

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

© Колектив авторів, 2020
УДК 616.98:579.834.114:630*2(477.84)
DOI 10.11603/1681-2727.2020.2.11283

М.І. Шкільна¹, Д.С. Шах², М.А. Андрейчин¹, І.Д. Круз², О.Л. Івахів¹, М.М. Корда¹, І.М. Кліщ¹,
С.Й. Запорожан¹

ЛАЙМ-БОРЕЛІОЗ ТА КЛІЩОВІ ПОВОРОТНІ ГАРЯЧКИ У ЛІСІВНИКІВ ТЕРНОПІЛЬЩИНИ

¹Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України,
²Лабораторія «IGeneX Inc.» (Мілпітас, Каліфорнія, США)

Мета дослідження – з'ясувати частоту інфікування *B. burgdorferi s. l.* (збудниками Лайм-бореліозу) і *B. hermsii* та *B. miyamotoi* (збудниками кліщових поворотних лихоманок) працівників лісових господарств Тернопільщини, використавши двохетапну схему діагностики (ІФА та імуноблот), встановити клінічні прояви поєданого перебігу цих бореліозів.

Пацієнти і методи. Під спостереженням знаходилося 339 працівників 4 лісових (Буцацького, Кременецького, Тернопільського, Чортківського) і Бережанського лісомисливського господарств Тернопільської області. Обстежені мали вік від 20 до 65 років. Чоловіків було 330, жінок – 9. Антитіла до антигенів збудників комплексу *B. burgdorferi s. l.* у сироватці крові лісівників визначали методом імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням тест-систем компанії Euroimmun AG (Німеччина). Зразки крові з проміжними й позитивними результатами першого етапу роботи досліджували методом імуноного блотингу. Обстеження проводили в лабораторії Центру із вивчення Лайм-бореліозу та інших інфекцій, що передаються кліщами, який функціонує при Тернопільському національному медичному університеті імені І.Я. Горбачевського МОЗ України.

Для визначення антитіл до *B. hermsii* та *B. miyamotoi* – збудників кліщових поворотних лихоманок методом імуноного блотингу відібрали 114 сироваток крові лісівників, в яких були позитивні або проміжні результати детекції специфічних IgM та IgG до комплексу *B. burgdorferi s. l.* в ІФА. Вони були віком від 20 до 65 років; чоловіків – 113, жінок – 1. Антитіла до збудників поворотних лихоманок у сироватці крові лісівників визначали науковці лабораторії «IGeneX Inc.» (Мілпітас, Каліфорнія, США), використовуючи метод імуноного блотингу.

Результати. Дослідження методом імуноблоту підтвердило наявність антитіл класів IgM і/чи IgG (позитивні або проміжні результати) до *B. burgdorferi s. l.* (*B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii* та *B. garinii*) у 85,1 % із 114

працівників лісових господарств Тернопільщини. Вперше в лісівників Тернопілля методом імуноблотингу виявлено антитіла класів IgM і/чи IgG до збудників кліщових поворотних гарячок (*B. hermsii* та *B. miyamotoi*) у 34,2 % із 114 осіб, в яких попередньо в ELISA знайдено антитіла IgM і/чи IgG до *B. burgdorferi s. l.* Серед специфічних IgG в обстежених осіб частіше відзначали антитіла до збудників Лайм-бореліозу – 78,1 проти 21,9 %, коли їх не було ($p < 0,05$), тоді як антитіла цього класу до збудників кліщових поворотних лихоманок відзначали значно рідше – 12,3 проти 85,9 % відповідно ($p < 0,05$). Антитіл IgG до *B. burgdorferi s. l.* в обстежених осіб виявляли значно частіше, ніж антитіла цього класу до *B. hermsii* та *B. miyamotoi* (78,1 проти 12,3 %, $p < 0,05$). Лісівники, в яких одночасно виявляли антитіла до збудників Лайм-бореліозу і кліщових поворотних лихоманок, відзначили раніший початок сезону нападів кліщів (березень-жовтень), у них частіше були прояви інтоксикаційного синдрому та ураження опорно-рухової системи, ніж в осіб, у котрих наявні лише антитіла до *B. burgdorferi s. l.*

Ключові слова: Лайм-бореліоз, кліщові поворотні лихоманки, діагностика, ІФА, імуноблот, анкетування, лісівники.

Borrelia складають гетерогенну популяцію мікроорганізмів – понад 30 різних видів, що передаються кліщами. Їх розділили на 2 групи: 1-ша – комплекс *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*s. l.*) (у широкому розумінні), що спричинюють Лайм-бореліоз; 2-га – збудники кліщових поворотних гарячок [1-3]. У групу збудників Лайм-бореліозу входять *B. burgdorferi sensu stricto* (*s. s.*) (у вузькому розумінні), *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. lusitanae*, *B. valaisiana* та інші, яких об'єднує фенотипічна подібність. Цих бактерій виявляють у країнах з помірно-континентальним кліматом північної півкулі, вони переносяться іксодовими кліщами [4-6].

У групу збудників кліщових поворотних лихоманок (англ. Tick-borne relapsing fever (TBRF), tick fever, кліщові

ва та вошина) зачислені *B. duttoni*, *B. hermsii*, *B. parkerii*, *B. turicatae*, *B. miyamotoi*. Ці бактерії зустрічаються в зоні тропічного та субтропічного клімату, переносяться кліщами роду *Ornithodoros* (кліщові поворотні лихоманки) або *Pediculus vestimenti* – платяними вошами (вошивий поворотний тиф). Окрім того, *B. miyamotoi* можуть передаватися тими ж твердими кліщами роду Іксоди, які переносять *B. burgdorferi s. l.* [7, 8]. За даними літератури, збудниками поворотних кліщових лихоманок в Європі та Азії є *Borrelia hispanica* [9], *B. persica* [10] та *B. miyamotoi* [11].

