

Reactividad humoral contra *Borrelia burgdorferi* en pacientes con enfermedades dérmicas y reumáticas

Armando Muñoz, John Jairo Orrego, Mónica Salazar, Diego Jaramillo, Fernando Montoya, Oscar Uribe, Andrés Jaramillo

La enfermedad de Lyme (EL) es, después del síndrome de inmunodeficiencia adquirida, la enfermedad infecciosa más estudiada en los Estados Unidos de América (EUA). En Colombia sólo se ha hecho una publicación de casos reumatológicos seropositivos para *Borrelia burgdorferi*.

Con el objeto de ampliar la información sobre la entidad en nuestro medio, se realizó un estudio prospectivo en individuos con afecciones dérmicas y reumáticas sugestivas de EL, según los criterios del Centro de Control de Enfermedades Infecciosas de EUA, que consultaron a los servicios respectivos del Hospital Universitario San Vicente de Paul de Medellín.

Se incluyeron 31 pacientes de los cuales 23 tenían enfermedades dérmicas y ocho enfermedades reumáticas. A todos se les determinó la inmunoglobulina G sérica contra tres proteínas de la membrana ex-

terna de *B. burgdorferi*, p100, p41 y p41/l. En todos los pacientes se buscaron anticuerpos anticardiolipina mediante la prueba de VDRL. En 19 pacientes con enfermedades dérmicas se practicaron biopsias cutáneas para la investigación de la espiroqueta mediante la coloración de Warthin-Starry. Sólo se encontró un paciente con morfea localizada con reactividad serológica positiva para *B. burgdorferi* (reactividad para las tres proteínas de membrana), VDRL no reactivo, tinción de Warthin-Starry negativa y sin antecedentes de picadura de garrapata. En otros siete pacientes con morfea localizada y en tres con cuadros reumáticos, la reactividad serológica fue sugestiva (reactividad débil o incompleta). Los resultados obtienen en este estudio sugieren la existencia de EL en Colombia. Se requieren estudios adicionales para aislar el microorganismo, tanto de pacientes como de vectores y definir el comportamiento eco-epidemiológico de la enfermedad en Colombia.

Introducción

La enfermedad de Lyme (EL) fue descrita en 1977 como enfermedad multisistémica por Steere y colaboradores (1). Esta entidad es, después del síndrome de inmunodeficiencia adquirida, en la actualidad la enfermedad infecciosa más estudiada en los Estados Unidos de América (EUA). La EL se define como una entidad infecciosa que afecta varios órganos, principalmente la piel, las articulaciones, el corazón y el sistema nervioso. Es transmitida por garrapatas del género *Ixodes* cuyos huéspedes naturales son el venado de cola blanca y otros mamíferos pequeños y cuya picadura inocula la espiroqueta *Borrelia burgdorferi*, agente causal de la enfermedad (2-4). La EL ha sido descrita principalmente en el hemisferio norte,

Dr. Armando Muñoz Calle: Residente, Sección de Dermatología, Departamento de Medicina Interna; Dr. John Jairo Orrego Beltrán: Residente, Sección de Dermatología, Departamento de Medicina Interna; Dra. Mónica Salazar Soto: Residente, Sección de Dermatología, Departamento de Medicina Interna; Dr. Diego Jaramillo Jaramillo: Profesor y Jefe, Sección de Dermatología, Departamento de Medicina Interna; Dr. Fernando Montoya Maya, MSc: Profesor, Departamento de Microbiología y Parasitología; Dr. Oscar Uribe Uribe: Profesor y Jefe, Sección de Reumatología, Departamento de Medicina Interna; Dr. Andrés Jaramillo Ramírez, PhD: Profesor, Sección de Virología, Departamento de Microbiología y Parasitología. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (Pecet), Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

