

## **Detección de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* en una muestra poblacional del Estado Zulia.**

Francisco Arocha-Sandoval\*, Alis Amesty-Valbuena\*, Marisela Urbina\*, Ana Irma Durango\*\*, Hernán Vargas-Montiel\*\*

\* Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. \*\* Servicios de Dermatología, Hospital Universitario de Maracaibo, Maracaibo-Venezuela.

**Palabras claves:** *Borrelia burgdorferi*, Elisa, Diagnóstico Serológico, Enfermedad de Lyme.

**Resumen.** Entre los meses de julio de 1992 y septiembre de 1993, se investigó la presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* en una población del Estado Zulia, Venezuela, con la finalidad de diagnosticar serológicamente la enfermedad de Lyme. Para ello se estudiaron 37 pacientes asintomáticos y 37 pacientes sintomáticos clínicamente sospechosos de la enfermedad (74 pacientes en total). Se practicó la prueba de ELISA para determinar anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi*. A los casos positivos, confirmados por duplicado, se les practicó VDRL, Monotest, Factor Reumatoideo y Anticuerpos Antinucleares para descartar falsos positivos. Se obtuvo un porcentaje de positividad global del 18,9% (14 de 74), siendo mayor (29,7%) en el grupo de pacientes sospechosos que en el grupo de personas asintomáticas (8,9%). El diagnóstico clínico más frecuente fue morfea (54,52%), y la mayor positividad serológica (54,5%) se obtuvo en los pacientes crónicos (más de 1 año de evolución). Un 45,5% de los pacientes sintomáticos presentaron anticuerpos a pesar de haber recibido tratamiento antibiótico. La mayoría de los casos positivos sintomáticos o no, presentaron el antecedente de visita o permanencia en áreas boscosas o rurales. Los resultados de este trabajo permiten demostrar la existencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* en una muestra de la población del Estado Zulia, tanto en los pacientes sospechosos como en los asintomáticos. Tales resultados abren el camino para diagnosticar definitivamente, mediante pruebas más específicas como el inmunoblot, la enfermedad de Lyme en nuestro medio.

## INTRODUCCION

La *Borrelia burgdorferi* es una espiroqueta del género *Borrelia* implicada como agente etiológico de la enfermedad de Lyme. (1, 5, 7, 8, 12, 15, 23, 25, 30, 31, 32, 36, 37, 39).

La enfermedad de Lyme es una entidad multisistémica pleomórfica que se transmite al ser humano por la picadura de garrapatas del género *Ixodes*. Aunque existen referencias vagas anteriores, es a partir de la epidemia ocurrida en la población de Lyme (Connecticut, U.S.A.) en 1975 (de donde toma su nombre) (1, 8, 37, 39), cuando ésta comenzó a ser estudiada sistemáticamente, diagnosticándose casos en Europa, Japón, Asia, Australia y Africa. En la única región del mundo en la cual hasta el momento no se han reportado casos de la enfermedad es la Antártida.(1)

Esta enfermedad ocurre principalmente en las áreas rurales o boscosas. La infección ocurre en el hombre por la picadura de la garrapata, la cual representa el vector o transmisor de la enfermedad(1). Se han descrito diferentes especies del género *Ixodes* como transmisores: en el Nor-Oeste de U.S.A., es el *Ixodes dammini*, en Europa es *Ixodes ricinus* (garrapata de la oveja), en California, el *Ixodes pacificus* y el *Ixodes persulcatus* en Asia (25, 37, 39). En nuestro país se han encontrado garrapatas del género *Ixodes* entre las cuales se encuentran las especies *Ixodes iatraellei*, *Ixodes toricatus* y el *Ixodes venezuelen-*

*sis* (27, 38) y que pudieran ser potenciales vectores de la enfermedad de Lyme. Se requiere de un huésped intermediario portador de la garrapata; en Estados Unidos los huéspedes son principalmente el ratón patas blancas y los venados silvestres, aunque se han encontrado espiroquetas en otros animales salvajes y algunos domésticos como caballos, ganado bovino, ovejas y perros (4, 32, 39).

La enfermedad de Lyme se presenta clínicamente en 3 etapas. La primera etapa (enfermedad temprana localizada) ocurre desde la picada del vector hasta las 3-4 semanas, en ella aparece una lesión eritematosa en la piel, que recibe el nombre de eritema migratorio crónico; esta lesión comienza típicamente como una mácula roja o una pápula, la cual se expande en varios días o semanas hasta formar una lesión redonda con una parte clara en el centro y que alcanza un tamaño aproximado de 5 cm, en un 60-80% de los pacientes y se acompaña de fiebre, malestar general, artralgias y linfadenopatías (1, 2, 8, 26, 37, 39).

