

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Borrelia burgdorferi* E IDENTIFICACIÓN DE GARRAPATAS IXODIDAS EN PIURA Y AMAZONAS, PERÚ

Martha Glenny A¹, Leonardo Mendoza U², Eduardo Falconí R³

RESUMEN

Objetivos: Detectar anticuerpos IgG/IgM contra *Borrelia burgdorferi* en población general, procedentes de los departamentos de Piura y Amazonas e identificar especies de garrapatas probablemente incriminadas en la transmisión de la enfermedad de Lyme. **Material y Métodos:** Entre agosto del año 2001 y junio de 2002, se colectaron muestras de sangre de 232 pobladores procedentes de ocho localidades del Departamento de Piura y 12 del Departamento de Amazonas, para evaluar mediante ELISA Captia™ Lyme IgG/IgM (Trinity biotech) la presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi*. Además, se colectaron garrapatas en animales domésticos por búsqueda directa. **Resultados:** Se detectó seropositividad en 9,9 % de los sueros evaluados. Asimismo, de 433 garrapatas colectadas se identificaron los géneros: *Ixodes* (5,5%), *Amblyomma* (18,0%), *Rhipicephalus* (23,5%), *Anocentor* (31,1%) y *Boophilus* (21,7%). **Conclusiones:** Existen personas seropositivas por *Borrelia* en Piura y Amazonas, coincidiendo con los hallazgos realizados en Sapillica en el año 1992, además se detectó la presencia de garrapatas del género *Ixodes* en Piura.

Palabras clave: Enfermedad de Lyme; Infecciones por *Borrelia*; *Borrelia burgdorferi*; Test de Elisa; Garrapatas; Ixodidae; Perú (fuente: BIREME).

ABSTRACT

Objective: To detect IgG/IgM antibodies against *Borrelia burgdorferi* in persons coming from the Piura and Amazonas departments, and to identify tick species probable related with Lyme's disease transmission. **Material and methods:** Between August 2001 and June 2002, blood samples were collected from 232 persons from eight sites in Piura and from twelve sites in Amazonas, in order to determine the presence of antibodies against *B. burgdorferi* using serological testing. An ELISA Captia Lyme IgG/IgM Trinity Biotech was used. Tick collection in domestic animals was directly performed. **Results:** Positive results for the aforementioned antibodies were found in 9,9% of the sera assessed. Also, 433 ticks of five genres: *Ixodes* (5,5%), *Amblyomma* (18,01%), *Rhipicephalus* (23,5%), *Anocentor* (31,1%) and *Boophilus* (21,7%) were collected from domestic animals in seven sites in Piura and in three sites in Amazonas. **Conclusions:** There are persons seropositive for *Borelia* in Piura and in Amazonas, these results are similar to the findings at Sapillica reported in 1992. Also, ticks from the *Ixodes* genus were detected in Piura.

Key words: Lyme Disease; *Borrelia* Infections; *Borrelia burgdorferi*; Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; Ticks; Ixodidae; Peru (source: BIREME).

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Lyme es una infección producida por espiroquetas del género *Borrelia* y transmitida al hombre por la picadura de garrapatas del género *Ixodes*. El cuadro clínico incluye compromiso multisistémico con manifestaciones diversas, que hace difícil el diagnóstico en algunos casos. Generalmente, inicia con una lesión dérmica circular en el sitio de la picadura de la garrapata conocida como eritema crónico migratorio

(ECM)¹, en otros casos las manifestaciones iniciales no son notorias, pero por lo general esta etapa cursa acompañada de fiebre, cefalea, mialgia o artralgia, lo cual puede confundirse con otras etiologías. Posteriormente, evoluciona a una etapa crónica con compromiso neurológico (meningitis, parálisis, pérdida de memoria, depresión), artrítico, reumatológico o cardiovascular²⁻⁴.

Por estudios moleculares se ha detectado la existencia de genoespecies de *B. burgdorferi*, algunos estudios

¹ División de Bacteriología, Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú.

² División de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú.

³ División de Parasitología, Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú.

sugieren la asociación entre las diversas manifestaciones clínicas de esta enfermedad en humanos y la presencia de *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, *B. afzelii* o *B. valesiana*⁵⁻⁶.