aunque se han informado casos en Africa y América Latina (5). En Suramérica son escasos los informes sobre la enfermedad; el primer caso se publicó en Brasil en 1993 (6) y en ese mismo año en Argentina se publicaron las historias de tres agricultores con molestias articulares y serología positiva con títulos de IgG específica entre 1:160 y 1:320 e IgM de 1:40 (7). Adicionalmente, en Perú se han identificado varias de las especies de garrapatas reconocidas como vectores primarios de la entidad (8). En Colombia se han informado pacientes con espondiloartropatías seronegativas y oligoartritis indiferenciadas, seropositivos para *B. burgdorferi* (9). Recientemente se confirmó serológicamente la EL en Colombia en un paciente con *eritema migrans* (Dra. A. Zuluaga, Instituto de Ciencias de la Salud, CES, Medellín, comunicación personal). Dados los escasos informes sobre esta enfermedad en Colombia, realizamos una encuesta serológica en pacientes con enfermedades dérmicas y reumáticas con síntomas clínicos sugestivos de EL según el Centro de Control de Enfermedades Infecciosas (CDC) de EUA.

Material y métodos

Pacientes

Se incluyeron 31 pacientes, 23 (74%) con afecciones dérmicas y ocho (26%) con afecciones reumáticas que presentaban una o más de las siguientes entidades sospechosas de EL propuestas por el CDC-EUA (10):

- 1) Paciente con *eritema migrans*,
- 2) Casos de acrodermatitis crónica atrófica, linfocitoma cutis, infiltración linfocítica benigna, morfea, liquen escleroso y atró-

fico, atrofoderma de Passini y Pierini, hemiatrofia facial progresiva y fascitis eosinofílica, confirmados por histopatología,

- 3) Pacientes reumático con episodios breves y recurrentes de mono o poliartritis.

Se excluyeron pacientes con manifestaciones del sistema nervioso y cardiovascular.

En 19 pacientes con afecciones dérmicas se realizaron biopsias cutáneas para la detección de *B. burgdorferi* mediante la coloración de Warthin-Starry. A todos los pacientes se les determinaron los anticuerpos anticardiolipina mediante la prueba de VDRL.

Detección de inmunoglobulina G (IgG) sérica contra antígenos de membrana de *B. burgdorferi*.

A todos los pacientes se les realizó evaluación serológica mediante inmunoblot para IgG sérica específica contra tres proteínas recombinantes de la membrana exterior de *B. burgdorferi*, p100, p41 y p41/l (Mikrogen, Munich, Alemania). Los sueros de los pacientes se almacenaron a -70°C hasta la ejecución de la prueba. Las membranas de nitrocelulosa en las cuales se encontraban las proteínas recombinantes de la membrana celular de *B. burgdorferi* se incubaron en presencia de los sueros problema y los sueros controles positivo, débilmente positivo y negativo (1:200). Posteriormente, las membranas se lavaron y se incubaron en presencia de anti-IgG humana conjugada a peroxidasa (1:1000). Después de repetir el lavado, las membranas se incubaron con el sustrato peróxido de hidrógeno (H₂O₂), en presencia de diaminobenzidina. Pasados 25 minutos, se detuvo la reacción y se procedió a leer el

patrón de bandas que registraron cada una de las membranas incubadas en presencia de los diferentes sueros controles y los sueros problema. La intensidad de las bandas se evaluó de acuerdo con el siguiente sistema:

- (-) = Ausencia de reactividad.
- (+/-) = Reactividad menor que la del suero control débilmente positivo.
- (+) = Reactividad igual a la del suero control débilmente positivo.
- (++) = Reactividad mayor que la del suero control débilmente positivo.

Los resultados de la prueba se consignaron como negativos, sugestivos o positivos de acuerdo al siguiente sistema:

Ausencia de bandas: Negativo.
Banda p41 con intensidad (+/-) ó (+): Negativo.

Bandas p100 o p41/l con intensidad (+/-): Negativo.

Banda p41 con intensidad (++) Sugestivo.

Bandas p100 o p41/l con intensidad (+) o (++) Sugestivo.

Dos o más bandas con intensidad (+/-): Sugestivo.

Dos o más bandas con intensidad (+) o (++) Positivo.

Resultados

De los 23 pacientes con enfermedades dérmicas, 18 tenían morfea, dos liquen escleroso y atrófico, dos linfocitoma cutis y uno cambios esclerodermiformes. Ningún paciente presentó *eritema migrans*, lesión característica de la EL.

