

# Seroprevalencia de Borreliosis, o Enfermedad de Lyme, en una Población Rural Expuesta de Córdoba, Colombia

## Seroprevalence of Lyme borreliosis in workers from Cordoba, Colombia

Jorge Miranda, Salim Mattar, Katya Perdomo y Luis Palencia

Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Córdoba. Montería, Colombia. jorgemire@hotmail.com, mattarsalim@hotmail.com, kapecca63@hotmail.com, Luispa849@hotmail.com

Recibido 15 Agosto 2008/Enviado para Modificación 22 Marzo 2009/Aceptado 5 Mayo 2009

### RESUMEN

**Objetivo** El objetivo de este estudio fue el de establecer la seroprevalencia de enfermedad de Lyme en trabajadores del agro.

**Material y métodos** La población la constituyeron 152 sujetos de los municipios de Montería, Cereté, Lórica y Cotorra, del Departamento de Córdoba, Colombia. La presencia de anticuerpos IgG específicos anti-*Borrelia burgdorferi* se estableció por ELISA y confirmados por *Western blot*. RPR (rapid plasma reagin) para *Treponema pallidum* (sífilis) y ELISA para leptospirosis IgM se utilizó para descartar reacciones cruzadas.

**Resultados** Por ELISA se detectaron 30 (20 %) sueros con anticuerpos IgG para *Borrelia*. Los 30 sueros fueron RPR negativos. Por *Western Blot* se escogieron al azar 25 sueros positivos, siete se confirmaron como positivos para *Borrelia burgdorferi*, seroprevalencia del 4,6 %.

**Conclusión** La seroprevalencia sugiere infección por *B. burgdorferi* en la población estudiada. Se deben realizar futuros estudios clínicos, serológicos y sobre todo ecológicos que determinen la presencia de *Borrelia burgdorferi* en las garrapatas de nuestras regiones.

**Palabras Clave:** *Borrelia*, enfermedad de Lyme, estudios seroepidemiológicos, exposición profesional, Colombia (fuente: DeCS, BIREME).

### ABSTRACT

**Objective** Establishing the seroprevalence of Lyme disease in workers from Cordoba.

**Material and methods** Representative serum samples (152) were taken from the cities of Montería, Cereté, Lórica and Cotorra in the Córdoba department in Colombia. *Borrelia burgdorferi* antibodies were detected by ELISA and confirmed by western blot anti-*Borrelia* blot assay. RPR (rapid plasma regain) test for *Treponema pallidum* (syphilis) and ELISA for leptospirosis IgM were carried out to discard cross-reactivity.

**Results** A total of 152 serum samples were tested; 30 (20 %) were positive by ELISA. The 30 positive sera were RPR negative. Seven sera were confirmed by western blot;

seroprevalence was 4.6 %. Reactivity against p41, p58, p75, OspA, p30, OspC, p17, VLsE and p83/100 were detected.

**Conclusions** Our results revealed antigenic evidence of *Borrelia* in the rural area of Cordoba. Identifying clinical, ecological and serological cases, linked to searching for *Borrelia burgdorferi* in infected tick vectors must be carried out in rural parts of Colombia.

**Key Words:** Borrelia, Lyme disease, seroepidemiologic studies, risk, Colombia (fuente: MeSH, NLM).

**B**orrelia burgdorferi, es una espiroqueta reconocida como el agente etiológico de la enfermedad de Lyme (1), se transmite al hombre a través de la picadura de garrapatas del genero *Ixodes* y se caracteriza desde el punto de vista clínico por la aparición de un cuadro multisistémico con afectación de varios órganos como piel, articulaciones, sistema nervioso central y corazón (2). El diagnóstico clínico es difícil, ya que un elevado número de enfermos no recuerdan el antecedente de la picadura de garrapata, y hasta en un 50 % de los afectados tampoco aparece la lesión cutánea característica denominada eritema migratorio. Las fases posteriores de la enfermedad se caracterizan por la inespecificidad de los signos y síntomas. La mayoría de las infecciones por Borrelia son subclínicas por lo que su incidencia es desconocida, por ello la información sero-epidemiológica es importante para conocer la tasa de infección en una población. La seroprevalencia en Colombia de esta entidad es poco conocida y existen solo dos estudios en sujetos con síntomas clínicos sugestivos de enfermedad de Lyme (3,4). Estudios ecológicos tendientes a la búsqueda de *B. burgdorferi* en garrapatas se han llevado a cabo sin éxito (5).