La enfermedad se distribuye en el hemisferio norte, especialmente en Estados Unidos y Europa; en el primero es la enfermedad infecciosa más prevalente transmitida por artrópodos³. También se ha notificado en algunos países sudamericanos como Brasil⁷⁻⁸, Chile⁹, Argentina¹⁰, Venezuela¹¹ y Colombia¹². En el Perú no se ha demostrado su ocurrencia, aunque existen algunos estudios que respaldarían su presencia. Se ha informado 0,9% de seropositividad a *Borrelia* en agricultores¹³, Macedo *et al.*¹⁴ detectó en Piura 8,5 % de positividad mediante la prueba de ELISA, y Castillo¹⁵ informó sobre 10 casos con cuadro clínico compatible con la enfermedad de Lyme. Esto nos llevó a plantear un estudio con el propósito de contribuir al conocimiento sobre la existencia y distribución de esta enfermedad en la zona norte del país, en los departamentos de Piura y Amazonas, con el objetivo de detectar: a) anticuerpos IgG/IgM contra *B. burgdorferi* en personas procedentes de estas áreas y b) identificar especies de garrapatas potencialmente vectores de la enfermedad de Lyme.

Estudio observacional de diseño descriptivo, realizado entre agosto del año 2001 y junio de 2002. Se incluyeron 232 personas por criterio de los investigadores y que cumplían con los siguientes requisitos: edad entre 5 y 75 años, tiempo de residencia mínima de un mes en la zona de estudio y crianza de animales domésticos. Todas las personas dieron su consentimiento informado de participación en el estudio. Se excluyeron aquellas personas que al momento del estudio presentaban alguna infección en curso.

ÁREAS DE ESTUDIO

Departamento de Piura. Se obtuvieron muestras de personas provenientes de las provincias de Piura, Ayabaca, Morropón y Huancabamba, de las localidades de Morropón, Hualcas, Hinton, El Faique, Piura, Coletas, Naranjo y Masías.

Los lugares de estudio, incluye poblaciones que se dedican principalmente a la agricultura, cultivan: arroz, maíz, yuca, plátano, mango, algodón, legumbres, y además se dedican a la crianza en pequeña escala de ganado vacuno, caprino, ovino, porcino. Las localidades tienen altitudes que varían entre 29 y 162 msnm (Morropón, Piura y Hualcas), entre 1050 y 2200 msnm (El Faique, Masías, Naranjo Coletas y Hinton).

Departamento de Amazonas. Se obtuvieron muestras de personas provenientes de las provincias de Bagua, Condorcanqui y Utcubamba, localidades de Aramango, Bagua, Copallín, Imaza, Peca, Nueva Esperanza, Alto Amazonas, Bagua Grande, Lonya Grande, Cajaruro, El Milagro y Condorcanqui. Todas estas localidades se dedican al cultivo del arroz, maíz, yuca, plátano, frijol, café y cacao. Es un área tropical cuya altitud varía entre 230 y 800 msnm.

PROCEDIMIENTO

a) **Estudio serológico.** Las muestras fueron obtenidas de pobladores que acudieron a los servicios de salud de las localidades mencionadas y que cumplían los criterios exigidos por los investigadores. Los participantes del estudio fueron captados entre agosto de 2001 y junio de 2002, de cada persona se colectó 7 mL de sangre en tubo al vacío sin anticoagulante, fue separado y conservado en congelación hasta ser transportado al Instituto Nacional de Salud (INS), donde se procesó utilizando el kit ELISA *Captia™ Lyme IgG/IgM Trinity biotech*, que tiene una sensibilidad de 97,7% con un intervalo de confianza de 95% y una especificidad de 99,4%.

