

ДІАГНОСТИКА СПЕЦИФІЧНИХ АНТИТІЛ ДО КОМПЛЕКСУ *B. BURGdorFERI S. L.* У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЛАЙМ-БОРЕЛІОЗОМ, ПОЄДНАНИМ ІЗ ЕПШТЕЙНА – БАРР ВІРУСНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ

©Т. І. Юзьків

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

РЕЗЮМЕ. Метою дослідження було діагностувати специфічні антитіла класів М і G до антигенів комплексу *B. burgdorferi s. l.* у пацієнтів із Лайм-бореліозом, поєднаним із Епштейна – Барр вірусною інфекцією.

Матеріал і методи. У Центрі із вивчення Лайм-бореліозу та інших інфекцій, що передаються кліщами, при Тернопільському національному медичному університеті імені І. Я. Горбачевського МОЗ України обстежено 106 пацієнтів, мешканців Тернопільської області, віком від 30 до 72 років, які мали клінічні прояви ЛБ і ЕБВІ. Чоловіків було 33 (31,1 %), жінок – 73 (68,9 %). Серед пацієнтів за кількістю переважали жителі міста над мешканцями села – 85 (80,2 %) проти 21 (19,8 %) осіб.

Лабораторно ЛБ підтверджували серологічно, застосовувавши двоетапну схему діагностики (ІФА, імуноблот). Етіологічну структуру ЛБ вивчали за допомогою імуноблоту (лайн-блоту). Специфічні антитіла IgM визначали до OspC *B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii*, *B. garinii* та *B. spielmanii*, VlsE, p41 і p39 – антигенів *B. afzelii*. Специфічні антитіла класу IgG діагностували до VlsE *B. afzelii*, *B. burgdorferi s. s.* та *B. garinii*; ліпідів клітинної мембрани *B. afzelii* та *B. burgdorferi s. s.*; p83 до *B. afzelii*, p41 і p39 – антигенів *B. garinii*; OspC (p25) до *B. garinii*, а також до рекомбінантних високоспецифічних антигенів *B. burgdorferi*: p18, p19, p20, p21 та p58.

За допомогою реакції непрямой імунофлуоресценції (РНІФ), технологія БЮЧИП, у сироватках крові обстежених пацієнтів виявляли специфічні антитіла класів М і G до антигенів ВЕБ. Фази хронічної ЕБВІ (активну чи латентну) діагностували методом ПЛР у режимі реального часу, визначаючи ДНК ВЕБ у крові та слині (в обох чи одному зразку); діапазон визначення (10^3 – 10^7 копій/мл). За відсутності ДНК вірусу в крові чи слині встановлювали латентну фазу цієї недуги.

Результати. ЛБ серологічно, за допомогою двох методів діагностики (ІФА та імуноблот), діагностовано у 52,8 % хворих із клінічними проявами Лайм-бореліозу. Активну фазу Ештейна – Барр вірусної інфекції (ЕБВІ) діагностували у 44,6 % хворих із клінічно та серологічно підтвердженим ЛБ. У хворих із моноінфекцією ЛБ переважали сироваткові анти-IgG до p83 *B. afzelii* та p39 *B. garinii*, $p < 0,05$. У пацієнтів із поєднанням ЛБ і ЕБВІ переважали анти-IgM до p41 і p39 *B. afzelii* та OspC *B. spielmanii*.

Висновки. Визначення специфічних сироваткових IgM і IgG у пацієнтів із Лайм-бореліозом, поєднаним із Епштейна – Барр вірусною інфекцією, мешканців Тернопільської області, проведено вперше і дозволило встановити суттєву різницю вмісту специфічних антитіл класів М і G до різних антигенів різних борелій комплексу *B. burgdorferi s. l.* як в осіб лише з ЛБ, так і в поєднанні з ЕБВІ.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: Лайм-бореліоз; специфічні IgM; IgG; антигени; комплекс *B. burgdorferi s. l.*: *B. burgdorferi s. s.*; *B. afzelii*; *B. garinii* та *B. spielmanii*; ІФА; імуноблот; ЕБВІ; мультиплексна непрямая імунофлуоресценція; технологія БЮЧИП; полімеразна ланцюгова реакція.

Вступ. Лайм-бореліоз (ЛБ, хвороба Лайма) – найпоширеніша інфекція у США та Європі [1], яка передається кліщами. Лише у США щорічно реєструють близько 329 000 хворих [2], у Європі – 232 125 випадків [3].

Збудник ЛБ належить до родини *Spirochaetaceae*, роду *Borrelia*, виду *Borrelia burgdorferi (Bb)*. За відмінностями в нуклеотидній послідовності ДНК натеper визначено 23 генотипи збудників, які належать до комплексу *B. burgdorferi s. l.*, 10 із яких реєструють в Європі [4, 5]. Три генотипи борелій – *B. garinii*, *B. afzelii* та *B. burgdorferi sensu stricto (s. s.)* – спричиняють більшість випадків ЛБ в усьому світі. [6].

У Північній Америці ця недуга здебільшого зумовлена *B. burgdorferi s. s.* [5]. Патогенними для людини в Україні, за даними літератури, є *B. burgdorferi s. s.*, *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. spielmanii*, *B. bavariensis*, *B. lusitanae* та *B. valaisiana* [7].

Науковцями встановлено, що *B. burgdorferi s. s.* асоціюється з переважним ураженням опорно-рухової системи, *B. garinii*, *B. bavariensis* та *B. valaisiana* – з ураженням нервової системи, а *B. afzelii* – з ураженнями шкіри [4, 5, 8–11].

Зовнішня оболонка мікробної клітини містить до 30 поверхневих імуногенетичних білків: Osp (outer surface (lipo) proteins) A, OspB, OspC, OspD, OspE, OspF, OspG і т. д. Білки зовнішньої оболонки – основні імуногени. Найбільш варіабельні поверхневі антигени – *B. afzelii* і *B. garinii*. Найменш варіабельні поверхневі антигени у *B. burgdorferi s. s.* [12].

Лабораторна діагностика ЛБ ґрунтується на виявленні як самого збудника недуги (бактеріоскопічний та бактеріологічний методи) чи його ДНК, так і сироваткових антитіл до нього (серологічний) [13].