La Enfermedad de Lyme está ampliamente distribuida en el hemisferio norte especialmente en EEUU y Europa; en el primero es la enfermedad infecciosa más prevalente transmitida por artrópodos (6). También se han notificado algunos reportes de casos en países sudamericanos y centroamericanos como Perú (6), Brasil (7), Chile (8), Argentina (9), Bolivia (10), Venezuela (11) y México (12).

En Colombia, existen pocos estudios sobre esta enfermedad y de otras enfermedades transmitidas por picaduras de garrapatas y se desconoce su verdadero impacto en salud pública. Una de las estrategias para detectar la circulación de agentes infecciosos desconocidos, es buscar la respuesta humoral en los individuos expuestos, de alto riesgo o susceptibles como los trabajadores rurales.

El objetivo de este estudio fue establecer la seroprevalencia de la enfermedad de Lyme en un sector de trabajadores del agro.

## MATERIALES Y MÉTODOS

*Tipo de estudio y muestreo.* Se llevo a cabo un estudio descriptivo transversal, no probabilístico con un muestreo por conveniencia que pretendió determinar la seroprevalencia de anticuerpos para *Borrelia burgdorferi* en el departamento de Córdoba. La población la constituyeron 152 sujetos procedentes de los municipios de Montería, Lórica, Cereté y Cotorra, seleccionados de forma secuencial no probabilística, de un total de cerca de 100 000 personas que conforman la población de trabajadores rurales estratificados en el Departamento (13).

*Aspectos demográficos, climáticos y ecológicos del sitio de estudio.* El departamento de Córdoba posee una población total de 1 472 699 habitantes (13), se encuentra localizado en la costa caribe colombiana, posee una temperatura anual promedio de 35°C y una humedad relativa del 95 %. Su extensión agro-ecológica hace parte de las sabanas o praderas tropicales y sus tierras son utilizadas principalmente en la producción extensiva de ganado bovino y cultivos tropicales.

*Población de riesgo ocupacional y aspectos epidemiológicos.* A todas las personas del área de estudio se les aplicó una encuesta epidemiológica que indagó sobre algunos aspectos como edad, sexo, antecedentes clínicos, sintomatología y los factores de riesgo asociados a la transmisión de estos microorganismos como convivencia permanente con animales domésticos, picaduras por garrapatas, ocupación y viajes al exterior durante los últimos años. Se invitó a participar a trabajadores del área agropecuaria, zonas rurales y personal de mantenimientos de redes de aguas servidas y personal de aseo del departamento quienes laboraban en el sector desde hace más de 10 años y que habían estado en contacto con animales domésticos. Ciento cincuenta y dos sujetos aceptaron participar (100 % de los contactados). Se les entrevistó mediante un cuestionario y se les extrajo 10 mL de sangre venosa para la detección de anticuerpos.

*Entrevista ocupacional.* Se aplicó un cuestionario a la población de riesgo que laboraba en el campo, se les solicitó información demográfica, actividad ocupacional y antecedentes epidemiológicos de exposición a garrapatas como posibles factores asociados a infección. Se incluyeron las siguientes variables: tipo de trabajo en el campo (vaquería, ordeñadores, oficios varios en las malezas) y antecedentes por picaduras de garrapatas.

