

## Seronegatif Lyme Hastalığı: Tanısı Dokuda PCR ile Doğrulanmış İki Olgu Sunumu

### Seronegative Lyme Disease: Report of Two Cases Confirmed with PCR

Ferhat ARSLAN<sup>1</sup>, Sevgi ERGIN<sup>2</sup>, Fehmi TABAK<sup>1</sup>, Kenan MIDILLI<sup>2</sup>, Ali MERT<sup>1</sup>

<sup>1</sup> İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Infeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup> İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

#### ÖZET

Lyme hastalığı *Ixodes* cinsi kenelerin vektör olduğu *Borrelia burgdorferi sensu lato* tarafından oluşturulan sistemik bir hastalıktır. Erken klinik evrede ilk bulgu eritema kronikum migrans'tir. Bu bildiriye polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile tanısı konulmuş iki seronegatif eritema kronikum migrans olgusu tartışılmıştır. Bu bildiriye *B. burgdorferi sensu lato*'nun erken evre tanısında PCR'nin önemini vurgulamak istedik.

**Anahtar Kelimeler:** Seronegatif, Lyme hastalığı, Polimeraz zincir reaksiyonu, Eritema kronikum migrans

#### SUMMARY

### Seronegative Lyme Disease: Report of Two Cases Confirmed with PCR

Ferhat ARSLAN<sup>1</sup>, Sevgi ERGIN<sup>2</sup>, Fehmi TABAK<sup>1</sup>, Kenan MIDILLI<sup>2</sup>, Ali MERT<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Faculty of Cerrahpasa Medicine, University of Istanbul, Istanbul, Turkey

<sup>2</sup> Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Faculty of Cerrahpasa Medicine, University of Istanbul, Istanbul, Turkey

Lyme disease is a multisystem disorder transmitted by ticks of the genus *Ixodes* and caused by *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Its early clinical symptom is erythema chronicum migrans. Herein, two seronegative erythema chronicum migrans cases diagnosed by polymerase chain reaction (PCR) are reported. We emphasize the importance of PCR in early detection of *B. burgdorferi sensu lato*.

**Key Words:** Seronegative, Lyme disease, Polymerase chain reaction, Erythema chronicum migrans

## GİRİŞ

Lyme hastalığı *Ixodes* cinsi kenelerin vektör olduğu *Borrelia burgdorferi sensu lato* tarafından oluşturulan sistemik bir hastalıktır. Lyme hastalığı klinik belirtilerine göre; erken lokalize, erken dissemine ve geç hastalık dönemi şeklinde üç evre halinde tanımlanmaktadır. Erken klinik evrede ilk bulgu eritema kronikum migrans (EKM)'dir. EKM, Lyme hastalığının erken lokal infeksiyon evresi olan evre I'in tipik deri döküntüsüdür. Genellikle kene ısırmasından sonra ortalama bir haftada ve ısırığın olduğu yerde, hafif kaşıntılı, eritemli, 3-50 cm çaplı deri döküntüsüdür. Lyme hastalığı için patognomonik deri bulgusu olmasına karşın bu dönemde serolojik testler genellikle negatiftir. Epidemiyolojik öykünün iyi değerlendirilemediği hastalarda lezyonların kendiliğinden iyileşmesi ve sıklıkla erken evrede seroloji negatifliği nedenleriyle hastalar geç dönem Lyme hastalığına ilerleyebilmektedir. Bu çalışmada iyileşme döneminde de seronegatifliği devam eden iki olgumuzda deri biyopsi örneğinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle tanı tartışılmıştır.