Метою роботи було з'ясувати поширеність інфікування бореліями, збудниками Лайм-бореліозу та кліщових поворотних лихоманок, працівників лісових господарств Тернопільської області, а також встановити клінічні прояви при поєднаному перебігу цих бореліозів. Дослідження розпочато восени 2015 р., закінчено восени 2016 р. Його проводили працівники кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією, шкірними та венеричними хворобами та інших підрозділів ТНМУ імені І.Я. Горбачевського спільно з працівниками лабораторії «IGeneX Inc.» (Мілпітас, Каліфорнія, США).

Пацієнти і методи

Під спостереженням знаходилося 339 працівників 4 лісових (Буцацького, Кременецького, Тернопільського, Чортківського) і Бережанського лісомисливського господарств Тернопільської області. У цю групу увійшли майстри лісу, лісоруби, водії, трактористи, звальщики лісу, лісничі, помічники лісничих, слюсарі, робітники, механіки, автоелектрики, станочники, працівники адміністрації господарств. Обстежені мали вік від 20 до 65 років. Чоловіків було 330, жінок – 9.

Серологічну діагностику Лайм-бореліозу проводили в лабораторії Центру із вивчення Лайм-бореліозу та інших інфекцій, що передаються кліщами, який функціонує при Тернопільському національному медичному університеті імені І.Я. Горбачевського МОЗ України. Антитіла до антигенів збудників комплексу *B. burgdorferi s. l.* у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням тест-систем компанії Euroimmun AG (Німеччина): антитіла класу М – тест-системою *Anti-Borrelia burgdorferi ELISA (IgM)*, класу G – *Anti-Borrelia plus VlsE ELISA (IgG)*. Відповідно до рекомендацій виробника, результат ≥ 22 RU/ml вважали позитивним, від 16 до 22 RU/ml – проміжним, ≤ 16 RU/ml – негативним.

Антитіла одного і/чи обох класів – IgM і/чи IgG до *B. burgdorferi s. l.* (*B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii* та *B. garinii*) (позитивні або проміжні результати) виявлено у 146 (43,1 %) працівників лісових господарств Тернопільської області [12].

Для визначення антитіл до *B. hermsii* та *B. miyamotoi* – збудників кліщових поворотних лихоманок методом імуно-

ного блотингу відібрали 114 сироваток крові лісівників (через обмежену кількість тест-систем), в яких були позитивні або проміжні результати детекції специфічних IgM і IgG до комплексу *B. burgdorferi s. l.* в ІФА. В імуноблоті для виявлення антитіл класу М використовували тест-систему *Anti-Borrelia EUROLINE-WB (IgM)*, антитіл класу G – *Anti-Borrelia EUROLINE-WB (IgG)*. Отримані результати оцінювали за допомогою програмного забезпечення EURO Line Scan. Антитіла до збудників поворотних лихоманок у сироватці крові лісівників визначали науковці лабораторії «IGeneX Inc.» (Мілпітас, Каліфорнія, США), використовуючи метод імуноного блотингу [13]. Інтерпретацію отриманих результатів проводили згідно з рекомендаціями виробника тест-систем [14].

У групу обстежених методом імуноного блотингу ввійшли представники зазначених вище професій. Вони були віком від 20 до 65 років; чоловіків – 113, жінка – 1. Усі дали відповіді на питання уніфікованої міжнародної анкети-опитувальника, в якій відзначали кількість і місця укусів кліщів, описували способи їх видалення та скарги, які турбували їх після укусів.

Результати досліджень та їх обговорення

Серед обстежених 114 працівників лісу, сироватки яких досліджені методом імуноблотингу, 41 (35,9 %) відмітили понад 3 епізоди нападів кліщів протягом професійної роботи, 1 напад мали 25 (21,9 %), 2 – 20 (17,5 %) респондентів. 28 (24,7 %) осіб не пам'ятали факту присмокування кліща протягом життя (табл. 1).

Найчастішими місцями присмокування кліщів пацієнти відзначили живіт (47; 41,2 %), ноги (33; 28,9 %) і тулуб спереду (29; 25,4 %). Напади в ділянки рук, тулуба ззаду та шиї згадувалися значно рідше – 15 (13,2 %), 8 (7,1 %) і 7 (6,1 %) випадків відповідно. Присмокування в голову відзначила лише 1 особа.

Щодо способу видалення кліща, то найбільша кількість опитаних виривала його пальцями (50; 43,9 %). 33 (28,9 %) особи продезінфікували місце укусу дезрозчином, 26 (22,8 %) – перед видаленням кліща змазували його олією. На жаль, допомогою лікаря чи медичної сестри для видалення кліща скористались лише 5 (4,4 %) осіб (табл. 1).

При аналізі результатів серологічного дослідження сироваток крові лісівників за допомогою ІФА на наявність специфічних IgM і IgG до комплексу *B. burgdorferi s. l.* встановлено, що позитивні результати щодо IgM були у 28 (24,6 %) обстежених, проміжні – у 12 (10,5 %), негативні – у 74 (64,9 %). Водночас позитивні результати наявності специфічних антитіл класу IgG знайдено у 86 (75,4 %) осіб, проміжні – у 16 (14,1 %), негативні – у 12 (10,5 %) (мал. 1).

Таблиця 1

Характеристика нападів кліщів на обстежених лісівників і способи їх видалення

Укуси кліщів та спосіб їх видалення		n=114	%
Кількість нападів	1	25	21,9
	2	20	17,5
	Багато (понад 3)	41	35,9
	Не мали жодного або не пам'ятають	28	24,7
Локалізація нападів	Руки	15	13,2
	Ноги	33	28,9
	Тулуб спереду ззаду	29	25,4
		8	7,1
	Голова	1	0,9
	Шия	7	6,1
	Живіт	47	41,2
Хто і як видалив кліща	Лікар	5	4,4
	Інша особа	3	2,6
	Вирвав пальцями	50	43,9
	Простими рухами	8	7,1
	Викрутив	5	4,4
	Зішкрябав нігтем	7	6,1
	Полив дезінфікувальним розчином	6	5,3
	Намазав олією	26	22,8
	Продезінфікував місце укусу	33	28,9
	Інше	4	3,5

За даними літератури, відсоток позитивних результатів виявлення IgG до *B. burgdorferi s. l.* у країнах Європи різний: у Німеччині – 30,6 %, у Швеції – 35,0 %, в Італії – 24,3 %. У Словачії ці антитіла були знайдені у 29,2 % працівників лісу [15], в Італії – у 24,3 % [16]. Отримані нами результати знаходження імуноглобулінів класу IgM у працівників лісових господарств співзвучні з даними науковців Польщі, в яких специфічні IgM виявлено у 15,6 % лісівників, проміжні – у 7,8 % [17].