De los ocho pacientes con enfermedades reumáticas, cuatro presentaron artritis reumatoidea juvenil, dos artritis reumatoidea seronegativa, uno síndrome de Reiter y uno poliartritis inespecífica.

Proteínas				
Paciente	p100	p41	p41/1	Resultado
1. Morfea	-	-	-	Negativo
2. Morfea	-	-	-	Negativo
3. Morfea	+/-	++	++	Positivo
4. LEA*	-	+	-	Negativo
5. CA†	-	-	-	Negativo
6. Morfea	+/-	++	-	Sugestivo
7. Morfea	-	+/-	-	Negativo
8. Morfea	-	-	-	Negativo
9. LC%	+/-	-	-	Negativo
10. LC	-	+/-	-	Negativo
11. M. Sable	-	+	-	Negativo
12. Morfea	-	+/-	-	Negativo
13. M. Sable	-	+/-	-	Negativo
14. Morfea	-	++	-	Sugestivo
15. Morfea	+/-	++	-	Sugestivo
16. Morfea	-	+/-	-	Negativo
17. Morfea	+/-	+	-	Sugestivo
18. Morfea	-	-	-	Negativo
19. Morfea	-	-	-	Negativo
20. Morfea	-	++	-	Sugestivo
21. Morfea	-	++	-	Sugestivo
22. LEA	-	-	-	Negativo
23. Morfea	+/-	+	-	Sugestivo
24. S. Reiter	-	++	-	Sugestivo
25. ARJ\$	-	-	-	Negativo
26. ARJS #	+/-	+/-	+/-	Sugestivo
27. ARJ	-	-	-	Negativo
28. PS&	-	+/-	-	Negativo
29. ARJ	-	-	-	Negativo
30. ARJS	-	-	-	Negativo
31. ARJ	-	+/-	+/-	Sugestivo
* Liquen escleroso y atrófico				
† Cambios esclerodermiformes				
% Linfocitoma cutis				
\$ Artritis reumatoide juvenil				
# Artritis reumatoide juvenil seronegativa				
& Poliartritis simétrica				
M Morfea				

Tabla 1. IgG sérica contra proteínas de membrana de *Borrelia burgdorferi* en pacientes con afecciones dérmicas y reumáticas

Veintidós pacientes provenían del área urbana de diferentes municipios del departamento de Antioquia y sólo nueve vivían en áreas rurales del departamento. Todos negaron antecedentes de picadura de garrapata. En ningún caso se detectó la presencia de la *B. burgdorferi* en las biopsias cutáneas coloreadas con Warthin-Starry. El VDRL sólo fue reactivo en un paciente con linfocitoma cutis (cuatro diluciones) el cual presentó serología negativa para *B. burgdorferi*.

Únicamente se encontró un caso con inmunoblot positivo, se trataba de una mujer de 18 años de edad, residente en área rural, sin antecedentes de picadura de garrapata, con morfea localizada de un año de evolución, VDRL no reactivo y coloración de Warthin-Starry negativa. En otros siete individuos con morfea el inmunoblot fue sugestivo de infección. En un caso de síndrome de Reiter, uno de artritis reumatoide juvenil y uno de artritis reumatoide seronegativa, el inmunoblot también fue sugestivo de infección (Tabla 1). Se observó que 19 de 31 sueros fueron reactivos para la proteína p41, 7 de 31 para la p100 y 3 de 31 para la p41/1. La intensidad de las bandas fue débil para la p100 (+/-), muy variable para la p41 y un solo caso intenso para la p41/1 (++), el del paciente con morfea localizada seropositiva (Tabla 1).

Discusión

Comprobar la presencia de EL en nuestro medio sólo es posible demostrando la existencia de la *B. burgdorferi* en alguno de los tejidos de los pacientes afectados, aislándola por cultivo *in vitro* o identificándola mediante

el uso de inmunohistoquímica o de técnicas de la reacción de polimerasa en cadena (PCR). Por otro lado, es necesario hallar el vector o vectores que, infectados por la espiroqueta, fuesen capaces de mantener un ciclo de infección, usando como huéspedes transitorios animales propios de nuestro hábitat. Ya se han realizado estudios preliminares buscando esta espiroqueta en garrapatas de varias zonas del país con resultados negativos hasta el momento (Dr. M. Restrepo, Instituto de Medicina Tropical, Medellín. Comunicación personal). Sin embargo, el haber permanecido a la expectativa de reconocer clínicamente la enfermedad en sus manifestaciones más típicas, permitió la descripción reciente del primer caso autóctono, en un paciente con *eritema migrans*, el cual se comprobó mediante pruebas serológicas (Dra. A. Zuluaga. Comunicación personal).

