

УДК 579.834.114.083+616.15-092

Изучение уровня антител к *Borrelia burgdorferi* среди доноров Москвы и Московской области

О.А. Конева¹, Л.П. Ананьева¹, В.Г. Барскова¹, Е.В. Баранова², А.В. Штанников²,
Е.В. Огородникова³, С.Ф. Бикетов²

¹ Институт ревматологии РАМН, Москва, Россия

² Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия

³ Онкологический научный центр им. акад. Н.Н. Блохина РАМН, Москва, Россия

С целью определения частоты обнаружения антител к спирохетам комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*Bb*) среди доноров Москвы и Московской области с применением нового регионального (подмосковного) штамма боррелий и двухступенчатого подхода к выявлению серопозитивности протестированы сыворотки 113 доноров. На первом этапе серодиагностика проводилась с помощью новой отечественной тест-системы для ИФА. Положительные или пограничные в ИФА образцы крови проверялись методом иммуноблотинга (второй этап). Сыворотка считалась положительной, если оба теста давали позитивный результат. Для определения чувствительности новой тест-системы для ИФА исследовались сыворотки 41 пациента с мигрирующей эритемой.

Применение регионального изолята боррелий в качестве антигена для ИФА существенно не повлияло на результативность диагностики ИКБ (уровень чувствительности данного теста – 32%). Специфичность, напротив, была доста-

точно высока (95%), что позволяет её использовать для скринингового исследования населения. Применение иммуноблота существенным образом не увеличило специфичность серодиагностики ИКБ. Частота серопозитивности по антиборрелиозным антителам среди доноров, полученная при тестировании методом ИФА, была 9%. Среди доноров с указанием на контакт с клещами в анамнезе достоверно чаще выявлялся уровень антител, выше или равный диагностическому. Использование двухэтапной диагностики уменьшило показатель серопозитивности доноров до 6%. Таким образом, истинная серопозитивность по антиборрелиозным антителам среди доноров, проживающих в Москве и Московской области, оказалась несколько ниже показателей серопозитивности доноров в среднем по России (12%).

Ключевые слова: иксодовые клещевые боррелиозы, болезнь Лайма, иммуноферментный анализ, иммуноблот, мигрирующая эритема.

Контактный адрес:
Ольга Александровна Конева
Тел.: 8-916-562-77-76
Эл. почта: som2008@comtv.ru

Levels of Antibodies to *Borrelia burgdorferi* among Blood Donors in Moscow and Moscow Region

O.A. Koneva¹, L.P. Ananieva¹, V.G. Barskova¹, E.V. Baranova², A.V. Shtannikov², E.V. Ogorodnikova³, S.F. Biketov²

¹ Institute of Rheumatology of the Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

² State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia

³ Russian Cancer Research Center named after N.N. Blokhin, Moscow, Russia

To assess prevalence of antibodies to spirochetes of *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex among blood donors in Moscow region, a total of 113 serum samples were tested using the new regional *Borrelia* strain and 2-step approach for detection of seropositivity. The first step of serological testing was performed using new Russian enzyme immunoassay (EIA) kit. At the second step positive and borderline blood samples were retested by Western blot. Serum was considered «truly positive» when both tests were positive. A total of 41 serum samples from the patients with erythema migrans were used as control to determine sensitivity of the new EIA kit.

Use of the regional *Borrelia* strain as an antigen did not affect the results of testing for tick-borne borreliosis (sen-

sitivity was 32%), however, specificity was very high (95%) to use this EIA kit for population screening. There was no significant increase in specificity of serologic test for tick-borne borreliosis. Prevalence of anti-borrelia antibodies among donors was 9% with the use of EIA test. Level of antibodies among donors with the history of tick contact was threshold or above. Number of seropositive donors was decreased to 6% when two-step approach was performed. In conclusion, prevalence of *Borrelia* seropositivity among blood donors in Moscow region was found to be lower than overall prevalence in Russia (12%).

Key words: tick-borne borreliosis, Lyme disease, blood donors, enzyme immunoassay, Western blot, erythema migrans.

Введение

Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ, болезнь Лайма) – группа инфекционных природно-очаговых трансмиссивных заболеваний, вызываемых спирохетами комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*Bb*), которые передаются иксодовыми клещами. Россия относится к одному из самых больших нозоареалов ИКБ. В настоящее время описано более 10 геновидов боррелий, из них три – *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* и *B. garinii* – являются патогенными для человека [1].