Сироватки крові лісівників, в яких наявні позитивні та проміжні результати виявлення антитіл до комплексу *B. burgdorferi s. l.* в тесті ELISA, у подальшому досліджували методом імуноблоту. Позитивні результати стосовно специфічних IgM отримано в 13 (11,4 %), проміжні – у 10 (8,8 %) обстежених. Також у сироватках крові визначали вміст специфічних IgG. Позитивні результати отримано у 89 (78,1 %) працівників лісових господарств Тернопільщини, негативні – у 25 (21,9 %), проміжних результатів не було у жодного з обстежених (мал. 2).

Одночасно сироватки крові зазначених вище 114 лісівників з Тернопільщини досліджено методом імуноблотингу на наявність антитіл до збудників кліщових поворотних лихоманок – *B. hermsii* та *B. miyamotoi* в лабораторії «IGeneX Inc.» (Мілпітас, Каліфорнія, США).

У результаті проведеного аналізу показників дослідження сироваток крові лісівників на наявність специфічних IgM і IgG до зазначених вище збудників методом імуноблоту встановлено: позитивні або проміжні результати виявлення антитіл хоча б одного класу були у 39 (34,2 %) обстежених, у тому числі антитіла класу IgM – у 29 (25,4 %), IgG – у 16 (14,1 %) ($p < 0,05$), обох класів одночасно (результат позитивний/позитивний і проміжний/проміжний) – у 5 (4,4 %) (табл. 2).

Таблиця 2

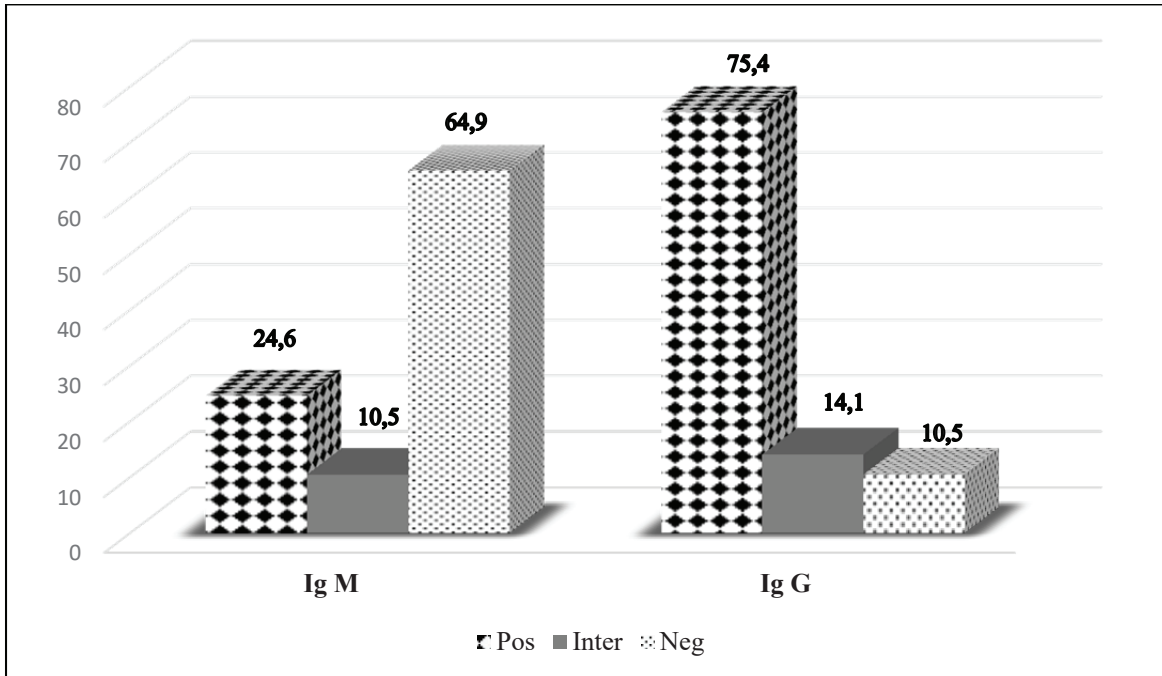
Результати дослідження імуноним блотом сироваток крові лісівників на наявність антитіл класів IgM і IgG до *B. hermsii* та *B. miyamotoi* (n=114), %

№ п/п	Класи антитіл і результати		n	%
	IgM	IgG		
1	Позитивний	Позитивний	5	4,4
2	Позитивний	Негативний	15	13,2
3	Проміжний	Позитивний	1	0,9
4	Позитивний	Проміжний	-	-
5	Проміжний	Проміжний	-	-
6	Негативний	Позитивний	8	7,0
7	Проміжний	Негативний	8	7,0
8	Негативний	Проміжний	2	1,9
9	Негативний	Негативний	75	65,8
Разом			114	100,0