До серологічних методів ЛБ належать РІФ або ІФА, РЗК, РНГА, ELISA, імуноблот (визначають

специфічні антитіла роздільно до окремих антигенів борелій) [13–15].

На першому етапі серологічного дослідження Лайм-бореліозу використовують імуноферментний аналіз (ІФА). Після отримання позитивного чи проміжного результату на цьому етапі для остаточної верифікації діагнозу цієї недуги використовують метод імуноблоту [16–18].

Сероконверсія специфічних антитіл класів М та G до *B. burgdorferi s. l.* відбувається від 3 до 6 тижнів. Підвищений рівень специфічних сироваткових антитіл класу М до *B. burgdorferi s. l.* без сероконверсії більше 6 тижнів від моменту появи симптомів чи укусу кліща вважають хибнопозитивним [19, 20].

При проведенні дослідження імуноблотом застосовують набори двох типів – вестерн-блот і лайн-блот [21].

Європейські тест-системи для імуноблоту готують із лізатів спірохет і/або очищених антигенів з різних видів *B. burgdorferi s. l.*: *B. burgdorferi s. s.*, *B. garinii*, *B. afzelii* та *B. spielmanii*. Антигени підбирають залежно від поширення генотипів борелій у регіоні [15, 17].

Специфічні сироваткові антитіла класу IgM найчастіше виявляють до таких антигенів комплексу *B. burgdorferi s. l.*: рекомбінантного VlsE протеїну *B. burgdorferi*, нативних антигенів р41(флагелін) та р39(ВmpA), які належать *B. afzelii* та OspC протеїни, які належать чотирьом видам борелій: *B. afzelii*, *B. burgdorferi s. s.*, *B. garinii* та *B. spielmanii* [22].

Антитіла класу IgG у сироватках крові хворих найчастіше шукають проти таких антигенів комплексу *B. burgdorferi s. l.*: VlsE (ліпопротеїн клітинної стінки) *B. afzelii*, *B. burgdorferi s. s.*, *B. garinii*; ліпідів клітинної мембрани *B. afzelii* та *B. burgdorferi s. s.*; р83 білка, пов'язаного з клітинною стінкою *B. afzelii*, р41 (електрофоретично очищеного нативного флагеліну) та нативного ВmpA (р39) *B. garinii*, а також до високоспецифічного нативного OspC (р25) антигену *B. garinii* та рекомбінантних високоспецифічних антигенів *B. burgdorferi*: р18, р19, р20, р21 та р58. На ранній стадії ЛБ більшість пацієнтів демонструють сильну реактивність IgM з білком OspC. На пізній стадії переважають антитіла класу IgG [23, 24].

За даними ВООЗ, більше 95 % дорослого населення інфіковані вірусом Епштейна – Барр (ВЕБ) [25].

Науковці встановили, що первинне інфікування цим вірусом призводить до його довічної персистенції з можливою періодичною реактивацією. Значне зростання захворюваності на Епштейна – Барр вірусну інфекцію (ЕБВІ) пов'язують не тільки з епідеміологічним поширенням цієї недуги, а й з покращанням методів її діагностики [26].

Натепер для серологічної діагностики ЕБВІ застосовують реакцію непрямой імунофлуоресценції (РНІФ), імуноферментний аналіз (ІФА) і вестерн-блот. Порівняно з іншими методами, РНІФ залишається класичним, високоспецифічним, так званим «золотим стандартом», який дозволяє діагностувати різні фази хронічної EBV-інфекції в одному зразку сироватки крові хворого [27].

Для встановлення активної чи латентної фази хронічної ЕБВІ використовують ПЛР у режимі реального часу, за допомогою якої в плазмі крові та слині обстежених пацієнтів визначають ДНК ЕБВІ.

Мета – діагностувати специфічні антитіла класів М і G до комплексу *B. burgdorferi s. l.* у пацієнтів із Лайм-бореліозом, поєднаним із Епштейна – Барр вірусною інфекцією.

Матеріал і методи дослідження. У Центрі із вивчення Лайм-бореліозу та інших інфекцій, що передаються кліщами, при Тернопільському національному медичному університеті імені І. Я. Горбачевського МОЗ України обстежено 106 пацієнтів, мешканців Тернопільської області, віком від 30 до 72 років, які мали клінічні прояви ЛБ і ЕБВІ. Чоловіків було 33 (31,1 %), жінок – 73 (68,9 %). Серед пацієнтів за кількістю переважали жителі міста над мешканцями села – 85 (80,2 %) проти 21 (19,8 %) особи.

Лабораторно ЛБ підтверджували серологічно за допомогою діагностики специфічних антитіл до антигенів борелій комплексу *B. burgdorferi s. l.* Застосували двоетапну схему серологічної діагностики: скринінгові дослідження сироваток хворих на першому етапі виконували методом ІФА, надалі позитивні і проміжні результати підтверджували методом імуноблоту.

Етіологічну структуру ЛБ вивчали за допомогою імуноблоту (лайн-блоту) шляхом виявлення специфічних антитіл класу М і G до *B. burgdorferi s. l.* у сироватці крові пацієнтів. Специфічні антитіла IgM визначали до імуногенного зовнішнього (поверхневого) білка OspC чотирьох видів спірохет комплексу *B. burgdorferi s. l.*: *B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii*, *B. garinii* та *B. spielmanii*, VlsE (рекомбінантного високоспецифічного антигену *B. burgdorferi*) та р41 р39 – нативних антигенів *B. afzelii*.

Специфічні антитіла класу IgG у сироватках крові хворих діагностували до VlsE (рекомбінантного високоспецифічного антигену) трьох видів борелій (*B. afzelii*, *B. burgdorferi s. s.* та *B. garinii*); ліпідів клітинної мембрани *B. afzelii* та *B. burgdorferi s. s.*; р83 білка, пов'язаного з клітинною стінкою *B. afzelii*, р41 р39 – нативних антигенів *B. garinii*; OspC (р25) до *B. garinii*, а також до рекомбінантних високоспецифічних антигенів *B. burgdorferi*: р18, р19, р20, р21 та р58.

Кров для дослідження у пацієнтів забирали при їх першому звертанні до лікаря. Умовою включення в серологічне дослідження була відсутність прийому імуномодуляторів і вакцинавання впродовж останніх 30 днів перед відбором зразків крові.