*Métodos serológicos.* Todas las muestras fueron procesadas en el Laboratorio del Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Córdoba. Se estableció la presencia de anticuerpos séricos IgG específicos anti-*Borrelia burgdorferi* por la técnica de ELISA (Ridascreen® *Borrelia* IgG R-Biopharm AG, Landwehrst, Germany). Las muestras de suero fueron diluidas 1:100 y el resto de procedimiento se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Un suero se consideró positivo cuando la densidad óptica fue mayor a 14 u/ml. La sensibilidad esperada del ensayo es del 100 % y la especificidad del 97,4 %, en cada prueba se usó un control negativo y uno positivo. Para la confirmación de los sueros positivos se utilizó *western blot* anti-*Borrelia* Blot IgG (DRG Diagnostics, Marburg, Germany). El criterio usado para considerar una muestra positiva a *Borrelia burgdorferi* fue el recomendado por el fabricante así: *western blot* IgG positivo si existían anticuerpos que reaccionaron al menos con dos de las proteínas: p83/100, p58, p43, p39, p30, OspC, p21, p17 y VlsE. Con el fin de descartar reacciones cruzadas, a todos los sueros positivos por ELISA se les realizó la técnica de RPR (rapid plasma reagin) para *Treponema pallidum* (sífilis) y ELISA para leptospirosis IgM (Panbio limited, Australia ref. E-LEP01M).

*Análisis de los resultados.* Los datos fueron recolectados mediante un formulario estandarizado y tabulados en una hoja electrónica de MS Excel®. Adicionalmente, se utilizaron las herramientas de análisis de datos de este programa para elaborar la estadística descriptiva.

*Aspectos éticos.* Este proyecto se rigió de acuerdo a las normas técnicas, científicas y administrativas para la investigación en salud, del Ministerio de Salud de Colombia, Resolución 8430 de 1993 y la declaración de Helsinki, refrendada del año 2004. A todos los pacientes incluidos en el estudio se les explicó el tipo de estudio y se obtuvo su consentimiento oral y escrito.

## RESULTADOS

Se estudiaron un total de 152 sueros de trabajadores de las zonas rurales expuestas del departamento de Córdoba. La edad media de la población estudiada fue de 40,6 años, (16 a 70 años). En el Tabla 1, se describen las características sociodemográficas, la ocupación y la referencia de síntomas de todas las personas analizadas.

**Tabla 1.** Características sociodemográficas de la población estudiada

Procedencia	Mujer n (%)	Hombre n (%)	Total n (% del total)
Montería	5 (6)	77 (94)	82 (54)
Cerete	2 (6,6)	28 (93,4)	30 (19,7)
Lorica	3 (11,5)	23 (88,5)	26 (17,1)
Cotorra	2 (14,2)	12 (85,8)	14 (9,2)
<b>OCUPACION</b>			
Carnicero	9 (12,6)	62 (87,3)	45 (29,6)
Alcantarillado y aseo	1 (2,7)	36 (97,3)	37 (24,3)
Agricultor	2 (5,4)	35 (94,6)	37 (24,3)
Expendedor	0	3 (100,0)	3 (1,9)
Oficios varios	0	3 (100,0)	3 (1,9)
Gerente	0	1 (100,0)	1 (0,65)
<b>SÍNTOMAS</b>			
Cefalea	3 (4,6)	61 (95,3)	64 (42,1)
Dolor muscular	4 (6,5)	57 (93,3)	61 (40,1)
Artralgias	1 (2,1)	45 (97,8)	46 (30,2)
Fiebre	3 (10)	27 (90)	30 (20)
Ictericia	1 (16,6)	5 (83,3)	6 (3,94)
Total general	12 (7,9)	140 (92,1)	152 (100,0)

Por ELISA se detectaron 30 (20 %) sueros con anticuerpos IgG para *Borrelia*. De las cuales 17 (56,6 %) fueron procedentes de Montería, 7 (23,3 %) de Lorica, 5 (16,6 %) de Cereté y 1 (3,3 %) de Cotorra. La mediana de la edad de los sujetos seropositivos por ELISA fue de 45 años. La mayor prevalencia se dio en personas de 41-50 años (33,3 %), seguido por un 30 % de personas entre 31-40 años. Solo una mujer presentó anticuerpos IgG para *Borrelia*.

En cuanto a la ocupación de los sujetos seropositivos, 16 (53,3 %) fueron carniceros, 7 (23,3 %) personal de mantenimiento de redes de aguas servidas y personal de aseo y 7 (23,3 %) eran trabajadores del agro.

Los sujetos seropositivos fueron clasificados según la sintomatología clínica que presentaron, el (45,9 %) de ellos presentó fiebre, (36,6 %) cefalea, (33,6 %) dolores musculares y (23,3 %) artralgia, ninguno reportó eritema migratorio.