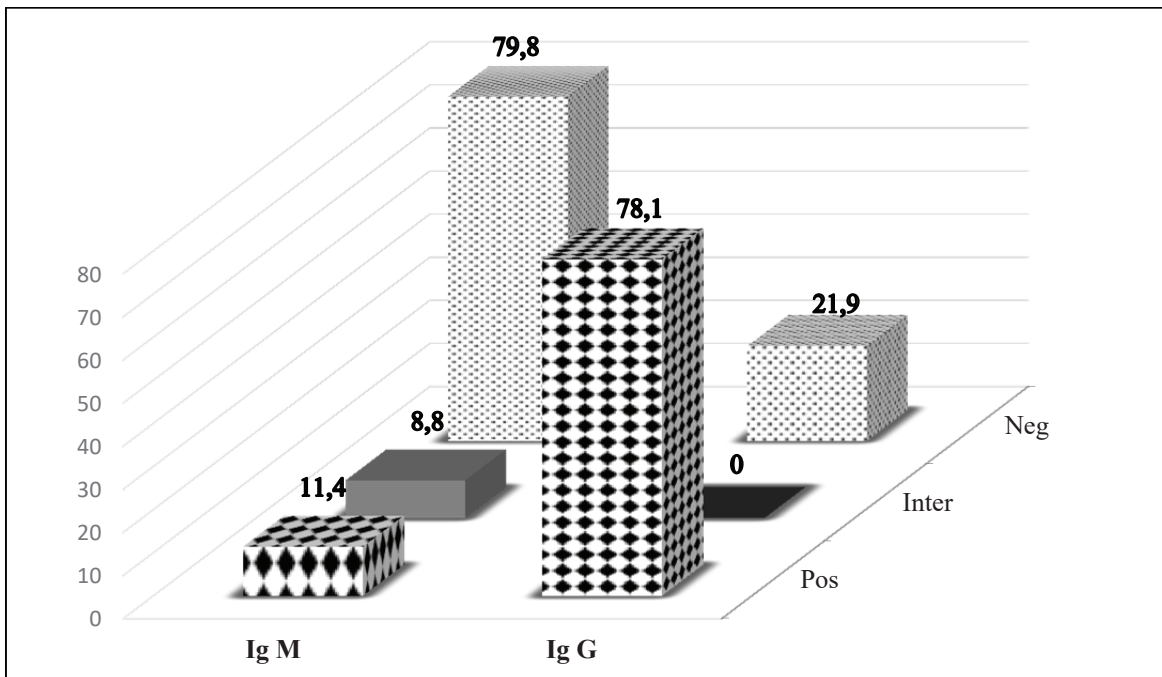
Зокрема, в імуноблоті науковцями зі США позитивні результати наявності IgM до *B. hermsii* та *B. miyamotoi* отримано у 20 (17,5 %), проміжні – у 9 (7,9 %) обстежених. Позитивні результати виявлення антитіл класу IgG були у 14 (12,3 %), проміжні – у 2 (1,8 %) обстежених лісівників (мал. 3).

Відсоток позитивних результатів наявності антитіл класу IgM до збудників Лайм-бореліозу (*B. burgdorferi s. l.*) та кліщових поворотних лихоманок (*B. hermsii* та *B. miyamotoi*) у сироватці крові 114 працівників лісових господарств був приблизно однаковим. Серед специфічних IgG відсоток позитивних результатів наявності антитіл до збудників Лайм-бореліозу був значно вищим, ніж негативних – 78,1 проти 21,9 % відповідно ($p < 0,05$), тоді як до збудників кліщових поворотних лихоманок суттєво більше було негативних результатів – 85,9 проти 12,3 % ($p < 0,05$). Окрім того, відсоток осіб, в яких

отримано позитивні результати пошуку антитіл класу IgG до *B. burgdorferi s. l.*, достовірно вищий ніж тих, у кого були антитіла до *B. hermsii* та *B. miyamotoi* – 78,1 проти 12,3 % ($p < 0,05$) (мал. 3).

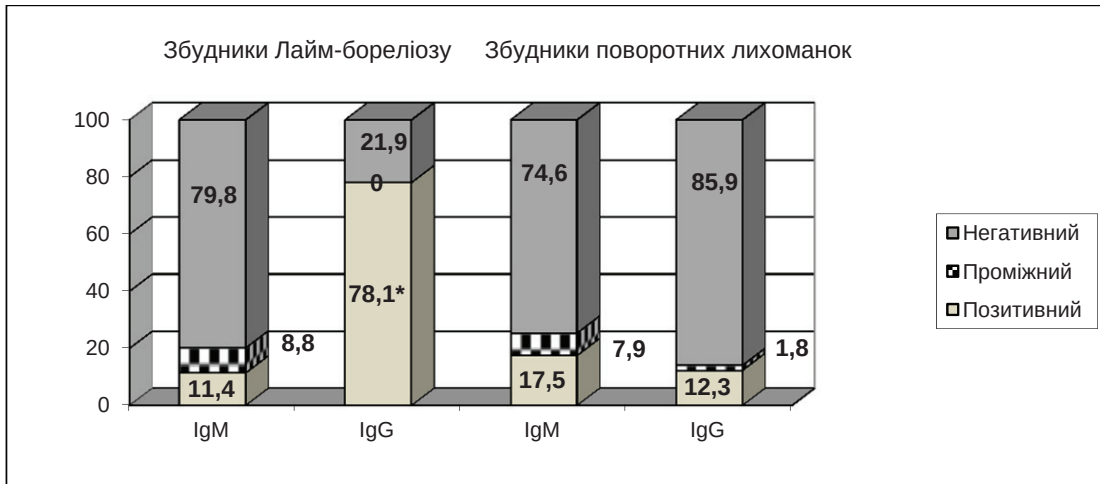


Мал. 1. Результати дослідження сироваток крові лісівників за допомогою ІФА щодо наявності антитіл класів IgM та IgG до *B. burgdorferi s. l.* (n=114), %.