В процессе развития боррелиозной инфекции выделяют три стадии: локальную, стадию диссеминации и поздних проявлений [2]. Мигрирующая эритема (МЭ), развивающаяся в месте присасывания клеща, является клиническим маркером ранней стадии инфекции. При обнаружении типичной МЭ диагностика эритематозных форм ИКБ не представляет трудностей, и лечение может быть назначено до серологического тестирования. Несмотря на достаточно характерную клиническую картину в целом, патогномичным для иксодовых боррелиозов можно считать только МЭ, при развитии других клинических проявлений достоверность диагноза следует обосновать лабораторным подтверждением боррелиозной инфекции. К сожалению, унифицированных клинических и серологические критериев клещевого боррелиоза не разработано. Поэтому в случаях нетипичных эритематозных элементов,

безэритематозного дебюта или при первом обращении пациента на более поздних сроках, когда МЭ уже отсутствует, а другие клинические проявления неспецифичны, диагностика ИКБ осуществляется по совокупности эпидемиологических, клинических и лабораторно-инструментальных методов исследования, в ряде случаев – в процессе динамического наблюдения.

Определение антител (АТ) к *Bb* остаётся самым распространённым в клинической практике лабораторным методом подтверждения предшествующего контакта организма с возбудителем. Для лабораторной диагностики ИКБ в России используются иммуноферментный анализ (ИФА) и, в меньшей степени, реакция непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ). Поскольку эти методы дают как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты, для улучшения лабораторной диагностики за рубежом принято проводить двухэтапное тестирование. На первом этапе используются ИФА или РНИФ и положительные или пограничные (cut off) результаты тестирования проверяются методом иммуноблотинга (второй этап). Сыворотка считается положительной, если и на первом, и на втором этапах получен позитивный результат.

Иммуноблотинг – высокоинформативный метод обнаружения антител, обладающий более высокой чувствительностью и специфичностью по сравнению с другими. При ИКБ информатив-

ность тестирования зависит от модификации ИФА, используемого антигена, от формы и стадии болезни, от предшествующего лечения антибиотиками и других причин. Так, в литературе имеются данные о преимуществах использования регионального штамма боррелий в качестве антигена в тест-системах для серологической диагностики болезни Лайма [3–8].

Одна из проблем лабораторной диагностики ИКБ заключается в том, что при исследовании образцов крови с помощью ИФА или РНИФ у здоровых людей, проживающих как в эндемичных, так и в неэндемичных областях, может выявляться диагностический уровень антител к боррелиям. Поскольку ИКБ повсеместно распространены в России, высокая частота серопозитивности по антиборрелиозным антителам в популяции прогнозируема и ожидаема. Так, в 2001 г. средний по России показатель положительных результатов у здоровых лиц составил 12,4% [9]. Частота выявления АТ к *Bb* у здоровых доноров в разных странах Европы варьирует от 0 до 19,7% [10–17]. В двух штатах США, Висконсин и Аризона, в которых болезнь Лайма практически не встречается, частота серопозитивности среди доноров составляет 5–12% [18]. Поэтому для правильной интерпретации результатов серологического обследования необходимо иметь представление о частоте серопозитивности по антиборрелиозным антителам среди здоровых лиц в данном регионе. Для Московского региона такие данные отсутствуют, в связи с чем и было предпринято данное исследование.

Цель работы – определить частоту обнаружения антител к *Bb* среди доноров Москвы и Московской области с использованием регионального штамма возбудителя ИКБ и двухступенчатого подхода к выявлению серопозитивности.

Материал и методы

Набор материала был проведен зимой 2001 г. Зимнее время было выбрано для того, чтобы исключить возможность свежих заражений, пик которых совпадает с пиком жизнедеятельности клещей в весенне-летний период. Протестированы сыворотки 113 доноров Москвы и Московской области. Набор образцов крови проводился на базе 24-го отделения переливания крови с банком костного мозга Онкологического научного центра им. акад. Н.Н. Блохина РАМН. Средний возраст доноров составил 35 ± 10 лет, мужчин было 55, женщин – 58.