Los 30 sueros positivos a ELISA para *Borrelia burgdorferi* fueron RPR negativos, lo que descarto una posible reacción cruzada o coinfección con *Treponema pallidum*. En uno de ellos se detectó reacción positiva frente a ELISA para leptospirosis y 3 se encontraron cerca del punto de corte para esta prueba.

Para la confirmación por *western blot* se escogieron al azar 25 sueros positivos por ELISA, el 100 % de estos reaccionaron contra la proteína 41 Kda; mientras que la reacción contra las proteínas 58 y 75 Kda se observó en 68 % y 36 % respectivamente. Se detectó reacción contra OspA (proteína de membrana altamente específica) en 7 (28 %) de los sueros; mientras que un 8 % reaccionaron contra otras proteínas tales como, p30, Osp C, p17 y VLsE. La proteína p83/100 se presentó en un 4 %. De estos 25, siete se confirmaron como positivos para *Borrelia burgdorferi* (seroprevalencia de 4,6 %) de acuerdo con las especificaciones del fabricante para considerar un *western blot* positivo.

En cuanto a relación con el vector de los 30 sujetos seropositivos por ELISA, la Tabla 2, muestra la tasa de población que tuvo contacto con animales que pudieron actuar como reservorios de la garrapata. Entre los sujetos que resultaron positivos por *Western blot*, 6 reportaron la presencia de roedores ya sea en su casa o el trabajo, 5 en contacto permanente con perros y bovinos y 3 contacto con cerdos.

**Tabla 2.** Lugar de procedencia y porcentaje de pacientes seropositivos con contacto con animales domésticos y silvestres

Municipio	Contacto con animales							
	Perros		cerdos		bovinos		roedores	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Montería	8	26,6	10	33,3	8	26,6	14	46,6
Lorica	2	6,6	1	3,3	5	16,6	5	16,6
Cereté	5	16,6	4	13,3	4	13,3	6	20
Cotorra	1	3,3	1	3,3	1	3,3	1	3,3
Total	16	53,3	16	53,3	18	60	26	86,6

## DISCUSIÓN

La borreliosis de Lyme es una zoonosis de distribución mundial, y es la enfermedad más común transmitida por vectores en los estados Unidos con más de 20 000 casos reportados anualmente, el 93% de estos casos se diagnosticaron en 10 estados. *B. burgdorferi* sensu stricto es la única genoespecie que causa la enfermedad de Lyme en Norte América y Europa (14,15). En Europa, aunque la borreliosis de Lyme no se encuentra entre las enfermedades de declaración obligatoria, se estima que las mayores tasas de incidencia se alcanzan en Alemania, Austria, Eslovenia, Suecia y Escandinavia, pudiendo llegar a los 155 casos por 100 000 habitantes por año. También se han descrito casos en Rusia, China y Japón. La enfermedad de Lyme no se considera endémica para Australia, África, América del Sur, así como el sur de Estados Unidos (16).

Los estudios de seroprevalencia en humanos son importantes ya que demuestran hasta qué punto una infección está presente en una población. En este estudio, la seroprevalencia hallada fue de 4,6 % (7/152) lo que indica la presencia de borrelia en esta región. Aunque otros estudios realizados en Colombia no demostraron la seroprevalencia y se enfocaron al estudio de pacientes con síntomas dermatológicos asociados con la enfermedad de Lyme, estos trabajos evidenciaron la circulación de *B. burgdorferi*. Palacios (4), en Cali, utilizando *western blot* encontró que el 12 % (4/30) de los sujetos con manifestaciones clínicas asociadas a la enfermedad presentaron evidencia serológica de infección por borrelia. En otro estudio Muñoz (3), utilizó inmunofluorescencia indirecta y encontró un paciente con morfea localizada con reactividad serológica para *B. burgdorferi*, otros siete pacientes con morfea localizada y tres con cuadros reumáticos presentaron reactividad serológica débil.