За допомогою реакції непрямой імуофлуоресценції (РНІФ), технологія БЮЧИП, у сироватках крові обстежених пацієнтів виявляли специфічні антитіла класів М і G до таких антигенів ВЕБ (раннього, капсидного та його високоспецифічного рекомбінантного білка (р19) і нативного антигену (gp125), а також ядерного, одночасно.

Фази хронічної ЕБВІ (активну чи латентну) діагностували методом ПЛР у режимі реального часу, за допомогою якої в плазмі крові та слині обстежених пацієнтів визначали ДНК ВЕБ. Активну фазу хронічної ЕБВІ діагностували за наявністю ДНК ВЕБ – у крові та слині (в обох чи одному зразку; діапазон визначення – 10^3 – 10^7 копій/мл). За відсутності ДНК вірусу в крові чи слині встановлювали латентну фазу цієї недуги.

Проведені дослідження є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією, шкірними та венеричними хворобами ТНМУ імені І. Я. Горбачевського МОЗ України «Діагностика, лікування і профілактика кліщових інфекцій в умовах війни та вдосконалення заходів біобезпеки» (номер державної реєстрації 0123U101288), яка частково фінансується за кошти МОЗ України.

Результати й обговорення. Аналіз результатів серологічного дослідження сироваток крові 106 хворих на наявність специфічних IgM та IgG до борелій комплексу *B. burgdorferi s. l.* за допомогою методу ІФА показав, що позитивні або проміжні результати наявності специфічних антитіл обох зазначених класів окремо чи одночасно виявлено в 79 (74,5 %) пацієнтів із 106 обстежених. Із них лише IgM виявлено у 20 (25,3 %) хворих, лише IgG – у 20 (25,3 %), імуноглобуліни обох класів одночасно – у 36 (45,6 %) осіб. Проміжні результати лише антитіл класу М діагностовано у 3 (3,8 %) із 79 обстежених хворих (табл. 1).

Таблиця 1. Результати дослідження сироваток крові пацієнтів із клінічною симптоматикою ЛБ методом ІФА на наявність специфічних антитіл класів М та G до *B. burgdorferi s. l.*, n=106

Результат		Пацієнти	
IgM	IgG	абс. число	%
Позитивний	Позитивний	36	23,6
Позитивний	Негативний	20	19,8
Проміжний	Позитивний	10	11,3
Позитивний	Проміжний	0	5,7
Проміжний	Проміжний	0	2,8
Негативний	Позитивний	10	9,4
Проміжний	Негативний	3	7,6
Негативний	Проміжний	–	–
Негативний	Негативний	27	19,8
Разом		106	100,0

У подальшому сироватки 79 (74,5 %) хворих з позитивними або проміжними результатами виявлення специфічних IgM і/або IgG до *B. burgdorferi s. l.* досліджували методом імуоблоту. Встановлено, що лише позитивні антитіла до комплексу *B. burgdorferi s. l.* діагностовано в сироватці крові 76 (71,7 %) обстежених: антитіла лише класу М до антигенів *B. burgdorferi s. l.* виявлено у 20 (26,3 %) хворих, лише IgG – у 20 (26,3 %), імуноглобуліни обох класів одночасно – у 36 (47,4 %) осіб (рис. 1).

При ретельному аналізі результатів серологічного дослідження з'ясовано, що в 20 обстежених пацієнтів, у яких виявлено специфічні сироваткові антитіла лише класу М до *B. burgdorferi s. l.*, протягом 6-місячного спостереження сероконверсії не відбулося – специфічні IgM не зникли, а специфічні IgG до цих борелій не з'явилися, що зага-

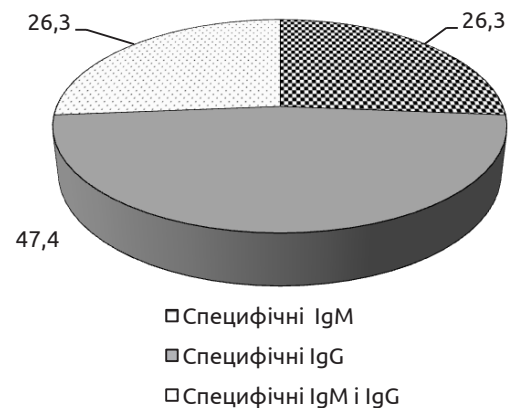


Рис. 1. Результати дослідження сироваток крові пацієнтів із ЛБ на наявність IgM та IgG до комплексу *B. burgdorferi s. l.*, імуоблот, n=76, %.

лом можна трактувати як хибнопозитивний результат.

Отже, серологічно діагноз ЛБ підтверджено у 56 (52,8 %) із 106 обстежених пацієнтів.

Установлено, що серед зазначених 56 осіб, у 25 (44,6 %) хворих діагностовано активну фазу Епштейна – Барр вірусної інфекції (ЕБВІ). Відповідно до цього хворих поділили на дві групи: 31 хворий (група 1) – пацієнти лише із ЛБ, 25 (група 2) – особи з ЛБ, поєднаним із ЕБВІ.

В подальшому етіологічну структуру ЛБ визначали лише у 36 хворих обох груп (особи, в яких одночасно діагностували позитивні результати IgM і IgG) із 56 пацієнтів, в яких серологічно підтверджено ЛБ.

Відповідно до чого, в групу 1 (пацієнти лише із ЛБ) ввійшли 19 пацієнтів, в групу 2 (хворі із ЛБ+ЕБВІ) – 17 осіб.

З'ясовано частоту виявлення антитіл класу IgM до антигенів 4 видів борелій окремо в пацієнтів обох груп. Антитіла цього класу до OspC *B. spielmanii* знайдено в сироватках крові 6 (31,6 %) із 19 осіб лише із ЛБ (група 1) і 14 (82,4 %) із 17 об-

стежених групи 2 (ЛБ+ЕБВІ), до OspC *B. garinii* – відповідно у 13 (68,4 %) і 9 (52,9%), до OspC *B. burgdorferi s. s.* – відповідно у 14 (73,7 %) і 8 (47,1 %), до OspC *B. afzelii* – у 15 (78,9 %) і 7 (41,2 %) пацієнтів відповідно (рис. 1). Установлено, що сироваткові анти-IgM до OspC *B. spielmanii* частіше знаходили у хворих лише на ЛБ, ніж у групі з ЛБ, поєднаним з ЕБВІ, – у 82,4 проти 31,6 % осіб, $p < 0,05$. Достовірної різниці щодо діагностики специфічних IgM до OspC *B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii* і *B. garinii* у сироватці крові пацієнтів обох груп нами не встановлено ($p > 0,05$).