La segunda etapa o enfermedad temprana diseminada (1, 8, 21, 37, 39), ocurre 1 a 2 meses después de la picadura, manifestándose con alteraciones del sistema nervioso central (meningitis, meningoencefalitis, parálisis de Bell, radiculitis sensitivas o motoras (20%)), afecciones cardíacas (bloqueo A-V completo transitorio (8%)), trastornos articulares, como un cuadro reumatológico parecido a la artritis reumatoidea juvenil (60%), y problemas ocu-

lares (uveítis, vasculitis retinal, neuritis óptica, oclusión de las arterias de la retina).

La tercera o última etapa aparece después de 1 año (enfermedad tardía o crónica) y es debida probablemente a fenómenos inmunológicos, presentándose artritis crónica de más de un año de evolución, especialmente en la rodilla. Pueden aparecer múltiples manifestaciones dérmicas como la acrodermatitis crónica atrófica, linfadenosis benigna cutis, liquen escleroso, morfea, hemiatrofia facial progresiva, infiltración linfocítica benigna y la fascitis eosinofílica (1,8,26,37,39). Finalmente pueden ocurrir psicosis, encefalitis multifocal, polineuritis y enfermedad desmielinizante. Se ha descrito la transformación fetal durante el primer trimestre del embarazo, produciendo aborto, y malformaciones cardíacas y neurológicas congénitas (37,39).

Aunque el diagnóstico definitivo de la enfermedad de Lyme puede hacerse por aislamiento y tinción de muestras de las lesiones de piel con colorantes de plata y por cultivo de muestras de macerado de piel, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial y sangre en el medio de Barbour-Stoener-Kelly modificado (6,7), estos métodos resultan muy complejos, costosos y tardíos, por lo que internacionalmente los criterios que se utilizan para el diagnóstico son de tipo clínico y serológico.

La respuesta serológica de anticuerpos en un paciente infectado por *Borrelia burgdorferi* está dirigida contra las diferentes fracciones an-

tigénicas de la bacteria, el antígeno flagelar 41 Kd y los antígenos de pared celular 34 Kd y 39 Kd que corresponden a las proteínas específicas de superficie (osp A y osp B) (14). Los primeros anticuerpos aparecen en la primera semana, son de tipo IgM y están específicamente dirigidos contra el antígeno 41 Kd flagelar, estos anticuerpos permanecen por 4 a 6 semanas (15). Para este momento ya se han formado los anticuerpos IgG dirigidos especialmente contra la fracción 34 Kd y 39 kd, alcanzan su pico a las 8 semanas y pueden persistir en el paciente indefinidamente (3,5,16,29).

Se han empleado varios procedimientos diagnósticos para determinar los anticuerpos producidos contra *Borrelia burgdorferi* en los pacientes sospechosos de enfermedad de Lyme. El primero fue el de la inmunofluorescencia, pero su sensibilidad es solo del 84% la cual es aún menor cuando se utilizan en la primera semana de la enfermedad; su especificidad aproximada es del 90% (1,11,31). Otro método ampliamente utilizado ha sido el de inmunodiagnóstico enzimático (ELISA), el cual posee una sensibilidad del 97% y una especificidad del 99% (1,31).

Se ha demostrado que los anticuerpos contra la *Borrelia burgdorferi* pueden dar reacciones cruzadas con otras enfermedades como el carate, la frambesia, la sífilis, el lupus eritematoso sistémico, la artritis reumatoide y otras enfermedades autoinmunes, mononucleosis infecciosa, fiebre recurrente, leptospi-

rosis y enfermedad de las montañas rocosas (12,22), lo cual ha originado diferencias entre los resultados obtenidos por una misma prueba en diferentes laboratorios (19,35), por lo que se han ensayado métodos más sensibles y específicos como el Inmunoblot (9, 24, 40) y la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) que presentan un 100% de especificidad y sensibilidad (17,20,23,33); este último método actualmente se encuentra en fase experimental y no está disponible comercialmente.