Доноры были осмотрены терапевтом, а затем проинтервьюированы авторами по специально разработанному опроснику для выяснения воз-

можных предшествующих контактов с клещами. Оценивались такие вопросы, как проживание в тёплое время года в лесных зонах, на даче, поездки за город и др.; факты присасывания клеща или снятия ползающего клеща с одежды, укусов насекомых, обнаружения клещей на домашних животных; наличие в анамнезе в месте присасывания клеща (или неизвестного насекомого) эритематозных пятен, их характер.

Серодиагностика проводилась с помощью ИФА. В качестве антигена применялся новый изолят боррелий, который был получен из клеща, отловленного в Московской области в 2000 г. Изолят (Н-13) был выделен в Государственном научном центре прикладной микробиологии и биотехнологии (ГНЦ ПМБ) и типирован как *B. afzelii* [19]. Образцы крови, показавшие положительные или пограничные результаты в ИФА, были дополнительно протестированы методом иммуноблоттинга, в котором в качестве антигена также использован изолят Н-13.

Антигенный препарат боррелий получали в ГНЦ ПМБ ультразвуковой дезинтеграцией 5 мл суспензии боррелий с концентрацией 10^9 кл/мл на аппарате VirSonic 100. Для работы использовали супернатант. Концентрацию белка в образцах определяли по методу Лоури [20].

Для постановки ИФА использовалась тест-система, совместно разработанная ГНЦ ПМБ и *Институтом ревматологии* (ИР) РАМН [21]. ИФА выполнялся на твёрдой фазе с использованием растворимого антигена нового изолята боррелий (антиген в исходной концентрации 1,9 мг/мл разводили в карбонатном буфере, рН-9,5, в 190 раз до конечной концентрации 10 мкг/мл) и меченой пероксидазой полиспецифичной антисыворотки к иммуноглобулинам человека классов М, А и G (ANTI-HUMAN IMMUNOGLOBULINS – IgA, IgG and IgM – Peroxidase Conjugate, SIGMA). Результат представлен в виде *коэффициента* (К), полученного при делении *оптической плотности* (ОП) исследуемого образца на ОП отрицательного контроля +0,2. Далее результаты исследования сывороток методом ИФА представлены в виде коэффициента К. Для иммуноблота в качестве конъюгата применялась меченная пероксидазой полиспецифичная антисыворотка к иммуноглобулинам человека классов М, А и G (см. ИФА). Постановка ИФА и ИБ осуществлялась на базе ГНЦ ПМБ. Одновременно в ИР РАМН была определена чувствительность и специфичность примененной модификации ИФА.

При определении чувствительности и специфичности лабораторных методов диагностики ИКБ

необходимо сравнение образцов крови доноров и больных с достоверным диагнозом. МЭ является «золотым стандартом» клинической диагностики ИКБ, в связи с этим для определения чувствительности ИФА исследовались сыворотки 41 больного с типичной МЭ, установленной врачом. Забор крови проводился при первом визите больных в ИР. Соотношение мужчин и женщин в группе с МЭ было 1:3. Средний возраст составил 52 ± 13 лет. Следует отметить, что пациенты обращались в ИР в разные сроки от момента появления МЭ (т.е. от начала заболевания), в связи с этим сроки серологического обследования варьировали от 1 до 35 нед (в среднем – 2 мес). Все больные были включены в исследование до назначения этиотропной терапии антибиотиками.

Результаты анализировались с использованием статистической программы Statistica 5.0. Для оценки достоверности различий проводился расчёт критерия согласия Пирсона кси-квадрат и t-критерия Стьюдента. Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Тестирование сывороток доноров методом ИФА показало высокую частоту серопозитивности по антиборрелиозным антителам (табл. 1). У 9% доноров был выявлен положительный результат, при этом никто из них не испытывал проблем со здоровьем.

При анализе данных анкетирования было установлено, что у 31 донора в анамнезе отмечалось либо присасывание клеща, либо обследованные снимали с одежды ползающих клещей. Среди доноров с указанием на контакт с клещами в анамнезе достоверно чаще выявлялся уровень АТ, выше или равный 1,1 (у 9 из 31) по сравнению с донорами, не контактировавшими с клещами (у 6 из 82, $p = 0,008$). Таким образом, инфицированность доноров, имевших «отягощенный по клещам» анамнез, была достоверно выше. Поэтому для определения специфичности ИФА мы отобрали только тех доноров, у которых вероятность инфицирования боррелиями была минимальной, т.е., по данным опросников,

они не имели контактов с клещами (82 человека).