У сироватках крові обстежених пацієнтів також визначали антитіла класу IgM до антигенів р41 (очищений нативний флагелін, р41) *B. afzelii* і р39 (нативний VmpA (р39) *B. afzelii* і до VlsE *B. Burgdorferi*. З'ясовано, що антитіла IgM до антигенів р39 і р41 достовірно переважали в сироватці крові хворих із ЛБ, поєднаним з ЕБВІ, порівняно із пацієнтами групи лише із ЛБ (9; 52,9 % проти 2; 10,5 %, $p < 0,05$) і (11; 64,7 % проти 5; 26,3 %, $p < 0,05$). Сироваткові анти-IgM до VlsE не виявлені у жодного пацієнта з обстежених двох груп (рис. 2).

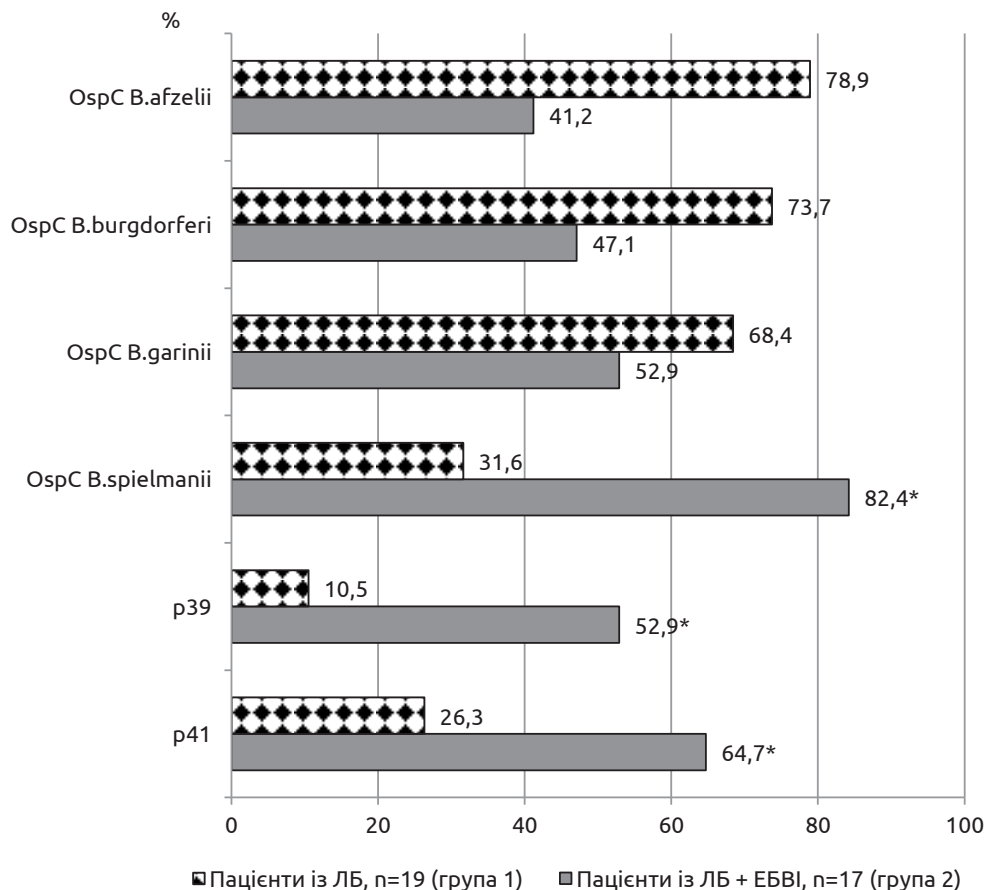


Рис. 2. Вміст специфічних антитіл класу М до деяких антигенів комплексу *B. burgdorferi s. s.* у пацієнтів з ЛБ і ЛБ, поєднаним з вірусом Епштейна – Барр.

Примітка. * – різниця достовірна щодо вмісту IgM до різних антигенів борелій між хворими двох груп: з ЛБ + ЕБВІ і ЛБ, $n=36$ ($p < 0,05$).

У сироватках крові пацієнтів зазначених груп визначали специфічні антитіла класу IgG до рекомбінантного високоочищеного антигену VlsE (variable like sequence expressed) роздільно до трьох борелій комплексу *B. burgdorferi s. l.* Специфічні антитіла цього класу до VlsE *B. afzelii* (VlsE Ba) знайдено в сироватках крові 11 (57,9 %) осіб групи 1 (ЛБ) і 12 (70,6 %) – групи 2 (ЛБ+ЕБВІ); до VlsE *B. burgdorferi s. s.* (VlsE Bb) – відповідно у 14 (73,7 %) і 9 (52,9 %) пацієнтів; до VlsE *B. garinii* (VlsE Bg) – у 10 (52,6 %) і 9 (52,9 %) осіб відповідно (табл. 2). Таким чином, серед хворих із ЛБ (група 1) та поєднаною патологією ЛБ і ЕБВІ (група 2) достовірної різниці щодо діагностики специфічних IgG в сироватці крові до VlsE *B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii* і *B. garinii* нами не встановлено ($p > 0,05$).

У сироватках крові обстежених пацієнтів обох груп також визначали наявність специфічних антитіл класу IgG до р83 Ba, р39 Bg і р41 Bg антигенів. Достовірної різниці щодо діагностики специфічних антитіл цього класу до р41 у пацієнтів обох груп нами не встановлено (19; 100,0 % проти 16; 94,1 %, $p > 0,05$), тоді як, специфічні антитіла цього класу до р83 Ba, р39 Bg достовірно переважали у хворих групи 1 (ЛБ), порівняно із пацієнтами групи 2 (ЛБ+ЕБВІ): (9; 47,4 % проти 4; 23,5 %, $p < 0,05$) і (12; 63,2 % проти 5; 29,4 %, $p < 0,05$) (табл. 2).