Los resultados de la prueba ELISA con valores mayores o iguales a 1,0 fueron considerados positivos, todos los sueros ELISA positivos fueron evaluados mediante prueba RPR (*Rapid Plasma Reagin*) para detectar sífilis y Microaglutinación (MAT) para descartar leptospirosis, a fin de detectar posible coinfección o reacción cruzada con estas enfermedades.

b) **Estudio de garrapatas.** Se recolectaron garrapatas en las localidades de Tablazo Norte, Hualcas, Hinton, El Chorro, Piedra del Toro, Coletas, Masías y Naranjo (Departamento de Piura) y de Alto Amazonas, Nueva Esperanza y el Hebrón (Departamento de Amazonas). Se realizó la colecta de garrapatas directamente de los hospedadores (perro, gato, cerdo, ganado bovino y equino). También se capturaron roedores silvestres utilizando trampas plegables *Sherman*, que fueron colocadas en áreas agrícolas cerca a lugares de intensa actividad de los roedores durante la noche, se instalaron cada 3 a 5 m en línea recta a lo largo de un trecho de 100 m o rodeando el perímetro de una parcela.

Se colectaron 433 garrapatas que fueron colocadas en viales con alcohol al 70%, se transportaron al laboratorio donde fueron observadas directamente al microscopio. Para identificar las garrapatas, se utilizó claves dicotómicas¹⁶ y se comparó con especímenes de referencia del Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú.

RESULTADOS

Se procesaron 232 muestras de suero, y se detectaron 23 (9,9%) positivas a la prueba de ELISA IgG/IgM para *Borrelia*, y de las cuales 20 correspondieron al Departamento de Piura (8,62%) y tres al Departamento de Amazonas (1,29%) (Tabla 1).

Tabla 1. Resultado ELISA IgG/IgM para enfermedad de Lyme, Piura y Amazonas, Perú. Agosto 2001 – Junio 2002.

Provincia / Localidad	Positivos (%)	Total
Ayabaca	19 (13,5)	140
Coletas	7	64
Masías	5	39
Naranjo	7	37
Piura	0	4
Morropón	1(11,1)	9
Morropón	1	1
Huancabamba	0	5
Bagua	3 (8,3)	36
La Peca	3	7
Utcubamba	0	36
Condorcanqui	0	2
Total	23 (9,9)	232

Los 23 sueros positivos a ELISA para *Borrelia* fueron RPR negativos, pero en 5 (22%) de ellos se detectó reacción positiva frente a la prueba MAT para leptospirosis.

Se detectó positividad en muestras procedentes de Ayabaca (Coletas, Masías, Naranjo), Morropón y Bagua (La Peca). En las otras zonas estudiadas no se detectó positividad en la prueba de ELISA para la enfermedad de Lyme.

En siete localidades de Piura y tres de Amazonas, se realizó la colecta de garrapatas en 305 animales domésticos y roedores silvestres: 139 perros (45,5%), 41 equinos (13,4%), 30 gatos (9,8%), 26 vacunos (8,5%), 23 ovinos (7,5%), 21 roedores de la especie *Oligoryzomys* sp. (6,8%) 16 caprinos (5,2%), 8 cerdos (2,6%) y un espécimen de *Oryzomys* sp. (0,3%). Los equinos fueron los animales más infestados por garrapatas (60,9%), seguido por vacunos (50%), perros (37,4%), cerdos (25%) y gatos (6,6%). Los caprinos, ovinos y roedores no presentaron garrapatas adultas ni estadios inmaduros.

Amblyomma maculatum, fue la garrapata más frecuentemente hallada. Se la encontró en tres tipos de animales, perro (66,6%), equino (31,8%) y cerdo (1,4%), la frecuencia de infestación por *Ixodes* sp. en el perro fue de 87,5%, en el gato fue de 8,3% y en el cerdo fue de 4,1% (Tabla 2). *Rhipicephalus sanguineus*, *Anocentor nitens* y *Boophilus microplus* se hallaron en un sólo huésped, perro, equino y vacuno, respectivamente, al igual que *Amblyomma ovale* en un perro.

