



Л.П. Мельник<sup>1</sup>, Л.А. Грищук<sup>2</sup>, М.І. Шкільна<sup>2</sup>,  
Н.А. Васильєва<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Тернопільський обласний протитуберкульозний диспансер

<sup>2</sup> ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет  
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»

## Двоетапна діагностика Лайм-бореліозу (імуноферментний аналіз, імуноблот) у хворих на туберкульоз легень

**Мета роботи** — вивчити частоту інфікування бореліями у хворих на туберкульоз легень за допомогою двоетапної схеми діагностики (імуноферментний аналіз (ІФА) та імуноблот).

**Матеріали та методи.** Під час скринінгового дослідження Лайм-бореліозу обстежено 99 хворих на туберкульоз легень, яких лікували в стаціонарних умовах Тернопільського обласного протитуберкульозного диспансеру протягом 2015–2017 рр. Використано двоетапну схему діагностики (ІФА та імуноблот). На першому етапі антитіла IgM та/або IgG до комплексу *B. burgdorferi sensu lato* у сироватці крові визначали за методом ІФА. За результатами першого етапу дослідження, зразки крові із сумнівними й позитивними результатами було повторно досліджено за методом імуноблоту.

**Результати та обговорення.** Антитіла хоча б одного класу IgM та/або IgG до комплексу *B. burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi*, *B. afzelii* та *B. garinii*) виявлено у сироватці крові 25,2 % хворих на туберкульоз легень. Дослідження за методом імуноблоту (EUROLINE RN-AT) підтвердило присутність антитіл класу IgM і/чи IgG до антигенів комплексу *B. burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* та *B. garinii*; позитивні або проміжні знахідки) у 19 (76,0 %) із 25 респондентів з позитивними і проміжними результатами за першим етапом дослідження (ІФА).

**Висновки.** Поширеність інфікування бореліями у хворих на туберкульоз легень становила 25,2 % за першим етапом діагностики (ІФА) та 19,2 % — за другим (імуноблот), що вказує на потребу в двоетапній серологічній діагностиці Лайм-бореліозу.

### Ключові слова

Туберкульоз легень, Лайм-бореліоз, *Borrelia burgdorferi*, ІФА, імуноблот, антитіла, антигени.

Туберкульоз (ТБ), за даними ВООЗ, залишається глобальною проблемою людства [6, 11]. За даними авторів, ефективність лікування туберкульозу залежить не лише від адекватності етіотропної та патогенетичної терапії, а й від супутніх захворювань, зокрема й інфекційної етіології [2, 5].

Лайм-бореліоз (ЛБ, системний кліщовий бореліоз, хвороба Лайма, хронічна мігруюча еритема, кліщова еритема) — природно-осередкова трансмісивна хвороба, яку спричинюють борелії (*Borrelia burgdorferi*), виявляється мігруючою кільцеподібною еритемою, гарячкою, ураженням

центральної і периферичної нервової системи, серця й великих суглобів [1, 3, 4, 7–10].

Тернопільська область є ендемічним осередком ЛБ, який спричинюють спірохети комплексу *Borrelia sensu lato*, переноситься кліщами роду *Ixodes*. Епідситуація щодо Лайм-бореліозу в світі та Україні, зокрема, свідчить про щорічне зростання захворюваності [1, 7, 8].

Лабораторна діагностика ЛБ ґрунтується на виявленні як самого збудника (бактеріоскопічний та бактеріологічний методи діагностики) чи його ДНК, так і антитіл до нього (серологічний). Серологічні методи спрямовані на виявлення антитіл до збудника в сироватці крові, у лікворі (інтратекальних) і внутрішньосуглобовій рідині

© Л.П. Мельник, Л.А. Грищук, М.І. Шкільна, Н.А. Васильєва, 2018

за допомогою імунофлюоресцентного або імуноферментного методів, РЗК, РНГА, ELISA, Westernblot (імуноблот) тощо [7, 8].

Відповідно до рекомендацій Центру з контролю та профілактики хвороб США (CDC), затверджено двоетапну схему діагностики ЛБ. На першому етапі за наявності клініко-анамнестичних показань проводять тестування за допомогою ІФА або РНІФ [8, 10]. Зразки крові із сумнівними й позитивними результатами, виявлені під час першого етапу, мають бути підтверджені за методом імуноного блотингу (другий етап). Останній дає змогу виявити низку борелійних антигенів, що характеризуються різною специфічністю, та встановити конкретного збудника [4, 8].