Таблиця 2. Частота виявлення IgG (позитивні результати) до різних антигенів у сироватках крові пацієнтів із ЛБ і ЛБ + ЕБВІ, EUROLINE *Borrelia* RN-AT (n = 36), %

Антигени	ЛБ (група 1) (n=19)		ЛБ + ЕБВІ (група 2) (n=17)		Разом (n=36)	
	n	%	n	%	n	%
VlsE Ba: рекомбінантний високоочищений антиген VlsE <i>Borrelia afzelii</i>	11	57,9	12	70,6	23	63,9
VlsE Bb: рекомбінантний високоочищений антиген VlsE <i>Borrelia burgdorferi</i>	14	73,7	9	52,9	23	63,9
VlsE Bg: рекомбінантний високоочищений антиген VlsE <i>Borrelia garinii</i>	10	52,6	9	52,9	19	52,8
LBa: ліпід <i>B. afzelii</i>	2	10,5*	0	0	2	5,6
LBb: ліпід <i>B. burgdorferi s. s.</i>	1	5,3*	0	0	1	2,8
p83 Ba: білок мембранних везикул <i>B. afzelii</i>	9	47,4*	4	23,5	13	36,1
p39 Bg: нативний VmpA <i>Borrelia garinii. garinii</i>	12	63,2*	5	29,4	17	47,2
p41 Bg: нативний флагелін <i>Borrelia garinii. garinii</i>	19	100,0	16	94,1	35	97,2

Примітка.* – різниця достовірна щодо вмісту IgG до різних антигенів борелій між хворими двох груп: ЛБ і ЛБ+ЕБВІ ($p < 0,05$).

Окрім цього, як видно із табл.2, специфічні імуноглобуліни класу G до ліпідів *Borrelia afzelii* (Ba) та *Borrelia burgdorferi* (Bb), діагностовано лише у хворих із моноінфекцією (ЛБ), $p < 0,05$.

Висновки. 1. ЛБ серологічно, за допомогою двох методів діагностики (ІФА та імуноблот) знайдено у сироватці крові 56 (52,8 %) із 106 обстежених хворих із клінічними проявами Лайм-бореліозу.

2. Активну фазу Ештейна – Барр вірусної інфекції верифікували у 25 (44,6 %) із 56 хворих із клінічними ознаками Лайм-бореліозу та серологічно підтвердженою цією інфекцією.

3. Сироваткові анти-IgM до р41 і р39 *B. afzelii* достовірно переважали в крові пацієнтів із поєднаною патологією: ЛБ і ЕБВІ, порівняно із пацієнтами лише із ЛБ: (52,9 % проти 10,5 %, $p < 0,05$) і (64,7 % проти 26,3 %, $p < 0,05$).

4. Метод імуноблоту також дозволив встановити, що у хворих із ЛБ+ЕБВІ переважали специ-

фічні антитіла класу M до OspC *B. spelmanii*, порівняно із обстеженими, хворими лише на ЛБ: 82,4 % проти 31,2 % осіб, $p < 0,05$.

5. Сироваткові анти-IgG до *B. garinii* та *B. afzelii* і до *B. burgdorferi s. s.* (метод імуноблоту) з однаковою частотою діагностували в сироватці крові хворих обох груп, $p > 0,05$.

6. У хворих із моноінфекцією ЛБ переважали сироваткові антитіла класу G (метод імуноблоту) до р83 *B. afzelii* та р39 *B. garinii*, порівняно із пацієнтами із ЛБ, поєднаним із ЕБВІ: 47,4 % проти 23,5 % і 63,2 % проти 29,4 %, $p < 0,05$.

7. Визначення специфічних сироваткових IgM і IgG у пацієнтів із ЛБ і ЛБ, поєднаним із ЕБВІ, мешканців Тернопільщини проведено вперше.

Перспективи подальших досліджень полягають у з'ясуванні етіологічної структури Лайм-бореліозу за частотою виявлення специфічних сироваткових антитіл у пацієнтів із ЛБ, поєднаним із лямбліозом і ЕБВІ одночасно.