Специфичность теста определялась по формуле:

$$Sp = d : (b + d) \times 100\%$$

где Sp – специфичность, d – число доноров с негативным тестом, b – число доноров с позитивным тестом (выше пограничного).

Специфичность метода ИФА с поливалентным конъюгатом при диагностическом уровне антител выше 1,1 составила 95% [$Sp = 78 : (4 + 78) \times 100\%$]. При сравнении результатов определения антиборрелиозных антител методом ИФА у больных и доноров без контакта с клещами в анамнезе оказалось, что число сывороток и с пограничным, и с диагностически значимым уровнем антиборрелиозных антител значительно выше в группе больных. Различия были достоверными: p при сравнении числа сывороток с коэффициентом 1,1 равно 0,03, при расчете больных с коэффициентом выше 1,1 $p = 0,0001$ (табл. 2).

Чувствительность метода ИФА при диагностическом уровне антител ($K > 1,1$) в группе больных составила 32% ($Sc = 13 : (28 + 13) \times 100\%$). Таким образом, чувствительность ИФА оказалась весьма скромной. Специфичность «первой ступени» серологической диагностики оказалась выше и составила 95%. Данный уровень специфичности ИФА достаточен для того, чтобы применять использованную модификацию метода в качестве скринингового. Отнесение пограничного уровня к диагностически значимому может увеличить чувствительность метода до 44% (но при этом его специфичность снижается на 2% и составит всего 93%).

Известно, что ИФА дает ложноположительные результаты, которые могут быть верифицированы более специфичным тестом. Поэтому все образцы крови доноров, показавшие при тестировании их методом ИФА положительный результат, были в последующем исследованы методом иммуноблота. Оказалось, что во всех 10 сыворотках выявлялись антитела хотя бы к одному белку боррелии. В среднем по группе выявлены антитела к $3,2 \pm 1,5$ боррелиозным белкам. Для того чтобы считать сыворотку позитивной в иммуноблоте, необходимо зафиксировать реагирование сыворотки с 2 из 8 диагностически значимых белков [22]. Позитивными в обоих тестах оказались 7 человек. Таким образом, «истинно» позитивных по антиборрелиозным антителам было 6% доноров. Среди доноров без присасывания клещей в анамнезе 3 из 4 позитивных в ИФА оказались позитивными и в иммуноблоте. В итоге специфичность двухступенчатого подхода (рассчитанная на доноров без присасывания клещей в анамнезе) составила 96% [$Sp = 79 : (3 + 79) \times 100\%$].

Таблица 1. Результаты исследования сывороток доноров методом ИФА ($n = 113$)

Величина коэффициента ОП	Количество сывороток	
	абс.	%
Ниже 1,1	98	86,7
1,1 (пограничный)	5	4,4
Выше 1,1	10	8,8

Таблица 2. Сравнительное исследование сывороток доноров и пациентов с МЭ методом ИФА

Величина коэффициента ОП	Пациенты с болезнью Лайма (n=41)		Доноры (n=82)	
	количество сывороток			
	абс.	%	абс.	%
1,1	5	12,1	2	2,4
Выше 1,1	13	31,7	4	4,9
1,1 + выше 1,1	18	43,9	6	7,3

Обсуждение результатов исследования

Применение нового регионального изолята боррелий в качестве антигена при серологическом тестировании методом ИФА существенно не повлияло на результативность диагностики ИКБ. Низкий уровень чувствительности данного теста наиболее вероятно обусловлен категорией выбранных нами пациентов. Тестировались сыворотки больных с ранней локализованной стадией боррелиозной инфекции – мигрирующей эритемой. Именно эта форма болезни наиболее надежно диагностируется клинически, обеспечивая достоверность диагноза ИКБ, что важно для определения чувствительности метода. В то же время известно, что МЭ в целом не всегда сопровождается заметным (диагностическим) повышением уровня антиборрелиозных антител, частота выявления их достаточно низка и в первые несколько недель существования МЭ серологическое тестирование нередко даёт отрицательные результаты [23–25].