Мал. 2. Результати дослідження сироваток крові лісівників методом імунного блоту на наявність антитіл класів IgM та IgG до *B. burgdorferi s. l.* (n=114), %.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ



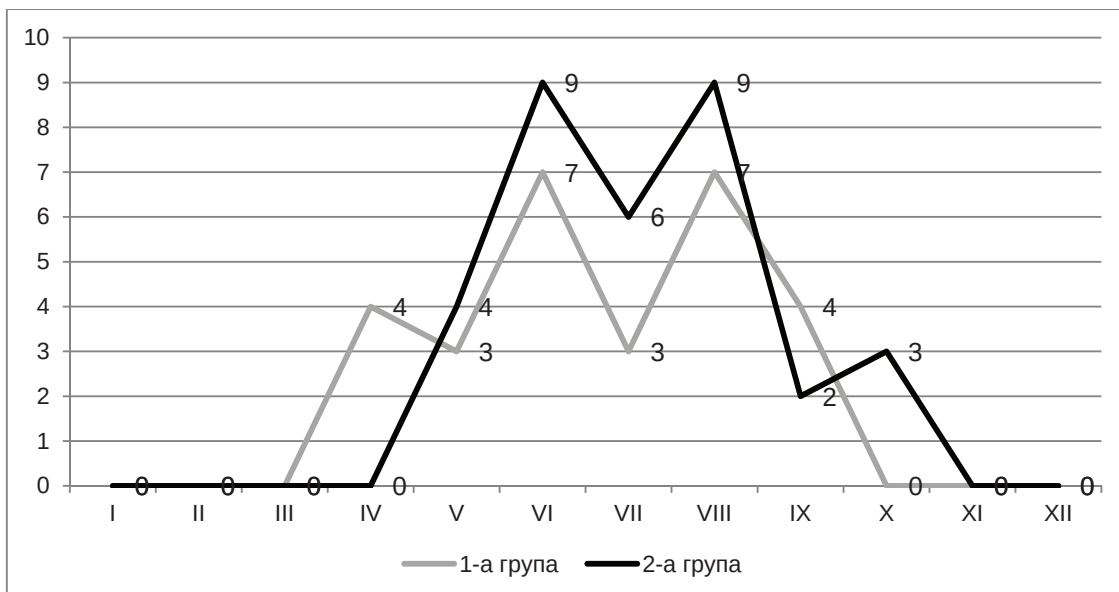
Мал. 3. Результати дослідження сироваток крові лісівників методом імуноблоту на наявність антитіл класів IgM і IgG до *B. burgdorferi s. l.* та *B. hermsii* та *B. miyamotoi* (поворотні лихоманки) (n=114), %.

Примітка: * – різниця достовірна щодо показника відповідних антитіл при Лайм-бореліозі, $p < 0,05$.

Залежно від отриманих результатів дослідження сироваток крові 114 лісівників методом імуноблотингу на наявність антитіл до збудників Лайм-бореліозу і кліщових поворотних лихоманок, усіх обстежених поділили на дві групи. У 1-шу групу ввійшли 39 працівників лісових господарств, у сироватках крові яких одночасно знайдено антитіла до *B. burgdorferi s. l.* (збудників Лайм-бореліозу) та *B. hermsii* і *B. miyamotoi* (збудників кліщових поворотних лихоманок); у 2-гу – 75 осіб, в яких виявлено лише антитіла до *B. burgdorferi s. l.*

Далі з'ясовували, коли лісівники обох груп найчастіше зазнавали нападів кліщів. Місяці укусів кліщів змогли вказати лише 55 лісівників із 114 обстежених, у тому числі 28 осіб з 1-ої групи і 33 – з 2-ої.

Встановлено, що напади кліщів у лісівників Тернопільщини протягом 2015-2016 рр. реєстрували з березня по листопад. В обстежених лісівників обох груп відзначено два піки – у V та VII місяцях. Слід зазначити, що лише лісівники 1-ої групи зазнали нападів кліщів уже в березні, тоді як в листопаді укуси кліщів реєстрували лише респонденти 2-ої (мал. 4).

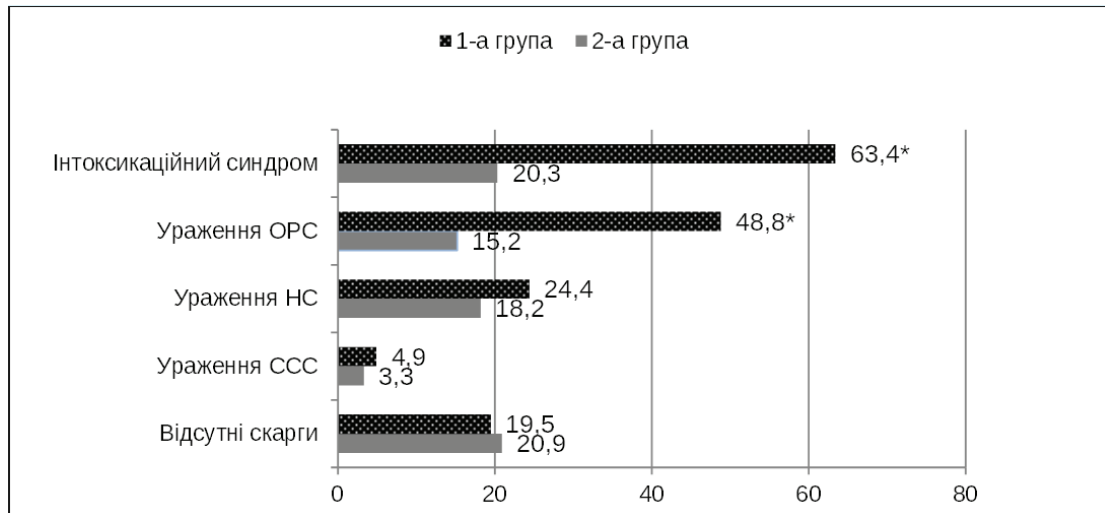


Мал. 4. Число нападів кліщів на лісівників 1-ої (n=28) та 2-ої (n=33) груп у різні місяці протягом 2015-2016 рр.

Проведено аналіз скарг лісівників обох груп. Усі скарги поділено на декілька груп: інтоксикаційний синдром (підвищення температури тіла, загальна слабкість, біль голови, регіонарний лімфаденіт); ураження опорно-рухової системи (ОРС; артралгії та міалгії); ураження серцево-судинної системи (ССС; неприємні відчуття в ділянці серця, аритмія, підвищення артеріального тиску);

ураження нервової системи (НС; відчуття оніміння, слабкість і відчуття розпирання в руках і ногах).