Відсоток позитивних результатів виявлення антитіл до *B. burgdorferi sensu lato* у населення Італії, Словаччини наближається до показників у професійних групах ризику (працівники лісу) [7].

Недостатня поінформованість населення щодо засобів захисту, профілактики та наслідків інфікування бореліями через укуси кліщів [7], поліморфізм клінічної картини ЛБ та зростання частоти безрительних форм [3] дає змогу запідозрити наявність інфікування бореліями пацієнтів протитуберкульозних стаціонарів, особливо в ендемічних щодо ЛБ регіонах. У доступній науковій літературі даних про частоту інфікування бореліями пацієнтів зі згаданою патологією немає.

**Мета роботи** — вивчити частоту інфікування бореліями хворих на туберкульоз легень, використавши двоетапну схему діагностики (ІФА та імуноблот).

## Матеріали та методи

Обстеження проводили в рамках науково-дослідної роботи на тему: «Вивчення епідеміології, патогенезу і клініки Лайм-бореліозу в ендемічних регіонах України, в тому числі в Тернопільській області, та вдосконалення його діагностики, терапії, реабілітаційних заходів і профілактики», яку виконували за рахунок коштів Державного бюджету України. Дослідження проводили на базі лабораторії Центру із вивчення Лайм-бореліозу та інших інфекцій, що передають кліщі, створеного при ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» в липні 2017 р.

Під спостереженням перебували 99 хворих на туберкульоз легень, яких лікували в стаціонарі Тернопільського обласного протитуберкульозного диспансеру протягом 2015–2017 рр. Чоловіків було 77 (77,8 %), жінок — 22 (22,2 %). Вік становив 18–76 років (у середньому  $46,6 \pm 12,9$ ). Переважали мешканці сільської місцевості — 76 (76,8 %).

Діагноз туберкульозу встановлювали на підставі клініко-рентгенологічних, лабораторних та інструментальних даних відповідно до чинного Уніфікованого клінічного протоколу «Туберкульоз» (Наказ МОЗ України № 620 від 04.09.2014). У 65 (65,6 %) випадках діагноз туберкульозу підтверджено виявленням збудника — бактеріологічно (отримано культуру *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) на твердому середовищі Левенштейна—Єнсена) або ДНК у полімеразно-ланцюговій реакції (ПЛР).

Під час скринінгового дослідження Лайм-бореліозу у хворих на туберкульоз легень антитіла до антигенів комплексу *B. burgdorferi sensu lato* у сироватці крові визначали за методом імуноферментного аналізу з використанням тест-систем компанії Euroimmun AG (Німеччина): антитіла класу М — тест-системою Anti-Borrelia burgdorferi ELISA (IgM), імуноглобуліни класу G — Anti-Borrelia plus VlsE ELISA (IgG). Відповідно до рекомендацій виробника, результат  $\geq 22$  RU/ml вважали позитивним, від 16 до 22 — проміжним,  $\leq 16$  — негативним.

Зразки крові із сумнівними й позитивними результатами повторно досліджено за методом імуноного блотингу. Відповідно до рекомендацій виробника, наявність IgM вважали позитивним, проміжним або негативним результатом, залежно від комбінації OspC-антигенів трьох видів борелій (*B. afzelii*, *B. burgdorferi* та *B. garinii*), р39 та VlsEBb; IgG оцінювали як позитивні або негативні, залежно від комбінацій VlsE-антигенів трьох видів борелій (*B. afzelii*, *B. burgdorferi* та *B. garinii*), та інших специфічних антигенів: р18, р19, р20, р21, р58, OspC (р25), р39, р83, LipidBa, Lipid [7, 8].

## Результати та обговорення

Аналіз даних серологічного дослідження сироваток крові на наявність специфічних IgM і IgG виявив позитивні або проміжні результати хоча б одного класу антитіл у 25 (25,2 %) із 99 хворих на туберкульоз, з них IgM — у 28,0 %, IgG — у 60,0 % ( $p < 0,01$ ), обох одночасно — у 12,0 % (табл. 1).