Tomando en consideración todos los aspectos relacionados con la enfermedad de Lyme y debido a que en el Estado Zulia, existen regiones boscosas y rurales donde habitan animales que pueden ser reservorios de la enfermedad como venados, roedores silvestres, etc., y también a que aquí se han descrito garrapatas del género *Ixodes*, así como el hecho de que muchos pacientes con patología dermatológica, neurológica, reumatológica u oftalmológica, son tratados sin tener un diagnóstico etiológico demostrado; se decidió investigar la presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* en un grupo de pacientes sintomáticos y en otro grupo aparentemente sano de la población del Estado Zulia, Venezuela, utilizando la prueba inmuno enzimática (ELISA), a fin de comparar estos resultados con los reportados en otras partes del mundo.

## MATERIALES Y METODOS

**Pacientes:** Para la realización de este trabajo se estudiaron 74 pacientes entre julio de 1992 y septiembre de 1993, los cuales se dividieron así:

**Grupo A:** 37 pacientes con síntomas sugestivos de la enfermedad de Lyme (24 femeninos y 13 masculinos) y cuyas edades oscilaron entre los 3 años y 68 años (media 28 años). Dichos pacientes provenían de la consulta de Dermatología, Servicio de Medicina Interna y Servicio de Oftalmología del H.U.M. y consulta de Neurología Pediátrica del Hospital Clínico y todos eran habitantes de la ciudad de Maracaibo.

**Grupo B:** Pacientes aparentemente sanos. Este grupo estuvo constituido por 37 personas tomadas al azar (24 femeninos y 12 masculinos) cuyas edades oscilaron entre 9 y 43 años (media 22 años), todos habitantes de la ciudad de Maracaibo.

A todos los pacientes estudiados se les llenó una encuesta para investigar signos y síntomas compatibles con enfermedad de Lyme, tiempo de evolución, tratamiento médico, y visita a regiones rurales o boscosas donde pudieran existir el vector y el reservorio de la enfermedad.

A cada paciente se le tomó una muestra de sangre la cual se centrifugó a 3.000 rpm por 15 min y el suero obtenido fue guardado a -70°C hasta el momento de ser procesado.

## Pruebas serológicas:

1. **ELISA:** La prueba de ELISA fue realizada utilizando el kit comercial del Laboratorio Cambridge Biotech, USA, el cual utiliza como antígeno, un extracto soluble de la cepa B-31 de *Borrelia burgdorferi*, siguiendo las especificaciones de esa casa comercial para la realización de la prueba.

Se consideró como prueba positiva todos los valores por encima del Valor Mínimo para la prueba (cut off) y como prueba negativa todo valor inferior al mismo.

Las pruebas que resultaron positivas se repitieron una vez más para reconfirmar su positividad.

2. **Otras pruebas:** Las muestras positivas al ELISA se sometieron a otras investigaciones serológicas tales como: VDRL según método convencional, Factor Reumatoideo por aglutinación con partículas de látex, Anticuerpos Antinucleares (ANA) por inmunofluorescencia, y Monotest por aglutinación con eritrocitos de caballo; todo ello con el propósito de descartar falsos positivos que pudieran presentarse por reacciones cruzadas con las siguientes entidades clínicas: Sífilis (VDRL), Enfermedades del Tejido Conectivo (Factor Reumatoideo y ANA) y Mononucleosis Infecciosa (Monotest).

Los datos obtenidos fueron analizados utilizando tablas de distribución de frecuencia y a través del método del chi cuadrado con un nivel de significancia  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS

En el grupo de 37 pacientes con manifestaciones clínicas sugestivas de enfermedad de Lyme (Grupo A) se obtuvieron 13 muestras positivas para la prueba de ELISA, de las cuales 2 muestras fueron eliminadas como falsos positivos, al obtenerse resultados positivos para Factor Reumatoideo y Anticuerpos Antinucleares, lo que nos conduce a un porcentaje de positividad del 29,7% (11 de 37). En cuanto al Grupo B (37 personas asintomáticas), se consiguió positividad en 4 muestras, de las cuales una fue descartada por presentar VDRL débil reactivo, lo que representa al final un porcentaje de 8,1% (3 de 37). El porcentaje de positividad para los dos grupos fue de un 18,9% (14 muestras positivas del total de 74 analizadas).

Cuando se compararon ambos grupos y se analizaron por el método de Chicuadrado, se obtuvo que el porcentaje de positividad del Grupo A es mayor que el del Grupo B de manera significativa ( $P < 0,05$ ) (Tabla I).