Встановлено, що прояви інтоксикаційного синдрому відзначено в 63,4 % лісівників 1-ої групи проти 20,3 % – другої ($p < 0,05$). Респонденти цієї ж групи суттєво частіше вказували на наявність симптомів ураження опорно-рухової системи (мал. 5).



Мал. 5. Частота виявлення скарг з боку різних органів і систем у лісівників 1-ої ($n=39$) і 2-ої груп ($n=75$), %. Примітка: * – різниця достовірна між групами ($p < 0,05$).

Отримані нами дані щодо клінічних проявів Лайм-бореліозу та кліщових поворотних лихоманок, близькі до результатів досліджень науковців Словенії, Бельгії та Польщі [15-17].

Висновки

1. Метод імуного блоту дозволив підтвердити наявність антитіл класів IgM і/чи IgG (позитивні або проміжні результати) до *B. burgdorferi s. l.* (*B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii* та *B. garinii*) у 85,1 % із 114 лісівників Тернопільщини, в яких попередньо були виявлені антитіла до борелій в ІФА (ELISA) (позитивні і проміжні показники).

2. Вперше на Тернопільщині методом імуноблотингу виявлено антитіла класів IgM і/чи IgG до збудників кліщових поворотних лихоманок (*B. hermsii* та *B. miyamotoi*) у 34,2 % із 114 лісівників, в яких попередньо в ELISA знайдено антитіла IgM і/чи IgG до *B. burgdorferi s. l.* (позитивні або проміжні результати).

3. Серед специфічних IgG в обстежених осіб частіше відзначали наявність антитіл до збудників Лайм-

бореліозу – 78,1 проти 21,9 %, коли їх не було ($p < 0,05$), тоді як антитіла цього класу до збудників кліщових поворотних лихоманок відзначали значно рідше – 12,3 проти 85,9 % відповідно ($p < 0,05$).

4. Антитіл класу IgG до *B. burgdorferi s. l.* в обстежених осіб виявляли значно частіше, ніж антитіла цього класу до *B. hermsii* та *B. miyamotoi* (78,1 проти 12,3 %, $p < 0,05$).

5. Працівники лісових господарств Тернопільської області, в яких знайдені антитіла до збудників кліщових поворотних лихоманок, відзначали напади кліщів з березня по жовтень, тоді як лісівники, в яких виявляли лише антитіла до *B. burgdorferi s. l.*, з квітня по листопад.

6. Лісівники Тернопільщини, в яких одночасно виявляли антитіла до збудників Лайм-бореліозу і кліщових поворотних лихоманок, суттєво частіше відзначали прояви інтоксикаційного синдрому та ураження опорно-рухової системи, ніж особи, у котрих були наявні лише антитіла до *B. burgdorferi s. l.*

Література

1. Adeolu M. A phylogenomic and molecular marker based proposal for the division of the genus *Borrelia* into two genera: the emended genus *Borrelia* containing only the members of the relapsing fever *Borrelia*, and the genus *Borrelia* gen. nov. containing the members of the Lyme disease *Borrelia* (*Borrelia burgdorferi* sensu lato complex) / M. Adeolu, R.S. Gupta // *Antonie Van Leeuwenhoek*. – 2014. – Vol. 105. – P. 1049-1072.
2. Oren A. Notification of changes in taxonomic opinion previously published outside the IJSEM. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2015. – Vol. 65. – P. 7-10.
3. "Genus II. *Borrelia Swellengrebel 1907, 582AL*," in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, eds D. J. Brenner, N. R. Krieg, G. M. Garrity, J. T. Staley. – 2011. – N 3, 2nd Edn. (New York, NY: Springer). – P. 484-498.
4. Сарксян Д.С. Дифференциальная диагностика иксодового клещевого боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi* / Д.С. Сарксян, В.В. Малеев, А.Е. Платонов // *Инфекционные болезни*. – 2012. №10 (4). – С. 41-44.
5. Лайм-боррелиоз. Діагностичні критерії, лікування і профілактика: метод. рекомендації / [уклад.: М.А. Андрейчин, В.С. Копча, М.І. Шкільна та ін.]. – Тернопіль: ТДМУ, 2019. – 52 с.
6. Попович О.О. Лайм-боррелиоз: сучасна проблема інфектології (клінічна лекція) / О.О. Попович // *Актуальна інфектологія*. – 2016. – №3 (12). – С. 114-122.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Tick-Borne Relapsing Fever (TBRF). – 2015. – Access mode : <https://www.cdc.gov/relapsing-fever/index.html> (accessed on 23 August 2018).
8. Centers for Disease Control and Prevention. *Borrelia miyamotoi*. – 2019. – Access mode : <https://www.cdc.gov/ticks/miyamotoi.html>. (accessed on 20 June 2019).
9. *Borrelia hispanica* in *Ornithodoros erraticus*, Portugal / M. Palma, I. Lopes de Carvalho, M. Figueiredo [et al.] // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2012. – N 18. – P. 696-701.
10. Elbir H. Genome sequence of the Asiatic species *Borrelia persica* / H. Elbir, P. Larsson, J. Normark [et al.] // *Genome Announc.* – 2014. – Vol. 2. – P. 1127-1140.
11. *Borrelia miyamotoi* infection in nature and in humans / P. J. Krause, D. Fish, S. Narasimhan, A. G. Barbour // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2015 – Vol. 21. – P. 631-639.
12. Шкільна М.І. Лайм-боррелиоз у працівників лісових господарств Тернопільської області / М.І. Шкільна // *Інфекційні хвороби*. – 2016. – № 1(83). – С. 36-40.
13. Line immunoblot assay for tick-borne relapsing fever and findings in patient sera from Australia, Ukraine, and the USA / J. S. Shah, S. Liu, I. Du Cruz [et al.] // *Healthcare*. – 2019. – Vol. 7 (4). – P. 121.
14. Pilot study of immunoblots with recombinant *Borrelia burgdorferi* antigens for laboratory diagnosis of Lyme disease / S. Liu, I. Du Cruz, C. Calalo-Ramos [et al.] // *Healthcare*. – 2018. – Vol. 6 (3). – P. 99.
15. Sero-epidemiological study of Lyme disease among high-risk population groups in eastern Slovakia / L. Zákutná, E. Dorko, E. Mattová, K. Rimárová // *Ann. Agric. Environ. Med.* – 2015. – Vol. 22. – P. 632-636.
16. De Keukeleire M. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in Belgian forestry workers and associated risk factors / M. De Keukeleire, A. Robert, V. Luyasu, B. Kabamba, S. O. Vanwambeke // *Parasites & Vectors*. – 2018. – Vol. 11 (277). – P. 22.
17. Pańczuk A. Exposure to ticks and seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* among a healthy young population living in the area of southern Podlasie / Pańczuk A., Kozioł-Montewka M., Tokarska-Rodak M. // *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. – 2014. – Vol. 21 (3). – P. 512-517.