На другому етапі дослідження в осіб з попередньо позитивними або проміжними показниками імуноглобулінів обох класів (за методом ELISA) використовували імуноблот (EUROLINERN-AT) як підтверджувальний тест (табл. 2).

За результатом другого етапу серологічного дослідження (імуноблот) антитіла IgM та IgG до комплексу *B. burgdorferi sensu lato* удалося виявити в сироватці крові 19 (19,2 %) із 99 хворих на туберкульоз. Окрім того, було підтверджено наявність антитіл у 19 (76,0 %) із 25 позитивних результатів за I етапом дослідження.

Таблиця 1. Вміст антитіл класів IgM і IgG (тест ELISA) у сироватці крові хворих на туберкульоз легень

Антитіла проти <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>		Хворі на туберкульоз (n = 99)	
IgM	IgG	n	%
Позитивний	Позитивний	1	1,0
Позитивний	Негативний	4	4,0
Проміжний	Позитивний	1	1,0
Позитивний	Проміжний	0	0,0
Проміжний	Проміжний	1	1,0
Негативний	Позитивний	9	9,1
Проміжний	Негативний	3	3,0
Негативний	Проміжний	6	6,1
Загалом позитивних		25	25,2
Негативний	Негативний	74	74,8
Разом		99	100,0

Слід зазначити, що за результатом першого етапу антитіла обох класів до комплексу *B. burgdorferi sensu lato* частіше визначали у пацієнтів, які не пам'ятали епізодів нападів кліщів, ніж у осіб, які зазнали нападів, — у 16 (34,8 %) та 9 (17,0 %) відповідно ( $p < 0,05$ ), проте без суттєвої різниці за обома методами — 19,6 та 17,0 %.

Антитіла класу IgM до збудників ЛБ підтверджено у 4 (40,0 %) із 10 осіб із попередньо позитивними або проміжними результатами за I етапом (ELISA), де поєднання антитіл до трьох видів борелій (*B. burgdorferi*, *B. garinii* та *B. afzelii*) мали 2 із 4 обстежених. За результатом другого етапу дослідження в етіологічній структурі, визначеній за поверхневим антигеном OspC у складі IgM, антитіла до OspC трьох видів борелій (*B. burgdorferi*, *B. garinii* та *B. afzelii*) знайдено від 50 до 75 % пацієнтів. Слід зазначити, що антитіла до р41 (флагеліну, джугитикового, родоспецифічного антигену з молекулярною масою 41 kDa) виявлено у 75,0 % обстежених, тоді як антитіла до антигену р39 (*Borrelial membrane protein A (BmpA)*, цитоплазматичний білок із молекулярною масою 39 kDa) наявні лише у одного хворого. В етіологічній структурі в складі IgM антитіл до VlsE (*Variable like sequence expressed* рекомбінантний антиген) не виявлено в жодного з обстежених.

У одному випадку із 5 проміжних результатів IgM за ELISA в імуоблоті отримано позитивний результат (рис. 1).

За результатом другого етапу серологічного дослідження ЛБ підтверджено у 15 (83,3%) із

Таблиця 2. Вміст антитіл IgM і IgG до *B. burgdorferi sensu lato* у сироватці крові пацієнтів (тест ELISA та EUROLINE *Borrelia* RN-AT)

ELISA						EUROLINE <i>Borrelia</i> RN-AT											
IgM	IgG	Пам'ятають напади кліщів (n = 53)		Не пам'ятають напади кліщів (n = 46)		Разом (n = 99)	IgM	IgG	Пам'ятають напади кліщів (n = 53)		Не пам'ятають напади кліщів (n = 46)		Разом (n = 99)				
		n	%	n	%				n	%	n	%					
Позитивний	Позитивний	1	1,9	—	—	1	1,0	Позитивний	Позитивний	1	1,9	—	—	1	1,0		
Проміжний	Проміжний	—	—	1	2,2	1	1,0	Негативний	Негативний	—	—	1	2,2	1	1,0		
Позитивний	Негативний	2	3,8	2	4,3	4	4,0	Позитивний	*	1	1,9	—	—	1	1,0		
								Проміжний	*	1	1,9	—	—	1	1,0		
								Негативний	*			2	4,3	2	2,0		
Проміжний	Позитивний	—	—	1	2,2	1	1,0	Позитивний	Позитивний	—	—	—	—	—	—		
								Негативний	Негативний	—	—	1	2,2	1	1,0		
Негативний	Позитивний	2	3,8	7	15,2	9	9,1	*	Позитивний	2	3,8	6	13,0	8	8,1		
								*	Негативний			1	2,2	1	1,0		
Проміжний	Негативний	—	—	3	6,5	3	3,0	Позитивний	*	—	—	1	2,2	1	1,0		
								Негативний	*			2	4,3	2	2,0		
Негативний	Проміжний	4	7,5	2	4,3	6	6,1	*	Позитивний	4	7,5	2	4,3	6	6,1		
								*	Негативний	—	—	—	—	—	—		
Негативний	Негативний	44	83,0	30	65,2	74	74,8	*	*	44	83,0	30	65,2	74	74,8		
Разом		53		100,0		99		Разом		53		100,0		99		100,0	

