A, Sebök J, Horváth G, Bányai K, Jakab F. Serosurvey of pathogenic hantaviruses among forestry workers in Hungary. Int J Occup Med Environ Health. 2014;27(5):766-773.

125. Engler O, Klingstrom J, Aliyev E, Niederhauser C, Fontana S, Strasser M, Portmann J, Signer J, Bankoul S, Frey F, Hatz C, Stutz A, Tschaggelar A, Mutsch M. Seroprevalence of hantavirus infections in Switzerland in 2009: difficulties in determining prevalence in a country with low endemicity. *Euro Surveill.* 2013;18(50):20660.
126. Wilken JA, Jackson R, Materna BL, Windham GC, Enge B, Messenger S, Xia D, Knust B, Buttke D, Roisman R. Assessing prevention measures and Sin Nombre hantavirus seroprevalence among workers at Yosemite National Park. *Am J Ind Med.* 2015;58(6):658-667.
127. Gozalan A, Kalaycioglu H, Uyar Y, Sevindi DF, Turkyilmaz B, Çakir V, Cindemir C, Unal B, Yağçi-Çağlayik D, Korukluoglu G, Ertek M, Heyman P, Lundkvist Å. Human puumala and dobrava hantavirus infections in the Black Sea region of Turkey: a cross-sectional study. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013;13(2):111-118.
128. Ertek M, Buzgan. An outbreak caused by hantavirus in the Black Sea region of Turkey, January-May 2009. *T Euro Surveill.* 2009;14(20).pii:19214.
129. Hatchette TF, Johnston BL, Schleihau E, Mask A, Haldane D, Drebot M, Baikie M, Cole TJ, Fleming S, Gould R, Lindsay R. Epidemiology of Lyme Disease, Nova Scotia, Canada, 2002-2013. *Emerg Infect Dis.* 2015;21(10):1751-1758.
130. Wilking H, Fingerle V, Klier C, Thamm M, Stark K. Antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato among Adults, Germany, 2008-2011. *Emerg Infect Dis.* 2015;21(1):107-110.
131. Vestrheim DF, White RA, Aaberge IS, Aase A. Geographical differences in seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* antibodies in Norway, 2011-2013. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016;7(5):698-702.
132. Rigaud E, Jaulhac B, Garcia-Bonnet N, Hunfeld KP, Féménia F, Huet D, Goulvestre C, Vaillant V, Deffontaines G, Abadia-Benoist G. Seroprevalence of seven pathogens transmitted by the *Ixodes ricinus* tick in forestry workers in France. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22(8):735.
133. Praharaj AK, Jetley S, Kalghatgi AT. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in North Eastern India. *Med J Armed Forces India.* 2008;64(1): 26–28.