La Tabla II muestra las entidades clínicas estudiadas. La de mayor frecuencia fue la Morfea con un 54,5%, seguido de Meningitis con un 18,1%.

La Tabla III, muestra el tiempo de evolución de la enfermedad de los casos que resultaron ELISA positivos. El mayor porcentaje correspondió a enfermedad crónica Etapa III (más de 1 año de evolución) con un

**TABLA I**  
**RESULTADO DE LA PRUEBA DE ELISA EN PACIENTES CON**  
**SOSPECHA O NO DE ENFERMEDAD DE LYME.**

Pacientes	Prueba de ELISA		Total
	Positivo (%)	Negativo (%)	
Sintomáticos (Grupo A)	11 (29,7%)	26 (70,3%)	37
Asintomáticos (Grupo B)	3 (8,1%)	34 (91,9%)	37
<b>Total</b>	<b>14 (18,9%)</b>	<b>60 (81,1%)</b>	<b>74</b>

**TABLA II**  
**RELACION ENTRE POSITIVIDAD DE LA PRUEBA DE ELISA Y EL**  
**DIAGNOSTICO CLINICO SUGESTIVO DE ENFERMEDAD DE LYME.**

Diagnóstico	Prueba de ELISA			TOTAL
	Positivo	%	Negativo	
Morfea	6	54,5	8	14
Meningitis	2	18,1	5	7
Liquen Escleroso	1	9,0	4	5
Fascitis Eosinofílica	1	9,0	0	1
Hemiatrofia Facial Progresiva	1	9,0	1	2
Infiltración Linfocitaria	0	0	2	2
Uveítis	0	0	1	1
Artritis Crónica	0	0	5	5
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>100</b>	<b>26</b>	<b>37</b>

**TABLA III**

RELACION ENTRE POSITIVIDAD DE LA PRUEBA DE ELISA Y EL TIEMPO DE EVOLUCION DE LOS SINTOMAS SUGESTIVOS DE ENFERMEDAD DE LYME.

Etapas	Tiempo de evolución	Positividad de ELISA	%
I	Menos 1 mes	2	18,1
II	Menos 1 año	3	27,2
III	Más 1 año	6	54,5
Total		11	100.0

54.5%, comparado con las otras dos etapas.

Cuando se analizó el efecto del tratamiento con antibiótico en el resultado de la prueba de ELISA, se encontró que los porcentajes de positividad fueron aproximadamente iguales para los pacientes que recibieron antibiótico (45,5%) y los que no recibieron antibiótico 54,5% (Tabla IV).

En la Tabla V, aparece la relación existente entre la visita o permanencia de los pacientes sintomáti-

cos y asintomáticos en áreas rurales o boscosas, donde pudiera existir el vector y el reservorio de la enfermedad. En el Grupo A, el 90,9%, refirieron visitas frecuentes o permanencia en áreas sospechosas; mientras que en el Grupo B un 66,6% refirieron este antecedente.

#### DISCUSION

La determinación de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* es una

**TABLA IV**

ASOCIACION ENTRE POSITIVIDAD DE LA PRUEBA DE ELISA Y EL TRATAMIENTO ANTIBIOTICO RECIBIDO EN PACIENTES CON CLINICA SUGESTIVA DE ENFERMEDAD DE LYME.

Tratamiento	Positividad de la prueba de ELISA	%
Recibió tratamiento antibiótico	5	45,5
No recibió tratamiento antibiótico	6	54,5
Total	11	100.0

**TABLA V**

ASOCIACION ENTRE POSITIVIDAD DE LA PRUEBA DE ELISA (AMBOS GRUPOS) Y VISITA A REGIONES EXTRA URBANAS

Visitas a regiones extra urbanas	Sintomáticos (Grupo A)	%	Asintomáticos (Grupo B)	%	Total
Sí	10	90,0	2	66,6	12
No	1	9,1	1	33,4	2
Total	11	100	3	100	14

prueba diagnóstica para la enfermedad de Lyme. Esta parece ser una enfermedad cosmopolita, ya que se ha reportado prácticamente en todos los continentes (1). En Suramérica las investigaciones acerca de esta enfermedad son bastante recientes, solo aparece un estudio realizado en Perú en el año 1992 (28). En Venezuela es la primera investigación que se realiza en este sentido y cuyos resultados parecen confirmar la hipótesis de que sí en la región existen los potenciales vectores (*Ixodes iatraeli*, *Ixodes toricatus* e *Ixodes venezuelensis*) (27,38) y los posibles reservorios como venados, ratas salvajes, conejos salvajes, caballos, ganado bovino, perros, gatos, etc. (4,30,32) existe también la posibilidad cierta del desarrollo de la enfermedad de Lyme en la población de riesgo (personas que habitan o visitan regiones boscosas o rurales) (32). En efecto, los resultados de este estudio muestran la presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* (por método de ELISA) en el 18,9% del gru-