Примітка. \* Тест не виконували (результат ELISA був негативним).

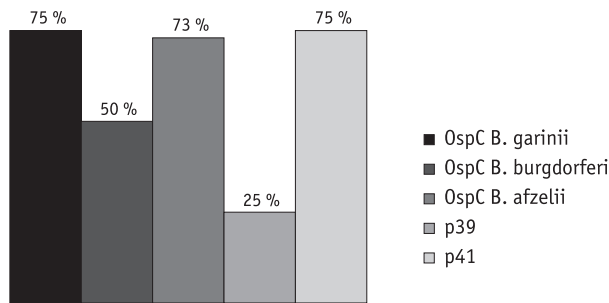


Рис. 1. Вміст антитіл IgM до антигенів трьох видів борелій (*B. burgdorferi*, *B. garinii*, *B. afzelii*) у хворих на туберкульоз за методом імуноблоту, %

18 осіб із попередньо (ELISA) позитивними або проміжними IgG. У 6 (85,7 %) із 7 проміжних результатів IgG за ELISA в імуноблоті отримано позитивні результати. За методом імуноблоту в сироватці хворих на туберкульоз виявлено такий вміст антитіл IgG до антигенів до комплексу *B. burgdorferi sensu lato*: у 83,3 % – антитіла до джгутикового р41, до поверхневого OspC – у 72,2 %, тоді як до імунореактивних ліпідів з цитоплазматичної мембрани *Borrelia* (LipidBb) – лише у 5,5 %. Найчастіше виявляли антитіла до VlsE антигенів *B. burgdorferi* (61,1 %), VlsE *B. garinii* та *B. afzelii* (55,5 та 44,4 % відповідно).

У етіологічній структурі комбінації VlsE-антигенів трьох видів борелій знайдено у 7 (38,9 %) пацієнтів, а поєднання двох збудників – у 2 (11,1 %) (рис. 2).

## Висновки

Під час серологічного дослідження у тесті ELISA антитіла хоча б одного класу IgM і/чи IgG до *B. burgdorferi sensu lato* (позитивні або проміжні результати) виявлено у 25 (25,2 %) із 99 хворих на туберкульоз.

2. Результати дослідження за методом імуноблоту (EUROLINE *Borrelia* RN-AT) підтвердили присутність антитіл класу IgM і/чи IgG до комп-

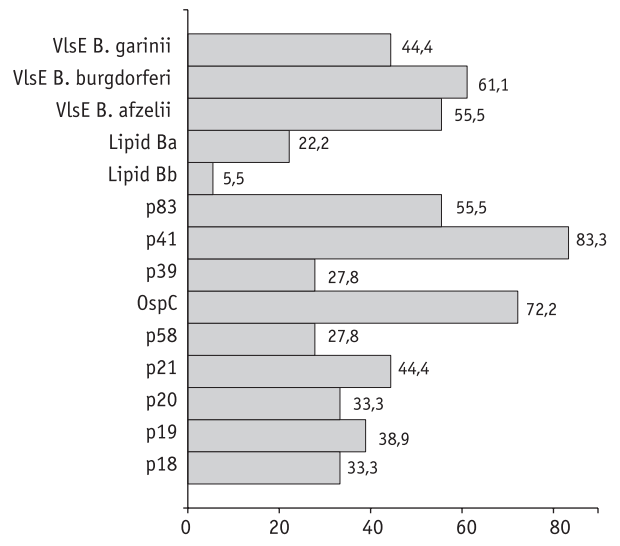


Рис. 2. Вміст антитіл IgG до антигенів трьох видів борелій (*B. burgdorferi*, *B. garinii*, *B. afzelii*) у сироватці крові пацієнтів (за методом імуноблоту), %

лексу *B. burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* та *B. garinii*; позитивні або проміжні знахідки) у 19 (76,0 %) із 25 респондентів з позитивними і проміжними результатами використання імуноферментного методу, що вказує на потребу в двоетапній серологічній діагностиці Лайм-бореліозу.