References

1. Adeolu, M., & Gupta, R.S. (2014). A phylogenomic and molecular marker based proposal for the division of the genus *Borrelia* into two genera: the emended genus *Borrelia* containing only the members of the relapsing fever *Borrelia*, and the genus *Borrelia* gen. nov. containing the members of the Lyme disease *Borrelia* (*Borrelia burgdorferi* sensu lato complex). *Antonie Van Leeuwenhoek*, 105, 1049-1072.
2. Oren, A., & Garrity, G.M. (2015). Notification of changes in taxonomic opinion previously published outside the IJSEM. *Evol. Microbiol.*, 65, 7-10.
3. Wang, G., & Schwartz, I. (2011). Genus II. *Borrelia Swellengrebel 1907, 582AL*, in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Brenner, D.J., Krieg, N.R., Garrity, G.M., Staley, J.T. (Eds.). New York, NY: Springer, 484-498.
4. Sarkisyan, D.S., Maleev, V.V., Platonov, A.E., Platonova, O.V., Karn, L.S. (2012). Differential diagnosis of ixodic tick-borne borreliosis caused by *Borrelia miyamotoi*. *Infektsionnye bolezni – Infectious Diseases*, 10 (4), 41-44 [in Russian].
5. Андрейчин, М.А., Копча, В.С., Шкільна, М.І., Корта, М.М., Клішч, І.М., Нукутиук, С.О., ... Нучук, Н.А. (2019). Lyme borreliosis. Diagnostic criteria, treatment and prevention: *Method. Recommendations*. Ternopil [in Ukrainian].
6. Popovich, O.O. (2016). Lyme borreliosis: a modern problem of infectology (clinical lecture). *Aktualna infektologia – Actual Infectology*, 3 (12), 114-122 [in Ukrainian].
7. Centers for Disease Control and Prevention. (2015). Tick-Borne Relapsing Fever (TBRF). *www.cdc.gov*. Retrieved from: <https://www.cdc.gov/relapsing-fever/index.html> (accessed on 23 August 2018).
8. Centers for Disease Control and Prevention. (2019). *Borrelia miyamotoi*. *www.cdc.gov*. Retrieved from: <https://www.cdc.gov/ticks/miyamotoi.html>. (accessed on 20 June 2019).
9. Palma, M., Lopes de Carvalho, I., Figueiredo, M., Amaro, F., Boinas, F., & Cutler, S.J. (2012). *Borrelia hispanica* in *Ornithodoros erraticus*, Portugal. *Clin. Microbiol. Infect.*, 18, 696-701.
10. Elbir, H., Larsson, P., Normark, J., Upreti, M., Korenberg, E., & Larsson, C. (2014). Genome sequence of the Asiatic species *Borrelia persica*. *Genome Announc.*, 2, 1127-1140.
11. Krause, P.J., Fish, D., Narasimhan, S., & Barbour, A.G. (2015). *Borrelia miyamotoi* infection in nature and in humans. *Clin. Microbiol. Infect.*, 21, 631-639.
12. Shkiliina, M.I. (2016). Lyme borreliosis in forestry workers of Ternopil region. *Infektsiini khvoroby – Infectious Diseases*, 1 (83), 36-40 [in Ukrainian].

13. Shah, J.S., Liu, S., Du Cruz, I., Poruri, A., Maynard, R., Shkilna, M. (2019). Line immunoblot assay for tick-borne relapsing fever and findings in patient sera from Australia, Ukraine, and the USA. *Healthcare*, 7 (4), 121.

14. Liu, S., Du Cruz, I., Calalo Ramos, C., Taleon, P., Ramasamy, R., & Shah, J. (2018). Pilot study of immunoblots with recombinant *Borrelia burgdorferi* antigens for laboratory diagnosis of Lyme disease. *Healthcare*, 6 (3), 99.

15. Zákutná, L., Dorko, E., Mattová, E., & Rimárová, K. (2015). Sero-epidemiological study of Lyme disease among high-risk

population groups in eastern Slovakia. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 22, 632-636.

16. De Keukeleire, M., Robert, A., Luyasu, V., Kabamba, B., & Vanwambeke, S.O. (2018). Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in Belgian forestry workers and associated risk factors. *Parasites & Vectors*, 11, 277.

17. Pańczuk, A., Koziol-Montewka, M., Tokarska-Rodak, M. (2014). Exposure to ticks and seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* among a healthy young population living in the area of southern Podlasie. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 21 (3), 512-517.

LYME BORRELIOSIS AND TICK-BORNE RELAPSING FEVER IN FORESTERS OF TERNOPIL REGION

M.I. Shkilna¹, J.S. Shah², M.A. Andreychyn¹, I.D. Cruz², O.L. Ivakhiv¹, M.M. Korda², I.M. Klischch¹, S.Y. Zaporozhan¹

¹I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, ²GeneX Inc. Laboratory (Milpitas, CA, USA)

SUMMARY. *The aim of the study* – to determine the case incidence of *B. burgdorferi* s. l. (the agent of Lyme Borreliosis) and *B. hermsii* ma *B. miyamotoi* (the agents of tick-borne relapsing fever) infection among foresters of the Ternopil region and study the clinical manifestation of combined dual infection using of two-step diagnostic scheme (ELISA and immunoblotting).