Por otra parte, los criterios para considerar un *western blot* positivo han sufrido modificaciones en EEUU y Europa; (17-20) lo anterior está relacionado con la heterogeneidad genética de la bacteria y su área geográfica. En este estudio se incluyeron los criterios del fabricante de la técnica pero también fueron tomados en cuenta las proteínas establecidas por el CDC, en EEUU, y la Unión Europea de Acción y Concertación de la Borreliosis de Lyme (European Union Concerted Action on Lyme Borreliosis) (EUCALB).

Según la técnica utilizada en este estudio para considerar positivo un *western blot* IgG al menos dos de las proteínas p83/100, p58, p43, p39, p30, OspC, p21, p17 y VlsE, son necesarias para confirmar el diagnóstico, lo que fue encontrado en las muestras positivas. Esta técnica reconoce las proteínas de *Borrelia* usadas en el diagnóstico para cepas aisladas en Europa donde las borrelias son diferentes a las aisladas en EEUU. Una de estas es la proteína flagelar de 41 kDa que Dressler, (16) utilizó en los criterios de CDC para diagnóstico en casos con enfermedad de Lyme temprana. En este trabajo 100 % de los sujetos presentaron la banda p41kDa. Sin embargo, el fabricante de la técnica utilizada no tienen en cuenta la p41kDa para diagnóstico por *western blot*. Cabe anotar que otras proteínas recomendadas por el CDC no son tomadas como proteínas de diagnóstico por la técnica utilizada en el estudio y es probable que los sujetos de este estudio presentaran reactividad contra estas proteínas.

Otras proteínas de criterio diagnóstico utilizadas por el CDC y el fabricante de la técnica son; la proteína OspC (p23kDa proteína de membrana externa), reportada por Dressler, (16) como indicadora de enfermedad temprana, en este estudio dos personas (28,5 %) presentaron anticuerpos para esta proteína.

Magnarelli (21), reportaron las proteínas p93 (p83/100) y p39 conocidas por ser antígenos específicos de *Borrelia burgdorferi*. Dos sujetos analizados presentaron anticuerpos frente a estas proteínas, lo que indica infección por *B. burgdorferi*. Aunque el *western blot* es el método recomendado como prueba confirmatoria para la Enfermedad de Lyme, la interpretación del diagnóstico por laboratorio de esta entidad no es fácil, debido a la heterogeneidad genética de la bacteria en cada área geográfica, por tal razón sería necesario establecer la diversidad de cepas en cada área.

En lo que refiere a la exposición ocupacional, un 42,8 % (3/7) de los sujetos con *western blot* positivos a *Borrelia* realizaban labores del campo, actividad en la que se tiene mayor riesgo de ser picado por el vector de la enfermedad (22). En actividades en las que se requiere manejo de tejidos animales 42,8 % (3/7) de los sujetos presentaron *western blot* positivo, se desconoce la relación entre esta ocupación con la infección por borreliosis que es transmitida por picaduras de garrapatas y no por contacto directo con tejidos de animales infectados. Sin embargo, la mayoría de estos sujetos viven cerca de zonas rurales y en contacto permanente con animales domésticos.

Ninguno de los sujetos analizados en el estudio, presentaron sintomatología compatible de enfermedad de Lyme. La aparente discrepancia entre la serología positiva y la ausencia de síntomas clínicos ha sido bien documentada (22). Los individuos con anticuerpos a *Borrelia burgdorferi* por ELISA y *western blot*, sin evidencia clínica de la enfermedad, podrían ser el resultado de una exposición repetida a borreliosis y consecuentemente a una revacunación natural.

Los estudios epidemiológicos de enfermedades infecciosas presentan grandes dificultades. Esto es notable en las zoonosis transmitidas por vectores debido al gran número de factores implicados en su transmisión. La ocurrencia de borreliosis en humanos en Córdoba posee importantes implicaciones epidemiológicas. Debido a que los vectores conocidos de las borreliosis, como *Ixodes scapularis* o *Ixodes ricinus*, aun no se ha documentado su existencia en esta región del país. Un diagnóstico de borreliosis en humanos en esta región significaría que se ha desarrollado un nuevo tipo de asociación huésped-parásito no descrito. La definición de este aspecto requerirá de una apropiada investigación epidemiológica y entomológica. Caso similar al nuestro es el descrito en Papua New Guinea en donde el 57 % de las muestras fueron positivas por *western blot* pero el vector de la enfermedad de Lyme se desconoce (23).