## OLGU SUNUMLARI

### Olgu 1

Otuz üç yaşındaki kadın hasta, bir hafta öncesinde sağ anterior deltoid bölgeden kene tarafından ısırıldıktan sonra infeksiyon polikliniğine ısırık bölgesinde kızamıklık ve hafif ağrı yakınmasıyla başvurdu. Fizik muayenesinde genel durum iyi, bilinç açık ve vital bulguları normal sınırlardaydı. Isırılan bölgede 0.3 cm çapında krutlu bir lezyon mevcuttu (Resim 1). Krutun etrafında ortası daha soluk, çevresi hiperemik 6 x 10 cm çapında cilt lezyonu vardı. Laboratuvar incelemelerinde; eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) 30 mm/saat, C-reaktif protein (CRP) 26 mg/dL (0-5 mg/dL) olarak saptanırken, diğer tetkikler normal olarak bulundu. Hastanın epidemiyolojik öyküsü ve lezyonun EKM'ye benzerliği nedeniyle Lyme hastalığı düşünülerek ELISA yöntemiyle *B. burgdorferi* IgM ve IgG (Euroimmun Lübeck, Germany) antikorları araştırıldı. Erken dönemde antikor negatifliği bilindiğinden hastadan deri biyopsisi alınırken tedavi için doksisisiklin 2 x 100 mg/gün başlandı. Deri biyopsisinin patolojik incelemesinde vasküler endotel hasarla uyumlu bulgular saptanarak, EKM histopatolojisiyle uygun olduğu rapor edildi. Tedavinin ikinci haftasında lezyon tamamen geriledi ve üçüncü haftada tekrarlanan seroloji



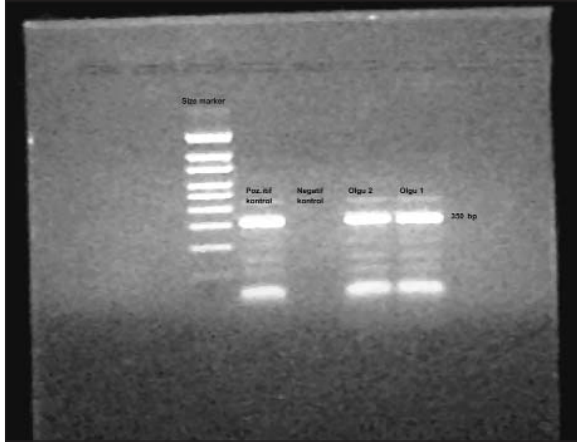
Resim 1. İlk olgunun sağ anterior deltoid bölgesindeki EKM lezyonu.

testleri tekrar negatif olarak saptandı. Hastanın yapılan takiplerinde ek patolojik bulgu tespit edilmedi.

### Olgu 2

Otuz dört yaşında kadın doktor hasta, bir hafta önce Norveç'e yapmış olduğu yurt dışı seyahatinden üç gün sonra sağ tibia ön yüzünde, ortası soluk etrafı hiperemik bir döküntü başladığını ifade ederek infeksiyon kliniğine başvurdu. Genel durumu iyi olan hastanın herhangi bir ek şikayeti yoktu. Laboratuvar incelemelerinde; ESH 25 mm/saat, CRP 14 mg/dL (0-5 mg/dL) bulunurken, diğer tetkikler normal sınırlarda saptandı. Hastanın *B. burgdorferi* IgM ve IgG antikorları negatif olarak bulundu. İki haftalık doksisisiklin tedavisi ile bulguları gerileyen hastanın dördüncü haftasında tekrarlanan serolojisi tekrar negatif saptandı.

Hastalardan alınan deri biyopsi örneklerinde *B. burgdorferi sensu lato*'nun dış yüzey protein A'sına (OspA) yönelik semi-nested PCR testi pozitif bulundu (Resim 2).



Resim 2. *Borrelia burgdorferi sensu lato* PCR.

## TARTIŞMA

Lyme hastalığı bir spiroket olan *B. burgdorferi*'nin etken olduğu ve *Ixodes* cinsi kenelerin vektörlük ettiği bir hastalıktır. Hastalığın üç klinik evresi vardır: Evre I asemptomatik geçirilen ve seropozitifliğe neden olan sessiz dönem, ardından gelişen evredir. Evre II spiroketemi dönemidir. Evre III immün yanıt aracılığıyla oluşan organ hasar dönemidir. Erken yayılım evresinde, nörolojik, kardiyak ve romatolojik tutulum görülebilir. Bu evrede %15-20 oranında menenjit, meningoensefalit, kraniyal nöropati ve radikülönörit tabloya eşlik eder. Ayrıca ense, baldır, uyluk kasları ve sırt bölgesinde derin ağrılar hissedilebilir<sup>[1]</sup>.