ЛІТЕРАТУРА

1. Chomel B. Lyme disease / B. Chomel // *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*. – 2015. – Vol. 34, No. 2. – P. 569–576. DOI : 10.20506/rst.34.2.2380.
2. Incidence of Clinician-Diagnosed Lyme Disease, United States, 2005–2010 / A. N. Christina, S. Saha, K. J. Kugeler [et al.] // *Emerging Infectious Diseases*. – 2015. – Vol. 21, No. 9. – P. 1625–1631. DOI : 10.3201/eid2109.150417.
3. Sykes R. A. An estimate of Lyme borreliosis incidence in Western Europe / R. A. Sykes, P. Makiello // *Journal of Public Health*. – 2016. – P. fdw017. DOI : 10.1093/pubmed/fdw017.
4. Trevisan G. Borrelia Lyme Group / G. Trevisan, M. Cinco // *Journal of Dermatology Research Reviews & Reports*. – 2022. – P. 1–12. DOI : 10.47363/jdmrs/2022(3)142.
5. Trevisan Giusto Borreliae Part 1: Borrelia Lyme Group and Echidna-Reptile Group / Giusto Trevisan // *Biology*. – 2021. – Vol. 10, No. 10. – P. 1036. DOI : 10.3390/biology10101036.
6. Epidemiology of Lyme Disease in a Highly Endemic European Zone / A. Petrulionienė, D. Radzišauskienė, A. Ambrozaitis [et al.] // *Medicina*. – 2020. – Vol. 56, No. 3. – P. 115. DOI : 10.3390/medicina56030115.
7. Небогаткін І. В. Епідеміологічні й епізоотичні особливості хвороби Лайма у 2019 році в Україні / І. В. Небогаткін, А. М. Шульган // *Актуальна інфектологія*. – 2020. – Т. 8, № 5/6. С. 57–61.
8. Phylogenomic Identification of Regulatory Sequences in Bacteria: an Analysis of Statistical Power and an Application to *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato / C. L. Martin, T. Y. Sukarna, S. Akther [et al.] // *mBio*. – 2015. – Vol. 6, No. 2. DOI : 10.1128/mbio.00011-15.
9. Imbalanced presence of *Borrelia burgdorferi* s.l. multilocus sequence types in clinical manifestations of Lyme borreliosis / E. C. Coipan, S. Jahfari, M. Fonville [et al.] // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2016. – Vol. 42. – P. 66–76. DOI : 10.1016/j.meegid.2016.04.019.
10. Control of Lyme borreliosis and other Ixodes ricinus-borne diseases / H. Sprong, T. Azagi, D. Hoornstra [et al.] // *Parasites & Vectors*. – 2018. – Vol. 11, No. 1. DOI : 10.1186/s13071-018-2744-5.
11. Image Gallery: Primary cutaneous chest-wall osteosarcoma, an extraordinary entity / J. Ocampo-Candiani, S. S. Ocampo-Garza, R. Franco-Márquez [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2019. – Vol. 180, No. 4. DOI : 10.1111/bjd.17458.
12. Попович О. О. Лайм-бореліоз: сучасна проблема інфектології (клінічна лекція) / О. О. Попович // *Актуальна інфектологія*. – 2016. – Т. 3, № 12. – С. 114–122.
13. Лайм-бореліоз : монографія / М. А. Андрейчин, М. М. Корда, М. І. Шкільна, О. Л Івахів та ін.: за ред. М. А. Андрейчина та М. М. Корди. – Тернопіль : ТНМУ, 2021. – 376 с.
14. Hauser U. Modified interpretation criteria significantly improve performance of commercially available confirmatory assays for the serodiagnosis of Lyme borreliosis: a case-control study with clinically defined serum samples / U. Hauser // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. – 2019. – Vol. 38, No. 3. – P. 529–539. DOI : 10.1007/s10096-018-03455-1.
15. A Community Study of *Borrelia burgdorferi* Antibodies among Individuals with Prior Lyme Disease in Endemic Areas / B. Strobino, K. Steinhagen, W. Meyer [et al.] // *Healthcare*. – 2018. – Vol. 6, No. 2. – P. 69. DOI : 10.3390/healthcare6020069.
16. The diagnostic accuracy of serological tests for Lyme borreliosis in Europe: a systematic review and meta-analysis / M. M. Leeflang, C. W. Ang, J. Berkhout [et al.] // *BMC Infectious Diseases*. – 2016. – Vol. 16, No. 1. DOI : 10.1186/s12879-016-1468-4.
17. Review of European and American guidelines for the diagnosis of Lyme borreliosis / C. Eldin, A. Raffetin, K. Bouillier [et al.] // *Médecine et Maladies Infectieuses*. – 2019. – Vol. 49, No. 2. – P. 121–132. DOI : 10.1016/j.medmal.2018.11.011.
18. Hachette T. Modified two-tiered testing algorithm for Lyme disease serology: the Canadian context / T. Hachette, R. Lindsay // *Canada Communicable Disease Report*. – 2020. – Vol. 46, No. 5. – P. 125–131. DOI : 10.14745/ccdr.v46i05a05.
19. Hillerdal H. Serodiagnosis of Lyme borreliosis—is IgM in serum more harmful than helpful? / H. Hillerdal, A. J. Henningson // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. – 2021. DOI : 10.1007/s10096-020-04093-2.
20. Persistent Anti-Borrelia IgM Antibodies without Lyme Borreliosis in the Clinical and Immunological Context / M. Markowicz, M. Reiter, J. Gamper [et al.] // *Microbiology Spectrum*. – 2021. – Vol. 9, No. 3 DOI : 10.1128/spectrum.01020-21.
21. Gwozdz T. Western Blot / Tomasz Gwozdz, Karel Dorey // *Basic Science Methods for Clinical Researchers*. – 2017. – P. 99–117. DOI : 10.1016/b978-0-12-803077-6.00006-0.
22. Набір реагентів для визначення антитіл людини класу М до антигенів *Borrelia burgdorferi* s.l. (OspC Bsp., OspC Bg, OspC Bb, OspC Ba, p39, p41 та VlsE Bb) в сироватці крові методом імуноблотингу EUROLINE *Borrelia* RN-AT adv. (к. номер: DN 2131-3201-2 M). URL: http://shop.tinyteria.com/index.php?route=extension/module/free_downloads/download&did=248 (дата звернення 04.03.2024).
23. Набір реагентів для визначення антитіл класу G до антигенів *Borrelia burgdorferi* s.l. (p18, p19, p20, p21, p58, OspC (p25), p39, p83, p41, LBb, LBa, VlsE Bg, VlsE Bb та VlsE Ba) методом імуноблотингу Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT IgG (к. номер: DN 2131-24001 G). URL: http://shop.tinyteria.com/index.php?route=extension/module/free_downloads/download&did=247 (дата звернення 04.03.2024).
24. Pedrycz-Wieczorska A. Analysis of the methods for diagnosing Borreliosis – Lyme disease / A. Pedrycz-Wieczorska // *Health Problems of Civilization*. – 2017. – Vol. 2. – P. 80–86. DOI : 10.5114/hpc.2017.69022.
25. Damania B. Epstein-Barr virus: Biology and clinical disease / B. Damania, Shannon C. Kenney, N. Raab-Traub // *Cell*. – 2022 DOI : 10.1016/j.cell.2022.08.026.
26. Клінічні форми хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції: питання сучасної діагностики та лікування / О. К. Дуда [та ін.] // *Актуальна інфектологія*. – 2015. – Т. 1, № 6. – С. 15–20.
27. Multiparametric Detection of Antibodies against Different EBV Antigens to Predict Risk for Nasopharyngeal Carcinoma in a High-Risk Population of China / H. Chen, S. Chen1, J. Lu [et al.] // *Cancer Prevention Research*. – 2016. – Vol. 10, No. 9. – P. canprevres.0035. DOI : 10.1158/1940-6207.CAPR-17-0035.