Частота выявления позитивного уровня антител сильно варьирует в зависимости от длительности существования МЭ. Так, по данным М.Е. Agüero-Rosenfeld и соавт. [23], в первые семь дней от появления МЭ диагностический уровень антител класса М выявляется с помощью ИФА только у 13% больных. Н. Hoffman к четвёртой неделе заболевания обнаруживал IgM-антитела в ИФА уже у 50% больных, а у пациентов с длительностью болезни более 1 месяца – в 80% случаев [24]. Антитела класса G начинают выявляться у пациентов с МЭ примерно к концу первого месяца болезни. По данным разных авторов, частота выявления антител класса G при МЭ колеблется от 8,3 до 52% [26, 27].

Таким образом, при однократном обследовании больных, имеющих разную длительность заболевания, результат теста может быть действительно негативным. Другими словами, отрицательный результат при однократном определении антиборрелиозных антител в ранней стадии заболевания не исключает диагноза ИКБ. В этот период болезни для постановки диагноза важнее наличие типичной мигрирующей эритемы и характерный эпидемиологический анамнез – присасывание клеща.

В отличие от чувствительности, специфичность использованной нами модификации ИФА достаточно высока – 95%, что позволяет рекомендовать его использование для скринингового обследования населения. В то же время 9% протестированных в ИФА доноров оказались серопозитивными по АТ к *Vb* при отсутствии каких-либо клинических проявлений Лайм-боррелиоза, что в определенной степени обусловлено высокой распространенностью ИКБ и значимой иммунной прослойкой населения в эндемичных регионах, к которому относится и Московский регион. Это говорит о том, что среди доноров достаточно много действительно инфицированных («истинно» позитивных) лиц. Это подтверждается тем фактом, что при исследовании образцов крови в ИФА достоверно чаще повышенный (выше пограничного) уровень антител выявлялся у доноров, укушенных клещами, по сравнению с донорами без контакта с клещами в анамнезе. Частота серопозитивности по антиборрелиозным АТ среди доноров, проживающих в Москве и Московской области, оказалась несколько ниже показателей серопозитивности доноров в среднем по России.

Заключение

Частота выявления антиборрелиозных антител среди здоровых лиц, проживающих в Москве и Московской области, составляет 6% (при использовании двухэтапной диагностики). При однократном обследовании у больных с разной длительностью ИКБ иммуноферментный анализ с полиспецифичной антисывороткой к иммуноглобулинам человека обладает ограниченными возможностями (мало чувствителен). Правильная трактовка положительных результатов тестирования зависит от того, располагает ли врач информацией о предшествующих контактах с клещами и детальным знанием анамнеза болезни. Специфичность примененной модификации ИФА оказалась весьма высокой у лиц без присасывания клещей в анамнезе, а применение иммуноблота существенным образом специфичность серодиагностики ИКБ не увеличило.