po de pacientes sintomáticos y asintomáticos; sin embargo al desglosar la positividad de los resultados en estos dos grupos estudiados se encontró que en el grupo sintomático la positividad fue mayor (29,7%) en comparación con el grupo asintomático (8,1%). Estos últimos resultados difieren significativamente de los reportados por Need y col. (28) en el estudio del Perú (0,9% de positividad), para lo cual no podemos encontrar explicación por los pocos datos aportados en el estudio peruano y que pudieran servirnos de comparación.

Sin embargo nuestros resultados son bajos comparados con los obtenidos por Arimitsu y col. (3) en Japón en 1989 quienes obtuvieron una incidencia del 62%, en pacientes con enfermedad de Lyme y 13%, en personas sanas, porcentaje parecido al obtenido por Grodzicki y col. (15) en 1983 (New Haven, Connecticut, U.S.A.) en un 60% de pacientes sintomáticos. La diferencia de los resultados obtenidos en estos dos estudios comparados con los

resultados de la presente investigación podrían explicarse por el hecho de que los criterios clínicos de inclusión de los pacientes en este estudio fueron más amplios que los de estos investigadores de Japón y U.S.A., quienes estudiaron solamente pacientes con lesiones dermatológicas (eritema migratorio crónico), antecedentes de exposición a la garrapata y el hecho de habitar en un área de incidencia de enfermedad de Lyme.

Con respecto al porcentaje de positividad en la población asintomática (8,1%) es similar al reportado por otros autores como Huycke y col. (18) quienes en un estudio realizado en Wisconsin (U.S.A.), encontraron una prevalencia que varió del 7% al 12%; sin embargo en otras regiones como California y en el Noroeste de Estados Unidos, la prevalencia de anticuerpos puede ser tan alta como del 74%. En Europa (Alemania), se ha reportado una prevalencia baja, del 5,4% (1). Los reportes anteriormente mencionados se basaron en la prueba de Inmunoblot, la cual es más específica que el método de ELISA para evaluar personas asintomáticas ya que se reportan altos porcentajes de falsos positivos con ELISA (6-8%) (18).

En relación con las manifestaciones clínicas, las dermatológicas (Morfea, Liquen escleroso, Fascitis Eosinofílica y Hemiatrofia Facial progresiva) y las neurológicas (Meningitis), predominaron sobre las reumatológicas (Artritis crónica); este patrón concuerda con las ma-

nifestaciones clínicas predominantes de la enfermedad en Europa, a diferencia de los Estados Unidos, donde predominan las manifestaciones reumatológicas (8) (39).

Tal vez las variaciones antigénicas en la estructura de la *Borrelia burgdorferi* pueden explicar estos hallazgos, así Masuzawa y col. (25) usando anticuerpos monoclonales, demostraron que hay diferencias antigénicas significativas con respecto a la proteína de superficie OSP B entre las cepas de *Borrelia burgdorferi* Japonesas, Americanas y Europeas. El hallazgo más importante en este sentido lo realizaron Marconi y Garon (24), quienes usando el método de Reacción de Cadena de la Polimerasa (PCR), específicamente el nucleótico 16S rRNA, demostraron que existían suficientes diferencias entre 22 cepas *Borrelia burgdorferi* implicadas en enfermedades de Lyme. Ellas podían ser separadas en tres diferentes subgrupos: la VS-219 que continua llamándose *Borrelia burgdorferi* B-31, la R-IP90 llamada *Borrelia garinii* y la VS461 que no tiene nombre hasta el presente.

Probablemente las diferencias regionales reportadas se deban a que la infección es producida por subgrupos o cepas diferentes de *Borrelia*, este punto es todavía controvertido. En estudios posteriores debe investigarse sobre la antigenicidad de las *Borrelias* productoras de la enfermedad de Lyme en nuestra región, a fin de tener una idea más clara del problema.