Patients and Methods. 339 foresters were involved in the study in the Ternopil region: 4 forestries (Buchah, Kremenz, Ternopil, and Chortkiv districts) and Berezhan's forestry and hunting grounds. The age of patients was from 20 to 65 years old. There were 330 males and 9 females. Antibodies to *B. burgdorferi* s. l. antigens were detected by Euroimmun AG assay (Germany). Serum samples with positive and borderline results were confirmed by immunoblot (EUROLINE *Borrelia* RNAT). All tests were done in the Center of Study of Lyme borreliosis and other infectious diseases transmitted by ticks at I. Horbachevsky Ternopil National Medical University.

For detection of antibodies to *B. hermsii* ma *B. miyamotoi* – the cause of tick-borne relapsing fever, we use 114 human blood samples of forestry workers, which were positive or borderline to *B. burgdorferi* s. l. IgM and IgG antibodies in the ELISA test. The average age of involved persons was from 20 to 65 years old, among them 113 males and 1 female. Samples were examined in the laboratory iGeneX Inc. (Milpitas, CA, USA) by immune blotting.

Results. *Immunoblot examination confirmed the presence of B. burgdorferi s. l. (B. burgdorferi s. s., B. afzelii and B. garinii) IgM and/or IgG antibodies (positive or borderline results) in 85.1 % of 114 forestry workers of Ternopil region. The first time, IgM and/or IgG antibodies to agents of tick-borne relapsing fever (B. hermsii ma B. miyamotoi) were detected by immunoblot in 34.2 % of 114 forestry workers of Ternopil regions, among those samples which were founded previously positive B. burgdorferi s. l. IgM and/or IgG antibodies by ELISA enzyme immunoassays.*

The IgG antibodies to Lyme Borreliosis pathogens were detected more frequently – 78.1 versus 21.9 %, p<0.05, while to tick-borne relapsing fever pathogens only in 12.3 versus 85.9 % (p<0.05) of cases. B. burgdorferi s. l. IgG-antibodies were detected more frequently compared to B. hermsii and B. miyamotoi IgG-antibodies (78.1 versus 12.3 %, p<0.05). Forestry workers which were positive to antibodies to both Lyme borreliosis and tick-borne relapsing fever, noticed earlier beginning of tick-bites' season (March-October). They manifested intoxication syndrome and musculoskeletal damage more frequently compared to persons which were positive only to B. burgdorferi s. l. antibodies.

Key words: *Lyme borreliosis; tick-borne relapsing fever; diagnostics; ELISA; immunoblot; questionnaire; forestry workers.*

Відомості про авторів:

Шкільна Марія Іванівна – к. мед. н, доцент кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією, шкірними та венеричними хворобами ТНМУ імені І.Я. Горбачевського; e-mail: shkilnami@tdmu.edu.ua

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2689-6349>

Джотсна Шах – директор клінічної лабораторії «iGeneX Inc.» (Мілпітас, Каліфорнія, США); e-mail: jshah@igenex.com;

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9890-366X>

Андрейчин Михайло Антонович – д. мед. н., професор, академік НАМН України, завідувач кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією, шкірними та венеричними хворобами ТНМУ імені І.Я. Горбачевського; e-mail: andreychyn@tdmu.edu.ua

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-0154-730X>

Iris Cruz – менеджер клінічної лабораторії «iGeneX Inc.» (Мілпітас, Каліфорнія, США); e-mail: icruz@igenex.com

Івахів Олег Любомирович – к. мед. н., доцент кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією, шкірними та венеричними хворобами ТНМУ імені І.Я. Горбачевського; e-mail: olivakhiv@ukr.net

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-1917-1814>

Корда Михайло Михайлович – д. мед. н., професор, ректор ТНМУ імені І.Я. Горбачевського; e-mail: korda@tdmu.edu.ua

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6066-5165>

Кліщ Іван Миколайович – д. біол. н., професор, проректор з наукової роботи ТНМУ імені І.Я. Горбачевського; e-mail: klishch@tdmu.edu.ua

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-6226-4296>

Запорожан Степан Йосипович – д. мед. н., професор, проректор з науково-педагогічної та лікувальної роботи ТНМУ імені І.Я. Горбачевського; e-mail: zaporozhan@tdmu.edu.ua

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-4038-2010>

Information about the authors:

Shkilna M.I. – PhD, Associate Professor of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Dermatology and Venerology, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University; e-mail: shkilnami@tdmu.edu.ua

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2689-6349>

Shah J. – Clinical Laboratory Director, “iGeneX Inc.” (Milpitas, California, USA); e-mail: jshah@igenex.com;

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9890-366X>

Andreychyn M.A. – MD, Professor, Academician of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Chief of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Dermatology and Venerology, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University; e-mail: andreychyn@tdmu.edu.ua

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-0154-730X>

Cruz Iris – Clinical Laboratory Manager, “iGeneX Inc.” (Milpitas, California, USA); e-mail: icruz@igenex.com

Ivakhiv O.L. – PhD, Associate Professor of the Department of Infectious Diseases with Epidemiology, Dermatology and Venerology, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University; e-mail: olivakhiv@ukr.net

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-1917-1814>

Korda M.M. – MD, Professor, Rector, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University; e-mail: korda@tdmu.edu.ua

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6066-5165>

Klishch I.M. – DS (Biology), Professor, Vice-rector for Scientific Work, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University; e-mail: klishch@tdmu.edu.ua

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-6226-4296>

Zaporozhan S.Y. – MD, Professor, Vice-rector for Academic and Clinical Work, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University; e-mail: zaporozhan@tdmu.edu.ua

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-4038-2010>

Конфлікт інтересів: немає.

Authors have no conflict of interest to declare.

Отримано 23.05.2020 р.