Литература

1. Baranton G., Postic D., Saint Groins L., Boerlin P. Delimitation of *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii* sp. nov., and group VS461 associated with Lyme borreliosis. *Int J Syst Bacteriol* 1992; 42:378-83.
2. Asbrink E., Hovmark A. Comments on the course and classification of Lyme borreliosis. *Scand J Infect Dis* 1991; 77:41-3.
3. Ананьева Л.П. Боррелиоз Лайма и его ревматические проявления [автореф докт дисс]. Москва: 1999.
4. Bunikis J., Olsen B., Westman G. Variable serum immunoglobulin responses against different *Borrelia burgdorferi* sensu lato species in a population at risk for and patients with Lyme disease. *J Clin Microbiol* 1995; 33:1473-8.
5. Hauser U., Krahl H., Peters H. Impact of strain heterogeneity on Lyme disease serology in Europe: comparison of enzyme-linked immunosorbent assays using different species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *J Clin Microbiol* 1998; 36:427-36.
6. Magnarelli L.A., Anderson J.F., Johnson R.S. Comparison of different strains of *Borrelia burgdorferi* sensu lato used as antigens in enzyme-linked immunosorbent assays. *J Clin Microbiol* 1994; 32(5):1154-8.
7. Nilsson I., von Rosen I.A.: Serum antibodies against *Borrelia afzelii*, *Borrelia burgdorferi* sensu stricto and 41-kiloDalton flagellin in patients from a Lyme borreliosis endemic area: analysis by EIA and immunoblot. *APMIS* 1996; 104:907-14.
8. Norman G.L., Antig G.M., Bigaignon G. Serodiagnosis of Lyme borreliosis by *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, and *B. afzelii* Western blots (Immunoblots). *J Clin Microbiol* 1996; 34:1732-8.
9. Пургаев Е.И., Опочинский Э.Ф., Арумова Е.А. Заболеваемость и лабораторная диагностика иксодовых клещевых боррелиозов в Российской Федерации. Материалы научно-практической конференции "Клещевые боррелиозы"; 2002 Ноябрь 19-21: Ижевск; 2002; с. 237-40.
10. Chmielewska-Badora J. Seroepidemiologic study on Lyme borreliosis in the Lublin region. *Ann Agric Environ Med* 1998;5:183-6.
11. Bazovska S., Machacova E., Spalekova M., Kontrosova S. Reported incidence of Lyme disease in Slovakia and antibodies to *B. burgdorferi* antigens detected in healthy population. *Bratisl Lek Listy* 2005; 106:270-3.
12. Lledó L., Gegúndez M.I., Saz J.V., Beltrán M. Screening of the prevalence of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in Madrid province, Spain. *Eur J Epidemiol* 2004; 19:471-2.
13. Bartůnek P., Mrázek V., Varejka P., et al. [Informational value of the prevalence of antiborrelia antibodies in a healthy and at risk population] [Article in Czech] *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2000; 49:4-10.
14. Carlsson S.A., Granlund H., Nyman D., Wahlberg P. IgG seroprevalence of Lyme borreliosis in the population of the Aland Islands in Finland. *Scand J Infect Dis* 1998; 30:501-3.
15. Robertson J.N., Gray J.S., MacDonald S., Johnson H. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in blood donors and park rangers in relation to local habitat. *Zentralbl Bakteriol* 1998; 288:293-301.
16. Rath P.M., Ibershoff B., Mohnhaupt A., et al. Seroprevalence of Lyme borreliosis in forestry workers from Brandenburg, Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15:372-7.
17. Santino I., Nicosia R., Sessa R., et al. Lyme disease seroprevalence in a region of central Italy. *New Microbiol* 1995; 18:391-8.
18. Huycke M.M., D'Alessio D.D., Marx J.J. Prevalence of antibody to *Borrelia burgdorferi* by indirect fluorescent antibody assay, ELISA, and western immunoblot in healthy adults in Wisconsin and Arizona. *J Infect Dis* 1992;165:1133-7.
19. Баранова Е.В., Штанников А.В., Колосова Н.В., и соавт. Селекция штаммов боррелий *Borrelia burgdorferi* sensu lato при создании тест-систем для серодиагностики болезни Лайма. Сб матер III Росс. науч. конф. с международным участием «Проблемы инфекционной патологии в регионах Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера»; Новосибирск, 2006, с. 184-5.
20. Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев В.В. Теория и практика иммуноферментного анализа, Москва, 1991; 288 с.
21. Манзенюк И.Н., Воробьева М.С., Арумова Е.А., и соавт. Препараты для серодиагностики заболеваний, вызываемых возбудителями иксодовых клещевых боррелиозов (болезни Лайма). Сообщение 1. Сравнительное изучение иммуноферментных тест-систем первого поколения, направленных на выявление антител к *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Антибиотики и химиотерапия* 2004; (6):10-4.
22. Конева О.А. Методы определения и клиническое значение антиборрелиозных антител при ревматических проявлениях болезни Лайма [автореф канд дисс]. Москва: 2003, 15с.
23. Agüero-Rosenfeld M.E., Nowakowski J., McKenna D.F. Serodiagnosis in early Lyme disease. *J Clin Microbiol* 1994; 32:860.
24. Hoffman H. Lyme borreliosis – problems of serological diagnosis. *Infection* 1996; 24:470-2.
25. Stanek G., Breier F., Menzinger G. Erythema migrans and serodiagnosis by enzyme immunoassay and immunoblot with three borrelia species. *Wien Klin Wochenschr* 1999; 10; 111:951-6.
26. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Recommendations for test performance and interpretation from the Second National Conference on Serologic Diagnosis of Lyme Disease. *Morb Mortal Wkly Rep* 1995; 11;44:590-1.
27. Flisiac I., Chodynnicka B. Antibodies against *Borrelia afzelii* in patients with an early stage of Lyme disease. *Wiad Lec* 2001; 54:19-25.