De todos los trastornos dermatológicos hallados en nuestros pacientes, solamente el linfocitoma cutis es considerado una manifestación confirmada de EL, en tanto que la morfea y el liquen escleroso y atrófico, sólo recientemente han sido incluidos como manifestaciones sospechosas de la entidad, debido al hallazgo de la *B. burgdorferi* mediante cultivo, técnicas de inmunohistoquímica y biopsia en pacientes con estas manifestaciones (11, 12). Ningún paciente presentó *eritema migrans*, la lesión característica de la enfermedad, usada en áreas endémicas como marcador de la misma.

Los casos reumáticos incluidos en el estudio integran un grupo de pacientes con oligo o poliartritis crónicas o recidivantes en

los cuales el diagnóstico es una aproximación clínica y cuya etiología podría ser una infección por *B. burgdorferi* que sólo podría comprobarse por el aislamiento de la *Borrelia* o por la detección de fragmentos antigénicos a nivel del líquido o la membrana sinovial de las articulaciones comprometidas.

La prueba serológica usada más a menudo para el diagnóstico de infección por *B. burgdorferi* es ELISA, que a pesar de las modificaciones que se le han realizado con el fin de mejorar su sensibilidad y especificidad, sigue presentando deficiencias debido a la falta de estandarización, la presencia de resultados falsos positivos (0 a 27%) y falsos negativos (27 a 87%) (13) y la variación inter e intralaboratorio. El inmunoblot es usado en la mayoría de los casos como prueba confirmatoria en pacientes con cuadros atípicos o en casos aislados, encontrándosele un valor predictivo positivo de sólo 50% al inicio de la enfermedad, pero que aumenta hasta 80% en fases tardías (14). En la técnica de inmunoblot que empleamos se usaron proteínas recombinantes altamente específicas para *B. burgdorferi*, como la p100 que no presenta reacción cruzada ni en pacientes con sífilis y es positiva en casos de EL en fase tardía. Otros antígenos como la p41 presentan menor especificidad ya que tiene reacción cruzada con varias proteínas encontradas en otras bacterias (13,15); por este motivo, el criterio de positividad para estos antígenos es más exigente.

Es importante anotar que existe la posibilidad de que las proteínas antigénicas de *B. burgdorferi* presente en nuestro medio pue-

dan diferir de las proteínas antigénicas de las cepas presentes en Europa y Norteamérica y en consecuencia producir un descenso en el porcentaje de positividad obtenida en nuestros casos.

Teniendo en cuenta la gran especificidad de los anticuerpos de clase IgG contra la p100 de membrana de *B. burgdorferi* y el hecho de que siete de los pacientes presentaron reactividad contra esta proteína, pensamos que éstos podrían corresponder a casos de EL tardía. Adicionalmente, con el conocimiento del caso autóctono comprobado de EL durante la fase temprana (Dra. A. Zuluaga. Comunicación personal), el informe de nueve casos de pacientes con oligoartritis indiferenciadas y espondiloartropatías seronegativas en los cuales se demostraron por ELISA anticuerpos contra *B. burgdorferi* (9), los diez pacientes con diagnóstico serológico sugestivo de EL y el caso clínico de morfea serológicamente positivo encontrados en este estudio, creemos que hay suficiente evidencia de la existencia de la EL en Colombia y se justifica la búsqueda de vectores y reservorios y la identificación de cepas autóctonas de *B. burgdorferi* para desarrollar métodos diagnósticos de alta sensibilidad y especificidad para la detección de nuestros propios casos.