En cuanto a las otras manifestaciones clínicas no se obtuvieron casos positivos de pacientes con el diagnóstico clínico de uveítis. Ro-sembaun y col. (34), reportan también una incidencia de 0% de positividad en 84 pacientes con uveítis lo que pone en tela de juicio la enfermedad de Lyme como posible etiología de la uveítis (34).

Llama la atención que ninguno de los pacientes refirió haber presentado eritema migratorio crónico. Diversos autores refieren la falta de ese síntoma inicial en un 25% a un 30% de los pacientes (1,5).

Cuando se analizó la positividad de la prueba con respecto al tiempo de evolución de la enfermedad, se observó que la mayor positividad (54,5%) se obtuvo en los pacientes con enfermedad tardía, crónica o de Fase III (más de 1 año de evolución), disminuyendo a un 27,2% en la enfermedad temprana diseminada, Fase II (menos de 1 año) y a 18,1% en la enfermedad temprana, aguda o de Fase I (menos de 1 mes); ésto se explica porque los anticuerpos de tipo IgM son más fácilmente detectables comenzando a la segunda semana de la enfermedad alcanzando su pico entre la cuarta y sexta semana. La elevación de los anticuerpos IgG, y por tanto su detección, comienza en la sexta semana, su pico es a la octava semana y persiste por años. Esta respuesta indica que la detección de anticuerpos de la clase IgG es más fácil en las etapas tardías y crónica de la enfermedad que en la etapa inicial, lo cual dificulta hacer el diagnóstico de enfer-

medad temprana, por lo cual, se hace obligatorio hacer el estudio complementario para la detección específica de IgM en los casos de enfermedad aguda. (1, 3, 5, 6, 10, 11,14, 15, 16, 17, 23, 31, 33, 36, 37, 39).

La relación entre tratamiento antibiótico y positividad de la prueba para detectar anticuerpos ha sido estudiada, encontrándose que el empleo de antibiótico no tiene efecto sobre el desarrollo de los anticuerpos. En este estudio se encontró que el 45,5% de los pacientes presentaban anticuerpos a pesar de haber recibido tratamiento antibiótico. Tales resultados concuerdan con los obtenidos por Faden y col. (13), quienes en 31 pacientes con diagnóstico de enfermedad de Lyme tratados con antibióticos, 26 (83%), continuaban presentando niveles positivos de IgM e IgG, detectados por ELISA, después de 36 meses de seguimiento, pero contradice los resultados obtenidos por Lebech y col. (20) quienes estudiaron 10 pacientes con neuroborreliosis tratados con antibióticos y luego de 8 meses a 5 años, al determinar niveles de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* en orina y LCR, ellos resultaron todos negativos.

El hecho de visita o permanencia en áreas boscosas o rurales, es de gran importancia en la enfermedad de Lyme. En el presente trabajo se encontró que el 90,9% de los pacientes sintomáticos y el 66,69% de los pacientes asintomáticos tenían el antecedente epidemiológico de haber visitado o permanecido en

tales áreas, hallazgos que concuerdan con otras publicaciones. (1,8,31,36,37 y 39).

Los resultados obtenidos en la presente investigación son los primeros que se reportan en nuestro país, indicativos de la existencia de *Borrelia burgdorferi* y enfermedad de Lyme en Venezuela.

#### AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) de la Universidad del Zulia.

#### ABSTRACT

**Detection of antibodies against *Borrelia burgdorferi* in a sample population from Zulia State, Venezuela.** Arocha-Sandoval, F. (Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela). Amesty de Valbuena, A., Urbina, M., Durango A.I., Vargas Montiel, H. *Invest Clin* 35(2): 91- 104, 1994.

**Key words:** *Borrelia burgdorferi*, Elisa, Serological Diagnostic, Lyme disease.

Between July 1992 and September 1993 an investigation was carried out in a population of Zulia State, Venezuela, in order to detect antibodies against *Borrelia burgdorferi* for the diagnosis of Lyme disease. A total of 74 patients were studied: 37 asymptomatic and 37 patients clinically suspected having

the disease. ELISA tests were performed to determine antibodies against *Borrelia burgdorferi*. The positive cases, confirmed by duplicate, were tested with VDRL, Monotest, Rheumatoid Factor and Antinuclear Antibodies to eliminate false positives. The total positive cases were 14 of 74 (18,9%). Positive cases in the symptomatic group (29,7%) were higher than in the asymptomatic group (8,9%). The most frequent clinical diagnosis was Morfea (54,5%). The major serological diagnosis (54,32%) was obtained from the chronic patients (more than a year of evolution). A 45,5% of symptomatic patients presented antibodies, despite of receiving antibiotic treatment. Most of the symptomatic positive cases, and also the asymptomatic cases, had a previous visit or permanence in forestal or rural areas. The results of this investigation prove the existence of antibodies against *Borrelia burgdorferi* in the population of Zulia State, both in the symptomatic as well as in the asymptomatic patients. These results open the path to use a more specific test. like immunoblot, for the diagnosis of Lyme disease in our area.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- ABELE D.C., ANDERS K. The many faces and phases of Borreliosis I Amer Acad Dermatol 23: 167-186, 1990.