Lyme hastalığında, *B. burgdorferi* ile infekte kenenin ısırması sonucu olguların yaklaşık %90'ında bir ile dört hafta içinde kenenin ısırma yerinde ortası soluk etrafı hiperemik tipik bir deri bulgusu ortaya çıkar<sup>[2]</sup>. Tanının özgüllüğünü artırmak için "Centers for Disease Control and Prevention (CDC)" lezyonunun çapının en az 5 cm olması gerektiğini vurgulamıştır<sup>[3]</sup>. EKM çoğunlukla yüzeyden kabarıklık, basmakla solan, soyulma ve veziküller karakter göstermeyen önce ısırık bölgesinde papül veya makül tarzında başlayarak günler ve haftalar içerisinde santral ve periferik soluklaşma ile seyreden bir deri lezyonudur<sup>[4,5]</sup>. EKM'ye en sık eşlik eden semptom ve bulgular lokal lenfadenopati (%23-41), ateş (%14-31) ve boyun fleksiyonunda ağrı (%5-20)'dir<sup>[6,7]</sup>. Herpes virüs infeksiyonları, selülit, staz dermatiti, böcek ısırılmalarına bağlı aşırı duyarlılık reaksiyonları ve mantar infeksiyonları ayrırici tanıda düşünülmelidir.

Lyme hastalığının laboratuvar tanısı kültür, seroloji ve PCR tekniği ile yapılmaktadır. Serolojik yöntem, en sık kullanılan tetkik olmasına karşın, hastalığın erken evresinde duyarlılığının düşük olması, diğer otoimmün ve mikrobiyal hastalıklarla çapraz reaksiyon vermesi ve geçirilmiş infeksiyonu aktif infeksiyondan ayırt edememesi nedeniyle sorunludur<sup>[8]</sup>. Bu nedenle klinikte serolojik tanıya sıklıkla başvurulmasına karşın, ELISA ile *Borrelia* IgM ve IgG ayırımı yapmak amacıyla belirli bir standart geliştirilememiştir<sup>[9]</sup>. Erken Lyme hastalığı olarak da adlandırılan EKM'de genellikle serolojik tanı atipik olgularda kullanılmaktadır. Ancak bunun yanı sıra olguların birçoğunda bu dönemde seroloji negatif olarak bulunmakta, genellikle iki hafta sonraki iyileşme döneminde antikorlar pozitifleşmektedir. Erken antibiyotik tedavisi ile seronegatif hastalarda serokonversiyon bazen gelişmemektedir. Yapılan çalışmalarda seropozitiflik oranı erken ve geç EKM dönemlerinde sırasıyla < %50 ve ~%75 (%21-86) oranında saptanmıştır<sup>[10]</sup>. Kültür ise pahalı, uygulanması zor ve zaman alıcı olduğundan tercih edilmemektedir. Bu nedenlerden dolayı; Lyme hastalığının erken tanısında semi-nested PCR ve PCR bazlı çeşitli yöntemler birçok çalışmada başarılı bir şekilde kullanılmıştır<sup>[10-13]</sup>.

EKM'li hastaların beyin omurilik sıvısı (BOS), sinoviyal sıvı, idrar ve özellikle deri biyopsisi örneklerinde *B. burgdorferi sensu lato* DNA'sı hastalığın erken deri fazında hassas yöntem olan PCR ile hızlı bir şekilde tayin edilebilmektedir<sup>[11,14-16]</sup>.