Tabla 2. Garrapatas identificadas en las localidades de Piura y Amazonas; agosto 2001 – junio 2002

Localidad	<i>A. maculatum</i>	<i>A. ovale</i>	<i>R. sanguineus</i>	<i>Ixodes</i> sp	<i>A. nitens</i>	<i>B. microplus</i>	Total
Piura							
Hualcas	5	0	28	0	50	0	83
Coletas	25	0	0	6	20	14	65
Masías	22	0	0	13	0	12	47
Naranjo	7	0	0	5	0	0	12
Tablazo Norte	7	0	27	0	0	0	34
Piedra del Toro	0	0	0	0	0	34	34
El Chorro	3	0	8	0	0	0	11
Amazonas							
Alto Amazonas	0	0	35	0	65	0	100
Nueva Esperanza	0	9	0	0	0	34	43
El Hebrón	0	0	4	0	0	0	4
Total	69	9	102	24	135	94	433

El género *Ixodes* ha sido encontrado en las localidades de Coletas, Masías y Naranjo del Distrito de Sapillica, Provincia de Ayabaca (Piura), y en estas mismas localidades se han detectado sueros con serorreactividad en prueba ELISA IgG/IgM para la enfermedad de Lyme.

DISCUSIÓN

En nuestro país no se ha informado el aislamiento del agente etiológico de la enfermedad de Lyme, a diferencia de los países europeos donde están bien estudiadas; asimismo, en los Estados Unidos, donde es la enfermedad infecciosa más prevalente transmitida por artrópodos³. De acuerdo con informes de los años 1992 y 1998, tuvo un patrón estacional asociado con la distribución y hábitos de las garrapatas *I. scapularis* e *I. pacificus*, considerados como vectores principales en este país; la incidencia anual se incrementó de 4,0 a 6,7 por 100 000 habitantes, en un período de siete años⁶. En otros países sudamericanos como Brasil^{11,16}, Chile¹², Argentina¹³, Venezuela¹⁴ y Colombia¹⁵, también se ha informado esta enfermedad.

El resultado de nuestro estudio serológico en Piura y Amazonas muestra una serorreactividad de 9,9%, coinciden con los hallazgos previos en agricultores de Sapillica, Piura en 1992⁸. Asimismo, el detectar cinco sueros reactivos a MAT sugiere una memoria inmunológica de una coinfección, esto puede ser una infección anterior o una reacción cruzada propia del reactivo, por ello, se debe tener en cuenta que la prueba de ELISA es de tamizaje y los resultados de este estudio deben considerarse como preliminares, para confirmar la presencia o no de la enfermedad de Lyme en el país se debe continuar con estudios más rigurosos.

Algunas de las especies de garrapatas que se han identificado en las localidades estudiadas no corresponden a los vectores reconocidos de la enfermedad de Lyme en otros países, sin embargo, las del género *Ixodes* y *Amblyomma* pueden ser considerados como vectores potenciales¹⁷⁻¹⁸. Es interesante mencionar que *Ixodes* sp. ha sido encontrado solamente en las localidades de Coletas, Masías y Naranjo del Distrito de Sapillica, Provincia de Ayabaca (Piura), y teniendo en cuenta que se encuentran infestando a perros, gatos y cerdos, incrementa el riesgo de una infección potencial por *Borrelia* en humanos.

Asimismo, debido a que las manifestaciones clínicas en la forma aguda y crónica de esta enfermedad son muy variadas, se debe realizar una vigilancia centinela a través de la obtención de muestras de suero de pa-