Summary

Lyme disease (LD) is the most studied infectious disease in the United States of America (USA) second only to the acquired immunodeficiency Syndrome. There is only one report in Colombia of several cases of

rheumatological diseases with a positive serological reactivity to *Borrelia burgdorferi*. With the purpose of gaining additional information of this disease in Colombia, we carried out a prospective study in individuals with rheumatological and dermatological disease suggestive of LD according to the criteria of the Center for Disease Control in United States.

A total of 31 patients were included in the study, 23 had dermatological diseases and 8 had rheumatological diseases. Immunoglobulin G humoral reactivity against 3 *B. burgdorferi* external membrane proteins (p100, p41 and p41/1) was determined. Anti-cardiolipin antibodies were determined in all patients by means of the VDRL test. The Warthin-Starry stain was performed in skin biopsies from 19 patients with dermatological diseases in order to identify the presence of the spirochete. Only one patient with a clinical diagnosis of localized morphea had a positive serological reactivity to *B. burgdorferi* (reactivity to all 3 membrane proteins), non-reactive VDRL, negative Warthin-Starry stain, and no clinical history of tick bites. In other 7 patients with localized morphea and in 3 with rheumatological diseases the serological reactivity was suggestive (weak or incomplete reactivity). The results of this study suggest the existence of LD in Colombia. Additional studies are required to isolate the microorganism from patients as well as vectors and to define the eco-epidemiological characteristics of the disease in Colombia.

Agradecimientos

A las doctoras Susana Restrepo, Victoria Eugenia Murillo y Lucy Díaz-Granados por la lectura de las biopsias de piel.

Este estudio fue financiado por el Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI) de la Universidad de Antioquia.

El doctor A. Jaramillo fue financiado en parte por el programa de repatriación y el programa de estímulo a investigadores del Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología (Colciencias).

Referencias

1. Steere AC, Malawista SE, Snyderman DR, et al. Lyme arthritis: An epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three Connecticut communities. *Arthritis Rheum* 1977; **20**: 7-17
2. Steere AC. Lyme disease. *N Engl J Med* 1989; **321**: 586-596.
3. Torres C, Levin M. Enfermedad de Lyme y su espectro expandido. *Acta Med Colomb* 1994; **19**: 187-192.
4. Pfister HW, Wilske B, Weber K. Lyme borreliosis: basic Science and clinical aspects. *Lancet* 1994; **343**: 1013-1016.
5. Fry G, Kenny V. Lyme borreliosis imported from Africa. *Lancet* 1994; **342**: 689.
6. Yoshinari NH, Oyafuso LK, Vasconsuelos FG, et al. Doença de Lyme, relato de um caso observado no Brasil. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 1993; **48**: 170-174.
7. Stanchi NO, Balague LJ. Lyme disease: antibodies against *Borrelia burgdorferi* in farm workers in Argentina. *Rev. Saúde Pública* 1993; **27**: 305-307.
8. Anónimo. Existen vectores potenciales de enfermedad de Lyme en Sudamérica. *Iladiba* 1991; **27**.
9. Gómez P, Romero C, Avila M, Gómez A, Valle R. Detección de anticuerpos para *Borrelia burgdorferi* en pacientes colombianos con espondiloartropatías seronegativas. *Acta Med Colomb* 1992; **17** (supl): 338.
10. Rahn DW, Malawista SE. Lyme Disease: recommendations for diagnosis and treatment. *Ann Intern Med* 1991; **114**: 472-481.
11. Buechner SA, Winkelmann RK, Lautenschlager S, et al. Localized scleroderma associated with *Borrelia burgdorferi* infection. *J Am Acad Dermatol* 1993; **29**: 190-196.
12. Howite NT. Muscle, reticuloendotelial, and late skin manifestations of Lyme disease. *Am J Med* 1995; **98** (suppl. 4A): 63S-68S.
13. Corpuz M, Hilton E, Lardis MP, et al. Problems in the use of serologic test for the diagnosis of Lyme disease. *Arch Intern Med* 1991; **151**: 1837-1840.
14. Ostrov B, Athreya B. Lyme disease: Difficulties in diagnosis and management. *Pediatr Clin North Am* 1991; **38**: 535-553.
15. Bruckbauer SA, Preac-Mursic V, Wilse B. Cross-reactive Proteins of *Borrelia burgdorferi*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; **11**: 224-232.