- 2- ABELE D.C., ANDERS K. The many faces and phases of Borreliosis II Amer Acad Dermatol 23: 401-410, 1990.
- 3- ARIMITSU Y., YAKASHIMA I., YOSHII Z et al: Application of the microcapsule agglutination test to serologic studies of an early stage of Lyme Disease in Japan. J. Infect Dis 163: 682-683, 1991.
- 4- BARTHOLD S., MOODY K., TERWILLIGER G., DURAY P., JACOBSON R., STEERE A.: Experimental Lyme Arthritis in rats infected with *Borrelia burgdorferi*. J. Infect Dis 4: 842-845, 1988.
- 5- BERARDI V., WEEKS K., STEERE A.: Serodiagnosis of early Lyme diseases: Analysis of IgM and IgG antibody responses by using an antibody - capsule enzyme Immunoassay. J. Infect Dis 158: 754-759, 1988.
6. BERG D., AB K.G., PROSE N.S.: The laboratory diagnosis of Lyme Disease Arch Dermatol 127: 866-869, 1991.
- 7- BERGER B., JOHN R., KODNER C., COLEMAN L.: Cultivation of *Borrelia burgdorferi* from erythema migrans lesions and perilesional skin. J Clin Microbiol 2: 359-361, 1992.
- 8- BERGER B., LESSER R.: Lyme disease. Dermatologic Clinics, 10(4): 763-773, 1992
- 9- BIGMAN M.A., CHRISTEN B., LEUNG D., VIGOPELFREY C.: Serodiagnosis of Lyme Borreliosis by western immunoblot: Reactivity of various significant antibodies against *Borrelia burgdorferi*. J Clin Microbiol 30(2): 370-376, 1992.
- 10- CALLISTER S., SCHELL R., LOVRICH S.: Lyme disease assay which detects killed *Borrelia burgdorferi*. J Clin Microbiol 29(9): 1773-1776, 1991.
- 11- CEVENINI R., SAMBRI V., et al: Surface immunofluorescence assay for diagnosis of Lyme disease. J Clin Microbiol 30(9): 2456-2461, 1992.
- 12- COLEMAN J., BENACH J.: Characterization of antigenic determinants of *Borrelia burgdorferi* shared by other bacteria. J Infect Dis 165: 658-666, 1992.
- 13- FADER H., GERBER M., LUGER S., RYAN R.: Persistence of serum antibodies to *Borrelia burgdorferi* in patients treated for Lyme disease. Clin Infect Dis 15: 788-793, 1992.
- 14- FIKRIG E., HUGVENEL E., BERLAND R., RAHN D., HARDI J., FLAVELL R.: Serologic diagnosis of Lyme disease using Recombinant outer surface proteins A and B and Flagellin. J Infect Dis 165: 1127-1132, 1992.
- 15- GRODZICKI R., STEERE A.C.: Comparison of immunoblotting and indirect enzyme - Linked immunosorbent assay using different antigen preparations for diagnosing early Lyme disease. J Infect Dis 157: 790-796, 1988.
- 16- HENSEN K., PII K., LEBECH A.: Improved Immunoglobulin M serodiagnosis in Lyme Borreliosis by using capture enzyme - Linked immunosorbent assay with Biotinylated *Borrelia burgdorferi* flagella. J Clin Microbiol 29: 166-173, 1991.