134. Parlak M, Bayram Y, Çıkman A, Ceylan N, Berktaş M. Seropositivity of *Borrelia burgdorferi* in risky groups in Van region, Turkey. Mikrobiyol Bul. 2015;49(3):439-445.
135. Gazi H, Özkütük N, Ecemis Ö, Atasoylu G, Köroğlu G, Kurutepe S, Horasan GD. Seroprevalence of West Nile virus, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Francisella tularensis and *Borrelia burgdorferi* in rural population of Manisa, western Turkey. J Vector Borne Dis. 2016;53(2):112-117.
136. Bucak Ö, Koçoğlu ME, Taş T, Mengeloğlu FZ. Evaluation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato seroprevalence in the province of Bolu, Turkey. Turk J Med Sci. 2016;46(3):727-732.
137. Bi Z, Formenty PB, Roth CE. Hantavirus infection: a review and global update. J Infect Dev Ctries. 2008;2(1):3-23.
138. Muyldermans A, Lagrou K, Patteet S, Van Esbroeck M, Van Ranst M, Saegeman V. Comparison of two automated immunoassays for the determination of Puumalavirus IgM and IgG. J Clin Virol. 2014;60(2):165-167.
139. Goeijenbier M, Hartskeerl RA, Reimerink J, Verner-Carlsson J, Wagenaar JF, Goris MG, Martina BE, Lundkvist Å, Koopmans M, Osterhaus AD, van Gorp EC, Reusken CB. The hanta hunting study: underdiagnosis of Puumala hantavirus infections in symptomatic non-travelling leptospirosis-suspected patients in the Netherlands, in 2010 and April to November 2011. Euro Surveill. 2014;19(32):20878.
140. Marangoni A, Sparacino M, Cavrini F, Storni E, Mondardini V, Sambri V, Cevenini R. Comparative evaluation of three different ELISA methods for the diagnosis of early culture-confirmed Lyme disease in Italy. J Med Microbiol. 2005;54(Pt 4):361-367.
141. Chandrashekar R, Mainville CA, Beall MJ, O'Connor T, Eberts MD, Alleman AR, Gaunt SD, Breitschwerdt EB. Performance of a commercially available in-clinic ELISA for the detection of antibodies against Anaplasma phagocytophilum, Ehrlichia canis, and *Borrelia burgdorferi* and Dirofilaria immitis antigen in dogs. Am J Vet Res. 2010;71(12):1443-1450.
142. Vieira CJ, Silva DJ, Barreto ES, Siqueira CE, Costa VG, in an urban area in Mato Grosso State, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2016;49(3):348-350.

143. Gimaque JB, Bastos Mde S, Braga WS, Oliveira CM, Castilho Mda C, Figueiredo RM, Galusso Edos S, Itapirema EF, Figueiredo LT, Mourão MP. Serological evidence of hantavirus infection in rural and urban regions in the state of Amazonas, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2012;107(1):135-137.
144. Montgomery JM, Blair PJ, Carroll DS, Mills JN, Gianella A, Iihoshi N, Briggiler AM, Felices V, Salazar M, Olson JG, Glabman RA, Bausch DG. Hantavirus pulmonary syndrome in Santa Cruz, Bolivia: outbreak investigation and antibody prevalence study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(10):1840.
145. Cesur S, Ünverdi S, Çiftçi A, Akay H, Kaya C, Irmak H, Altay M, Duranay M. Ankara ve Kırıkkale İllerindeki kronik böbrek yetmezliği hastalarında Hantavirus seroprevalansının araştırılması. *Klinik Dergisi*. 2012;25(3):103-106.
146. Sevcen F, Gözalan A, Uyar Y, Kavaklı I, Türkyılmaz B, Ertek M, Lundkvist A. Serologic Investigation of Hantavirus Infection in Patients with Previous Thrombocytopenia, and Elevated Urea and Creatinine Levels in an Epidemic Region of Turkey. *Jpn J Infect Dis*. 2015;68(6):488-93.
147. Sağlık Bakanlığı Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. 2015/Sürüm: 1.1 / V-MT-13 / Mikrobiyolojik Tanımlama / Viroloji.
148. Kaya S. Hantavirus enfeksiyonlarında prognostik faktörler. *Mikrobiyol Bul*. 2014;48(1):179-187.
149. Sane J, Reimerink J, Harms M, Bakker J, Mughini-Gras L, Schimmer B, van Pelt W. Human hantavirus infections in the Netherlands. *Emerg Infect Dis*. 2014;20(12):2107-2110.
150. Bergstedt Oscarsson K, Brorstad A, Baudin M, Lindberg A, Forssén A, Evander M, Eriksson M, Ahlm C. Human Puumala hantavirus infection in northern Sweden; increased seroprevalence and association to risk and health factors. *BMC Infect Dis*. 2016;16(1):566.
151. Oktem MA, Uyar Y, Dincer E, Gozalan A, Schlegel M, Babur C, Celebi B, Sozen M, Karatas A, Ozkazanc NK, Matur F, Korukluoglu G, Ulrich RG, Ertek M, Ozkul A. Dobrava-Belgrade Virus in *Apodemus flavicollis* and *A. uralensis* Mice, Turkey. *Emerg Infect Dis*. 2014;20(1):121-125.