REFERENCES

1. Chomel, B. (2015). Lyme disease. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*, 34(2), 569-576. DOI: 10.20506/rst.34.2.2380.
2. Nelson, C.A., Saha, S., Kugeler, K.J., Delorey, M.J., Shankar, M.B., Hinckley, A.F., & Mead, P.S. (2015). Incidence of Clinician-Diagnosed Lyme Disease, United States, 2005–2010. *Emerging Infectious Diseases*, 21(9), 1625–1631. DOI: 10.3201/eid2109.150417.
3. Sykes, R.A., & Makiello, P. (2016). An estimate of Lyme borreliosis incidence in Western Europe. *Journal of Public Health*, fdw017. DOI: 10.1093/pubmed/fdw017.
4. Trevisan, G., & Cinco, M. (2022). Borrelia Lyme Group. *Journal of Dermatology Research Reviews & Reports*, 1-12. DOI: 10.47363/jdmrs/2022(3)142.
5. Trevisan, G., Cinco, M., Trevisini, S., di Meo, N., Chersi, K., Ruscio, M., Forgione, P., & Bonin, S. (2021). Borreliae Part 1: Borrelia Lyme Group and Echidna-Reptile Group. *Biology*, 10(10), 1036. DOI: 10.3390/biology10101036.
6. Petrulionienė, A., Radzišauskienė, D., Ambrozaitis, A., Čaplinskas, S., Paulauskas, A., & Venalis, A. (2020). Epidemiology of Lyme Disease in a Highly Endemic European Zone. *Medicina*, 56(3), 115. DOI: 10.3390/medicina56030115.
7. Nebogatkin, I.V., & Shulgan, A.M. (2020). Epidemiologichni y epizootychni osoblyvosti khvoroby Layma u 2019 rotsi v Ukraini [Epidemiological and epizootic features of Lyme disease in 2019 in Ukraine]. *Aktualna infektologiya – Actual infectology*, 8(5-6), 44-48 [in Ukrainian].
8. Martin, C.I., Sukarna, T. Y., Akther, S., Ramrattan, G., Pagan, P., Di, L., Mongodin, E.F., Fraser, C.M., Schutzer, S.E., Luft, B.J., Casjens, S.R., & Qiu, W.-G. (2015). Phylogenomic Identification of Regulatory Sequences in Bacteria: an Analysis of Statistical Power and an Application to Borrelia burgdorferi Sensu Lato. *mBio*, 6(2). DOI: 10.1128/mbio.00011-15.
9. Coipan, E.C., Jahfari, S., Fonville, M., Oei, G.A., Spanjaard, L., Takumi, K., Hovius, J.W. R., & Sprong, H. (2016). Imbalanced presence of Borrelia burgdorferi s.l. multilocus sequence types in clinical manifestations of Lyme borreliosis. *Infection, Genetics and Evolution*, 42, 66-76. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.04.019.
10. Sprong, H., Azagi, T., Hoornstra, D., Nijhof, A.M., Knorr, S., Baarsma, M.E., & Hovius, J.W. (2018). Control of Lyme borreliosis and other Ixodes ricinus-borne diseases. *Parasites & Vectors*, 11(1). DOI: 10.1186/s13071-018-2744-5.
11. Ocampo-Candiani, J., Ocampo-Garza, S.S., Franco-Márquez, R., Villarreal-Villarreal, C.D., Villarreal-Salinas, D.L., García-Lozano, J.A., & Álvarez-Cano, A. (2019). Image Gallery: Primary cutaneous chest-wall osteosarcoma, an extraordinary entity. *British Journal of Dermatology*, 180(4). DOI: 10.1111/bjd.17458
12. Popovych, O.O. (2016). Laym-borelioz: suchasna problema infektolohiyi (klinichna lektsiya) [Lyme borreliosis: a modern problem of infectology (clinical lecture)]. *Aktualna infektologiya – Actual infectology*, (3), 114-122 [in Ukrainian].
13. Andreychyn, M.A., Korda, M.M., Shkilna, M.I., Ivakhiv, O.L., Andreychyn, S.M., Bilkevych, N.A., ... & Yuskevych, V.V. (2021). *Laym-borelioz : monohrafiya – Lyme-borreliosis: monograph*. Ternopil: TNMU [in Ukrainian].
14. Hauser, U. (2019). Modified interpretation criteria significantly improve performance of commercially available confirmatory assays for the serodiagnosis of Lyme borreliosis: a case-control study with clinically defined serum samples. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 38(3), 529-539. DOI: 10.1007/s10096-018-03455-1.
15. Strobino, B., Steinhagen, K., Meyer, W., Scheper, T., Saschenbrecker, S., Schlumberger, W., Stöcker, W., Gaito, A., & Fallon, B. (2018). A Community Study of Borrelia burgdorferi Antibodies among Individuals with Prior Lyme Disease in Endemic Areas. *Healthcare*, 6(2), 69. DOI: 10.3390/healthcare6020069.
16. Leeflang, M.M.G., Ang, C.W., Berkhout, J., Bijlmer, H.A., Van Bortel, W., Brandenburg, A.H., ... Sprong, H. (2016). The diagnostic accuracy of serological tests for Lyme borreliosis in Europe: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*, 16(1). DOI: 10.1186/s12879-016-1468-4.
17. Eldin, C., Raffetin, A., Bouiller, K., Hansmann, Y., Roblot, F., Raoult, D., & Parola, P. (2019). Review of European and American guidelines for the diagnosis of Lyme borreliosis. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 49(2), 121-132. DOI: 10.1016/j.medmal.2018.11.011.
18. Hatchette, T., & Lindsay, R. (2020). Modified two-tiered testing algorithm for Lyme disease serology: the Canadian context. *Canada Communicable Disease Report*, 46(5), 125-131. DOI: 10.14745/ccdr.v46i05a05.
19. Hillerdal, H., & Henningsson, A.J. (2021). Serodiagnosis of Lyme borreliosis—is IgM in serum more harmful than helpful? *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. DOI: 10.1007/s10096-020-04093-2.
20. Markowicz, M., Reiter, M., Gamper, J., Stanek, G., & Stockinger, H. (2021). Persistent Anti-Borrelia IgM Antibodies without Lyme Borreliosis in the Clinical and Immunological Context. *Microbiology Spectrum*, 9(3). DOI: 10.1128/spectrum.01020-21.
21. Gwozdz, T., & Dorey, K. (2017). Western Blot. *Basic Science Methods for Clinical Researchers*. DOI: 10.1016/b978-0-12-803077-6.00006-0.
22. Nabir reahentiv dlya vyznachennya antytil lyudyny klasu M do antyheniv Borrelia burdorferi s.l. (OspC Bsp., OspC Bg, OspC Bb, OspC Ba, p39, p41 ta VlsE Bb) v syrovatitsi krovi metodom immunoblotynhu EUROLINE Borrelia RN-AT adv. (k. nomer: DN 2131-3201-2 M) – Reagent kit for the determination of human class M antibodies to Borrelia burdorferi s.l. antigens (OspC Bsp., OspC Bg, OspC Bb, OspC Ba, p39, p41 and VlsE Bb) in serum by immunoblotting EUROLINE Borrelia RN-AT adv. (Cat. No.: DN 2131-3201-2 M). Retrieved from: http://shop.tinyteria.com/index.php?route=extension/module/free_downloads/download&did=248 (accessed 04.03.2024). [in Ukrainian].
23. Nabir reahentiv dlya vyznachennya antytil klasu G do antyheniv Borrelia burdorferi s.l. (p18, p19, p20, p21, p58, OspC (p25), p39, p83, p41, LBb, LBa, VlsE Bg, VlsE Bb ta VlsE Ba) metodom imunoblotynhu Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT IgG (k. nomer: DN 2131-24001 G) – Reagent kit for the determination of class G antibodies to Borrelia burdorferi s.l. antigens (p18, p19, p20, p21, p58, OspC (p25), p39, p83, p41, LBb, LBa, VlsE Bg, VlsE Bb and VlsE Ba) by immu-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