- 17- HOFMEISTER E., MARKHAM R., CHILDS J., ARTHUR R.: Comparison of Polymerase chain reaction and culture for detection of *Borrelia burgdorferi* in naturally infected peromyscus leucopus and experimentally infected C.B. -17 scid/scid mice. J Clin Microbiol 30(10): 2625-2631, 1992.
- 18- HUYCKE M., D'ALESSIO D., MARX J. Prevalence of antibody assay, Elisa and Western Immunoblot in Healthy adults in Wisconsin and Arizona. J Infect Dis 165: 1133-1137, 1992.
- 19- LANE R.S., LENNETTE E.T., MADIAN J.E.: Interlaboratory and Intralaboratory comparison of indirect immunofluorescence assays for serodiagnosis of Lyme disease. J Clin Microbiol 28: 1774-1779, 1990.
- 20- LEBECH A., HANSEN K.: Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in urine samples and cerebrospinal fluid samples from patients with early and late Lyme Neuroborreliosis by Polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 30(7): 1646-1653, 1992.
- 21- LIGHTMAN D., BROD R.: Branch Retinal arteryocclusion associated with Lyme disease. Arch Ophthalmol 109: 1148-1199, 1991.
- 22- MAGNARELLI L., ANDER J.F., JOH R.C.: Cross Reactivity in serological test for Lyme disease and other spirochetal infections. J Infect Dis 156: 183-187, 1987.
- 23- MALLOY D', NAUMAN R., PAXTON H.: Detection of *Borrelia burgdorferi* using the polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 28(6): 1089-1093, 1990.
- 24- MARCONI R., GARON C.: Development of Polymerase chain reaction primer sets for diagnosis of Lyme disease and for species specific identification of Lyme disease isolates by 16s rRNA signature nucleotide analysis. J Clin Microbiol 11: 2830-2834, 1992.
- 25- MASUZAWA T., OKADA Y., YANAGIHARA Y., SATO N.: Antigenic properties of *Borrelia burgdorferi* isolated from *Ixodes ovatus* and *Ixodes persulcatus* in Hokkaido, Japan. J Clin Microbiol 29(8): 1568-1573, 1991.
- 26- MELANE M., GRANT-KELS J., et al: Diagnosis of Lyme disease based on dermatologic manifestations. Ann Inter Med 114: 490-498, 1991.
- 27- MENDEZ A.M., ORTIZ I.: Revisión de las garrapatas venezolanas del género *Ixodes iatrelle*. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle XVIII. 51: 196-208, 1958.
- 28- NEED J.T., ESCAMILLA J.: Lyme disease in South America. J Infect Dis 163: 681-982, 1991.
- 29- NEL J., BANKOWKI M., NEWTON B., et al: Detection of Antibodies in late Lyme disease. J Infect Dis 161: 1034-1035, 1990.
- 30- PAVIN CH., RISSEL V., BITTKEN S., CABELLO F., LEWINE S.: Antiborrelial Activity of serum from rats infected with the Lyme disease spirochete. J Infect Dis 163: 656-659, 1991.
- 31- RAHN D., MALAWISTA S.E.: Lyme disease. Recomendations for

- diagnosis and treatment. *Ann Int Med* 114: 472-481, 1991.
- 32- RAND P., SMITH R., LACAMBEE.: Canine seroprevalence and the distribution of *Ixodes damini* in an area of emerging Lyme disease. *Amer J Pub Health* 81(10): 1331-1334, 1991.
- 33- ROSA P., SCHWAN T.: A specific and sensitive assay for the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi* using the Polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 160: 1018-1028, 1989.
- 34- ROSENBAUM J., RANN D.: Prevalence of Lyme disease among patients with uveitis. *Amer J Ophthalmol* 112(4): 462-463, 1991.
- 35- SCHAWARTZ B., GOLDSTEIN M., et al: Antibody testing in Lyme disease: a comparison of results in four laboratories. *JAMA*. 262: 3431-3434, 1989.
- 36- SEGURA - PORTA F., BENACH J.L.: Aspectos etiopatogénicos de la enfermedad de Lyme. *Enfermedad Infecciosa y Microbiología Clínica* 10(5): 302-306, 1992.
- 37- STEERE A.C.: Lyme disease. *New Engl J Med* 321: 586-594, 1989.
- 38- VOGELSANG E.G., TRAVASSOS D.J.: Nueva contribución al estudio de la Fauna Ixodológica en Venezuela. *Rev Méd Veter Parasitol* XII (1-4): 63-89, 1953.
- 39- WILLIAMS D.N., SCHNED E.S.: Lyme disease. *Post Grad Med* 87.6: 137-146, 1990.
- 40- ZOLLER L., BORKARD S., SCHAFER H.: Validity of western immunoblot band patterns in the serodiagnosis of Lyme Borreliosis. *J Clin Microbiol* 29: 174-182, 1991.