152. Aslan Başbulut E, Gözalan A, Sönmez C, Çöplü N, Körhasan B, Esen B, Akın L, Ertek M. Samsun kırsalında *Borrelia burgdorferi* ve Kene Ensefaliti Virusu seroprevalansının araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2012;46(2):247-256.
153. Bratton RL, Whiteside JW, Hovan MJ, Engle RL, Edwards FD. Diagnosis and treatment of Lyme disease. Mayo Clin Proc. 2008;83(5):566-571.
154. Zając V, Pinkas J, Wójcik-Fatla A, Dutkiewicz J, Owoc A, Bojar I. Prevalence of serological response to *Borrelia burgdorferi* in farmers from eastern and central Poland. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2016.
155. Jovanovic D, Atanasievska S, Protic-Djokic V, Rakic U, Lukac-Radoncic E, Ristanovic E. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in occupationally exposed persons in the Belgrade area, Serbia. Braz J Microbiol. 2015;46(3):807-814.
156. 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):203-209.
157. Lyme hastalığı. Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısı için Saha Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı. ICD-10 A69.2, M01.2.
158. Zákutná L, Dorko E, Mattová E, Rimárová K. Sero-epidemiological study of Lyme disease among high-risk population groups in eastern Slovakia. Ann Agric Environ Med. 2015;22(4):632-636.
159. Chmielewska-Badora J, Moniuszko A, Żukiewicz-Sobczak W, Zwoliński J, Piątek J, Pancewicz S. Serological survey in persons occupationally exposed to tick-borne pathogens in cases of co-infections with *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Bartonella* spp. and *Babesia microti*. Ann Agric Environ Med. 2012;19(2):271–274.
160. Zwoliński J, Chmielewska-Badora J, Cisak E, Buczek A, Dutkiewicz J. Prevalence of antibodies to *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in forestry workers from the Lublin region. Wiad Parazytol. 2004;50(2):221–227.
161. Cisak E, Zając V, Wójcik-Fatla A, Dutkiewicz J. Risk of tick-borne diseases in various categories of employment among forestry workers in eastern Poland. Ann Agric Environ Med. 2012;19(3):469–474.

162. 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): 257–261.



8. EKLER

ANKET FORMU

Adı:

Soyadı:

Yaşı/ Doğum tarihi:

Cinsiyeti:

Mesleği:

Geçmişte yada şu anda aşağıdaki işlerle uğraşma durumu :

Hayvan besiciliği yapma:

Tarım işlerinde çalışma:

Orman işleriyle uğraşma:

Ormanda haftada kaç saatinizi geçiriyorsunuz?

Eğitim durumu: Okur-yazar değil/ Okur-yazar/ İlkokul/ Ortaokul/Lise/ Üniversite

Yerleşim Yeri: Köy/Kent

Ev durumu: Betonarme/Kerpiç

Sosyo-ekonomik düzeyiniz nedir? Hane geliri aylık >4000/3000-4000/1500-3000/<1500/<1000 TL

İçme suyunu nereden temin ediyor? Musluk- Mahalle çeşmesi-Kuyu suyu- Satın alıyor

Birikinti sularla temas öyküsü?

Ev veya ev çevresinde kemirici hayvan görüyor musunuz?(fare, sıçan, sincap vb.)

Kemirici hayvanla temas öyküsü var mı?

Kene ve/veya kemirgen ısırması öyküsü var mı?

Ciddi Ateşli / kanamalı hastalık/ solunum sıkıntısı nedeniyle doktora başvurmuş mu?

Ciltte geniş çaplı kızarıklık öyküsü var mı?

Eklemde ağrı, kızarıklık, şişlik öyküsü var mı?