Her iki hastanın da Lyme hastalığı tanısı klinik olarak EKM ile konulmuştur. Erken ve iyileşme dönemlerinde seropozitiflik saptanmamıştır. İyileşme dönemindeki seronegatifliğin erken dönemde kullanılan antibiyotiklere bağlı olabileceği düşünülmüştür. Kesin tanı her iki olguda da PCR ile konulmuştur.

Sonuç olarak; Lyme hastalığı erken evresinde tanı tipik deri lezyonu olan EKM ile konulmaktadır. Kesin tanı ise bu dönemde serolojik testler genellikle negatif saptandığı için moleküler yöntemlerle (PCR) konulmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Speelman P, de Jongh BM, Wolfs TF, Wittenberg J. Guideline 'Lyme borreliosis'. *Ned Tijdschr Geneesk* 2004;148:659-63.
2. Nadelman RB, Wormser GP. Recognition and treatment of erythema migrans: are we off target? *Ann Intern Med* 2002;136:477-9.

3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Lyme disease United States 2003-2005. *MMWR* 2007;56:573-6.
4. İşeri L, Durmaz B. Borrelia ve Lyme hastalığı. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 2000;7.
5. Şen E. Lyme hastalığının mikrobiyolojik tanısı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2006;36:49-54.
6. Nowakowski J, Nadelman RB, Sell R, McKenna D, Cavaliere LF, Holmgren D, et al. Long-term follow-up of patients with culture-confirmed Lyme disease. *Am J Med* 2003;115:91-6.
7. Nadelman RB, Nowakowski J, Forseter G, Goldberg NS, Bittker S, Cooper D, et al. The clinical spectrum of early Lyme borreliosis in patients with culture-confirmed erythema migrans. *Am J Med* 1996;100:502-8.
8. Reed KD. Laboratory testing for Lyme disease: possibilities and practicalities. *J Clin Microbiol* 2002;40:319-24.
9. Robertson J, Guy E, Andrews N, Wilske B, Anda P, Granström M, et al. A European multicenter study of immunoblotting in serodiagnosis of Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol* 2000;38:2097-102.
10. Aguero-Rosenfeld ME, Wang G, Schwartz I, Wormser GP. Diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Microbiol Rev* 2005;8:484-509.
11. Brettschneider S, Bruckbauer H, Klugbauer N, Hofmann H. Diagnostic value of PCR for detection of *Borrelia burgdorferi* in skin biopsy and urine samples from patients with skin borreliosis. *J Clin Microbiol* 1998;36:2658-65.
12. Gooskens J, Templeton KE, Claas EC, van Dam AP. Evaluation of an internally controlled real-time PCR targeting the *ospA* gene for detection of *Borrelia burgdorferi sensu lato* DNA in cerebrospinal fluid. *Clin Microbiol Infect* 2006;12:894-900.
13. Rauter C, Mueller M, Diterich I, Zeller S, Hassler D, Meergans T, et al. Critical evaluation of urine-based PCR assay for diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005;12:910-7.
14. Moter SE, Hofmann H, Wallich R, Simon MM, Kramer MD. Detection of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in lesional skin of patients with erythema migrans and acrodermatitis chronica atrophicans by *ospA* specific PCR. *J Clin Microbiol* 1994;38:2756-9.
15. Busch U, Hizo-Teufel C, Boehmer R, Fingerle V, Nitschko H, Wilske B, et al. Three species of *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii*, and *B. garinii*) identified from cerebrospinal fluid isolates by pulsed-field gel electrophoresis and PCR. *J Clin Microbiol* 1996;34:1072-8.
16. Jaulhac B, Heller R, Limbach FX, Hansmann Y, Lipsker D, Monteil H, et al. Direct molecular typing of *Borrelia burgdorferi sensu lato* species in synovial samples from patients with Lyme arthritis. *J Clin Microbiol* 2000;38:1895-900.

#### Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Uzm. Dr. Ferhat ARSLAN

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi  
İnfeksiyon Hastalıkları ve  
Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
34303 Cerrahpaşa, İstanbul-Türkiye

E-posta: ferhatarslandr@hotmail.com