noblotting Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT IgG (Cat. No.: DN 2131-24001 G). Retrieved from: http://shop.tinyteria.com/index.php?route=extension/module/free_downloads/download&did=247 (accessed 04.03.2024). [in Ukrainian].

24. Pedrycz-Wieczorska, A. (2017). Analysis of the methods for diagnosing borreliosis – Lyme disease. *Health Problems of Civilization*, 2, 80–86. <https://doi.org/10.5114/hpc.2017.69022>.

25. Damania, B., Kenney, S. C., & Raab-Traub, N. (2022). Epstein-Barr virus: Biology and clinical disease. *Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.08.026>

doi.org/10.1016/j.cell.2022.08.026

26. Duda O.K., & Kolesnyk R.O. (2015). Clinical forms of chronic Epstein-Barr virus infection: issues of modern diagnosis and treatment. *Actual infectology*. 1(6), 15-20. [in Ukrainian].

27. Chen, H., Chen, S., Lu, J., Wang, X., Li, J., Li, L., ... & Liu, W. (2017). Multiparametric detection of antibodies against different EBV antigens to predict risk for nasopharyngeal carcinoma in a high-risk population of China. *Cancer prevention research*, 10(9), 542-550.

DIAGNOSIS OF SPECIFIC ANTIBODIES TO THE COMPLEX *B. BURGDORFERI S. L.* IN PATIENTS WITH LYME-BORRELIOSIS COMBINED WITH EPSTEIN – BARR VIRUS INFECTION

©Т. І. Yuzkiv

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

SUMMARY. The aim – to diagnose specific antibodies of class M and G to antigens of the *B. burgdorferi s. l.* complex in patients with Lyme borreliosis combined with Epstein – Barr virus infection.

Material and Methods. At the Center for the Study of Lyme Borreliosis and Other Tick-Transmitted Infections at the I. Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, 106 patients, residents of the Ternopil region, aged 30 to 72 years, with clinical manifestations of LB and EBV were examined. 33 (31.1 %) were men, 73 (68.9 %) were women. Among the patients, urban residents predominated over the countryside – 85 (80.2 %) vs. 21 (19.8 %) people.

Laboratory confirmation of LB was performed serologically using a two-stage diagnostic scheme (ELISA, immunoblot). The etiologic structure of LB was studied by immunoblot (line-blot). Specific IgM antibodies were detected against OspC of *B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii*, *B. garinii* and *B. spielmanii*, VlsE, p41 and p39 – antigens of *B. afzelii*. Specific IgG antibodies were diagnosed to VlsE of *B. afzelii*, *B. burgdorferi s. s.* and *B. garinii*; cell membrane lipids of *B. afzelii* and *B. burgdorferi s. s.*; p83 to *B. afzelii*, p41, and p39 to *B. garinii* antigens; OspC (p25) to *B. garinii*, as well as to recombinant highly specific *B. burgdorferi* antigens: p18, p19, p20, p21, and p58.

Using the multiplex indirect immunofluorescence, BIOCHIP technology, specific antibodies of M and G classes to EBV antigens were detected in the sera of the examined patients. The phases of chronic EBV infection (active or latent) were diagnosed by real-time PCR, determining EBV DNA in blood and saliva (in both or one sample); detection range (10^3 – 10^7 copies/ml).

Results. LB was diagnosed serologically, using ELISA and immunoblot diagnostic methods, in 52.8 % of patients with clinical manifestations of Lyme borreliosis. The active phase of Epstein – Barr virus infection (EBV) was diagnosed in 44.6 % of patients with clinically and serologically confirmed LB. In patients with mono-infection of LB, serum anti-IgG to p83 *B. afzelii* and p39 *B. garinii* prevailed, $p < 0.05$. In patients with a combination of LB and EBV infection, anti-IgM to p41 and p39 of *B. afzelii* and OspC of *B. spielmanii* prevailed.

Conclusions. Determination of specific serum IgM and IgG in patients with Lyme borreliosis combined with Epstein – Barr virus infection, residents of Ternopil region, was carried out for the first time and allowed to establish a significant difference in the content of specific antibodies of class M and G to different antigens to the *B. burgdorferi s. l.* complex in individuals with both LB and EBV separately.

KEY WORDS: Lyme borreliosis; specific IgM; IgG; antigens; *B. burgdorferi s. l.* complex: *B. burgdorferi s.s.*, *B. afzelii*, *B. garinii* and *B. spielmanii*; ELISA; immunoblot; EBV; multiplex indirect immunofluorescence; BIOCHIP technology; polymerase chain reaction.

Отримано 23.04.2024

Електронна адреса для листування: yuzkiv@tdmu.edu.ua