3. Дослідження за методом імуноблоту (EUROLINE *Borrelia* RN-AT) підтвердило наявність антитіл класу IgM до *B. burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* та *B. garinii*; позитивні або проміжні результати) у 4 (40,0 %) обстежених, IgG (лише позитивні) – у 15 (83,3 %) респондентів із кількості попередньо обстежених за методом ELISA осіб з позитивними і проміжними показниками.

4. Двоетапну діагностику супутнього Лайм-бореліозу (ІФА, імуноблот) у хворих на туберкульоз у Тернопільській області використано вперше.

**Конфлікту інтересів немає. Участь авторів:** концепція та дизайн дослідження – Л.П. Мельник, Л.А. Грищук, М.І. Шкільна, Н.А. Васильєва; збір матеріалу – Л.П. Мельник, М.І. Шкільна; обробка матеріалу, статистичне опрацювання даних, написання тексту – Л.П. Мельник, Л.А. Грищук, М.І. Шкільна, Н.А. Васильєва; редагування тексту – Л.А. Грищук, М.І. Шкільна, Н.А. Васильєва.

## Список літератури

1. Васильєва Н.А. та ін. Хвороба Лайма на Тернопільщині // Інфекційні хвороби. – 2011. – № 2. – С. 50–53.
2. Давис Н.А., Исламова Ж.И., Парпиева Н.Н. и др. Влияние сопутствующих кишечных паразитозов на некоторые показатели иммунного статуса у больных туберкулезом легких // Туберкулез и болезни легких. – 2012. – Т. 89, № 2. – С. 47–50.
3. Задорожна В.І., Руденко А.О., Клюс В.Ю. Лайм-бореліоз – особливо небезпечна інфекція. Загрози та ризики // Вете-

ринарна медицина. – 2017. – № 103. – С. 30–32.

4. Інфекційні хвороби у загальній практиці та сімейній медицині / За ред. М.А. Андрейчина. – Тернопіль: ТДМУ, Укрмедкнига, 2007. – 500 с.
5. Петренко В.І. Сучасний погляд на проблему поєднаної потрійної інфекції: туберкульозу, ВІЛ/СНІДу, гепатитів В і С // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2010. – № 4 (11). – С. 5–12.
6. Фещенко Ю.І., Мельник В.М., Зайков С.В. та ін. Особливості сучасної ситуації з туберкульозу в Україні // Укр. пульмонол. журн. – 2016. – № 1. – С. 5–9.

7. Шкільна М.І. Лайм-бореліоз у працівників лісових господарств Тернопільської області // Інфекційні хвороби.— 2016.— № 1 (83).— С. 36—40.
8. Шкільна М.І., Андрейчин М.А., Корда М.М. та ін. Частота серопозитивних осіб до борелій серед працівників лісових господарств Житомирської, Хмельницької та Волинської областей // Інфекційні хвороби.— 2018.— № 3 (93).— С. 18—25.
9. Buczek A., Rudek A., Bartosik K. et al. Seroepidemiological study of Lyme borreliosis among forestry Workers in southern Poland // Ann. Agric. Environ. Med.— 2009.— Vol. 16.— P. 257—261.
10. CDC. Recommendations for test performance and interpretation from the second national conference on serologic diagnosis of Lyme disease, 1995.
11. World Health Organization, Global Tuberculosis Report 2018: WHO Report 2018, Geneva.— 2018.— 242 p.

Л.П. Мельник<sup>1</sup>, Л.А. Гришук<sup>2</sup>, М.І. Шкільна<sup>2</sup>, Н.А. Васильева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Тернопольский областной противотуберкулезный диспансер

<sup>2</sup>ГБУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗ Украины»

## Двухэтапная диагностика Лайм-боррелиоза (иммуноферментный анализ, иммуноблот) у больных туберкулезом легких

**Цель работы** — изучить частоту инфицирования боррелиями у больных туберкулезом легких при помощи двухэтапной схемы диагностики (иммуноферментный анализ (ИФА) и иммуноблот).