cientes con síndrome febril sin diagnóstico etiológico conocido en consultorios de dermatología, reumatología y neurología en hospitales referenciales de las principales ciudades del Perú. Se deberá tomar en cuenta estos aspectos en el futuro y continuar buscando personas infectadas en otras zonas del país. En las localidades donde se han encontrado personas con anticuerpos a *B. burgdorferi*, es importante demostrar la infección a través de otros métodos como *Western blot* y reacción en cadena de la polimerasa (PCR), además, se deben realizar estudios de prevalencia en humanos y en los reservorios (animales domésticos y silvestres) con un diseño y tamaño de muestra adecuado; asimismo, los estudios futuros deben considerar el aislamiento del agente etiológico en los vectores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Mast WE, Burrows WM.** Erythema chronicum migrans in the United States. *JAMA* 1976; 236(7):859-60.
2. **Marulanda CMP, Sandoval PF, Trujillo MRA, Escobar RAE, Falabella FR.** Borreliosis: la enfermedad de Lyme y otras dermatosis posiblemente asociadas. *Arch Argent Dermatol* 1998; 48(3):129-37.
3. **Belongia EA, Reed KD, Mitchell PD, Chyou PH, Mueller-Rizner N, Finkel MF, et al.** Clinical and epidemiological features of early Lyme disease and human granulocytic ehrlichiosis in Wisconsin. *Clin Infect Dis* 1999; 29(6):1472-7.
4. **Wormser GP, Liveris D, Nowakowski J, Nadelman RB, Cavaliere LF, McKenna D, et al.** Association of specific subtypes of *Borrelia burgdorferi* with hematogenous dissemination in early Lyme diseases. *J Infect Dis* 1999; 180(3):720-5.
5. **Ryffel K, Peter O, Rutti B, Suard A, Dayer E.** Scored antibody reactivity determined by immunoblotting shows an association between clinical manifestations and presence of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, *B. afzelii* and *B. valaisiana* in humans. *J Clin Microbiology* 1999; 37(12):4086-92.
6. **Orloski KA, Hayes EB, Campbell GL, Dennis DT.** Surveillance for Lyme disease United States, 1992-1998. *MMWR CDC Surveill Summ* 2000; 49(3):1-11.
7. **Yoshinari NH, Oyafuso LK, Monteiro FG, de Barros PJ, da Cruz FC, Ferreira LG, et al.** Doença de Lyme: relato de un caso observado on Brasil. *Rev Hosp Clin Fac Med Univ São Paulo* 1993; 48(4):170-74.
8. **Costa IP, Yoshinari NH, Barros PJL, Bonoldi VL, Leon EP, Zeitune AD, et al.** Lyme disease in Mato Grosso do Sul State, Brazil: report of three clinical cases, including the first of Lyme meningitis in Brazil. *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo* 1996; 51(6):253-7.
9. **Neira-Quiroga O, Cerda AC, Alvarado GM, Palma CS, Abumohor GP, Wainstein GE, et al.** Enfermedad de Lyme en Chile: Estudio de prevalencia en grupo seleccionado. *Rev Med Chile* 1996; 124(5):537-44.

10. **Stanchi NO, Balague LJ.** Lyme disease: Antibodies against *Borrelia burgdorferi* in farm workers in Argentina. Rev Saúde Pública 1993; 27(4):305-7.
 11. **Arocha S.F, Anesty VA, Urbina M, Durango AI, Vargas MH.** Detección de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* en una muestra poblacional del Estado Zulia en Venezuela. Invest Clin 1994; 35(2):91-104.
 12. **Muñoz A, Orrego JJ, Salazar M, Jaramillo D, Montoya F, Uribe O, et al.** Reactividad humoral contra *Borrelia burgdorferi* en pacientes con enfermedades dérmicas y reumáticas. Acta Med Colomb 1995; 20(6): 257-61.
 13. **Need JT, Escamilla J.** Lyme disease in South America?. J Infect Dis 1991; 163(3):681-2.
 14. **Macedo S, Cuadra A, Cáceres I, Elliot A, Avila G, Arévalo J, et al.** Diagnóstico serológico (ELISA) de Borreliosis de Lyme en un grupo humano de riesgo, Piura, Perú. Rev Per Med Trop 1992; 6:31-7.
 15. **Castillo W.** Borreliosis de Lyme: una enfermedad emergente en el Perú. I Jornada de Investigación en Salud 1999; Lima, Perú. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1999.
 16. **Jones E, Clifford C, Keirans J, Kohls G.** Ticks of Venezuela (Acarina: Ixodoidea) with a key to the species of *Amblyomma* in the Western Hemisphere. Brigham Young Univ Sci Bull 1972; 17:1-40.
 17. **Abel IS, Marzagao G, Yoshinari NH, Schumaker TT.** *Borrelia*-like spirochetes recovered from ticks and small mammals collected in the Atlantic Forest Reserve, Cotia county, State of São Paulo, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2000; 95(5):621-4.
 18. **de Lemos, ER.** Primary isolation of spotted fever group rickettsiae from *Amblyomma cooperi* spotted fever group collected from *Hydrochaeris hydrochaeris* in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz; 1996; 91(3):273-5.
-
- Correspondencia:** Martha Glennly A. División de Bacteriología, Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú.
Dirección: Cápac Yupanqui 1400. Lima 11, Perú.
Teléfono: (511) 4719920 anexo 165
Correo electrónico: mglenny@ins.gob.pe