**Материалы и методы.** При скрининговом исследовании Лайм-боррелиоза обследовано 99 больных туберкулезом легких, которых лечили в стационарных условиях Тернопольского областного противотуберкулезного диспансера в 2015—2017 гг. Использовано двухэтапную схему диагностики (ИФА и иммуноблот). На первом этапе антитела IgM и/или IgG к комплексу *B. burgdorferi sensu lato* в сыворотке крови определяли по методу иммуноферментного анализа (ИФА). Согласно результатам первого этапа исследования, образцы крови с сомнительными и положительными результатами были повторно исследованы по методу иммуноблота.

**Результаты и обсуждение.** Антитела хотя бы одного класса IgM и/или IgG к комплексу *B. burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi*, *B. afzelii* и *B. garinii*) в сыворотке крови выявлено у 25,2 % больных туберкулезом легких. Исследование методом иммуноблота (EUROLINE RN-AT) подтвердило присутствие антител класса IgM и/или IgG к антигенам комплекса *B. burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* и *B. garinii*; положительные или промежуточные находки) в 19 (76,0 %) из 25 респондентов с положительными и промежуточными результатами по первому этапу исследования (ИФА).

**Выводы.** Распространенность инфицирования боррелиями у больных туберкулезом легких составляла 25,2 % по первому этапу диагностики (ИФА) и 19,2 % — по второму (иммуноблот), что указывает на необходимость в двухэтапной серологической диагностике Лайм-боррелиоза.

**Ключевые слова:** туберкулез легких, Лайм-боррелиоз, *Borrelia burgdorferi*, ИФА, иммуноблот, антитела, антигены.

L.P. Melnyk<sup>1</sup>, L. A. Hryshchuk<sup>2</sup>, M.I. Shkilna<sup>2</sup>, N.A. Vasylieva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ternopil regional TB dispensary, Ternopil, Ukraine

<sup>2</sup>I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ternopil, Ukraine

## Two-stage diagnostic scheme (enzyme-linked immuno sorbent assay and immunoblot) of Lyme borreliosis among patients with pulmonary tuberculosis

**Objective** — to learn the prevalence of Lyme borreliosis among patients with pulmonary tuberculosis, using a two-stage diagnostic scheme: enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) and immunoblot.

**Materials and methods.** In the screening study of Lyme-borreliosis, 99 patients with pulmonary tuberculosis were examined, which were treated in-patients conditions of the Ternopil region TB dispensary during 2015—2017. A two-stage diagnostic scheme (ELISA and immunoblot) were used. In the first step, the IgM and/or IgG antibodies to the *B. burgdorferi sensu lato* complex in the blood serum were determined by the immunoassay (ELISA). According to the results of the first stage of the study, blood specimens with questionable and positive results were re-examined using the immunoblot method.

**Results and discussion.** The presence of antibodies to at least one IgM and/or IgG class in the *B. burgdorferi sensu lato* complex (*B. burgdorferi*, *B. afzelii* and *B. garinii*) in serum was detected in 25.2 % of patients with pulmonary tuberculosis. Immunoblot testing (EUROLINE RN-AT) confirmed the presence of IgM and/or IgG antibodies against the antigens of *B. burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* and *B. garinii*) (positive or intermediate findings) at 19 (76.0 %) out of 25 respondents with positive and intermediate results in the first phase of the study (ELISA).

**Conclusions.** In a screening study, the prevalence of borrelia infections in patients with pulmonary tuberculosis was 25.2 % in the first stage of diagnosis (ELISA) and 19.2 % in the second (immunoblot), confirming the need of two-stage serological scheme of Lyme borreliosis diagnosis.

**Key words:** pulmonary tuberculosis, Lyme borreliosis, *Borrelia burgdorferi*, ELISA, immunoblot, antibodies, antigens.

---

**Контактна інформація:**

Мельник Лариса Павлівна, лікар-фтизіатр Тернопільського обласного протитуберкульозного диспансеру  
47722, Тернопільська обл., с. Великі гаї, вул. Підлісна, 26-А  
E-mail: loramelnyk2111@gmail.com