En conclusión, este estudio sólo permite presumir la existencia de infección por *Borrelia burgdorferi* en Córdoba, poco se conoce a cerca de los vectores, los reservorios, prevalencia, incidencia, distribución geográfica y la existencia de casos y seguimiento de aquellos sujetos que presenten manifestaciones clínicas de la enfermedad y de antecedentes de picaduras por garrapatas. Los datos aquí presentados muestran evidencia de la circulación antigénica de *Borrelia* en la población rural estudiada. Se deben realizar futuros estudios clínicos, serológicos y sobre todo ecológicos que determinen la presencia de ADN de *Borrelia burgdorferi* en las garrapatas de nuestra región ♣

### REFERENCIAS

1. Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP. Lyme disease—a tick-borne spirochetosis?. *Science* 1982;216:1317-1319.
2. Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klemperer MS, *et al*. The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis* 2006;43:1089-1134.
3. 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;20:257-261.
4. Palacios R, Osorio LE, Giraldo LE, Torres AJ, Philipp MT, Ochoa MT. Positive IgG western blot for *Borrelia burgdorferi* in Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999;94:499-503.
5. Mattar S, Lopez G. Searching for Lyme disease in Colombia: a preliminary study on the vector. *J Med Entomol* 1998;35:324-326.
6. Glenny M, Mendoza L, Falcón E. Detección de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* e identificación de garrapatas Ixodidae en Piura y Amazonas, Perú. *Rev Perú Med Exp Salud Pública* 2004;21: 23-27.
7. Costa IP, Yoshinari NH, Barros PJJ, 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;51:253-257.
8. 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;124:537-544.
9. Stanchi NO, Balague LJ. Lyme disease: Antibodies against *Borrelia burgdorferi* in farm workers in Argentina. *Rev Saúde Pública* 1993;27:305-307.
10. Ciceroni L, Bartoloni A, Guglielmetti P, Paradisi F, Gamboa H, Roselli M. *et al*. Prevalencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia parkeri* y *Borrelia turicatae* en poblados de la provincia cordillera, Bolivia. *J Trop Med Hyg* 1994;97:43-47.
11. Arocha SF, 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;35:91-104.
12. Gordillo-Pérez G, Torres J, Solórzano-Santos F, Garduño-Bautista V, Tapia-Conyer R, Muñoz O. Estudio seroepidemiológico de borreliosis de Lyme en la Ciudad de México y el noreste de la República Mexicana. *Salud Pública de México* 2003;45: 351-355.
13. Departamento Administrativo Nacional de Estadísticas [Internet]. Disponible en: [http://www.dane.gov.co/files/censo2005/censo\\_1964.pdf](http://www.dane.gov.co/files/censo2005/censo_1964.pdf). Consultado Mayo de 2007.

14. Qiu WG, Bruno JF, McCaig WD, Xu Y, Livey I, Schriefer ME, et al. Wide distribution of a high-virulence *Borrelia burgdorferi* clone in Europe and North America. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(7):1097-1104.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Lyme disease - United States, 2003-2005. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2007;56:573-576.
16. Escudero R, Guerrero A. Enfermedades producidas por *Borrelia*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005;23:232-240.
17. Dressler F, Whalen JA, Reinhardt BN, Steere AC. Western blotting in the serodiagnosis of Lyme disease. *J Infect Dis* 1993;167:392-400.
18. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for test performance and interpretation from the second national conference on serologic diagnosis of Lyme disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1995;44:590-591.
19. Norman GL, Antig JM, Bigaignon G, Hogrefe WR. Serodiagnosis of Lyme borreliosis by *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, and *B. afzelii* western blots (immunoblots). *J Clin Microbiol* 1996;34:1732-1738.
20. Hauser U, Lehnert G, Wilske B. Validity of interpretation criteria for standardized Western blots (immunoblots) for serodiagnosis of Lyme borreliosis based on sera collected throughout Europe. *J Clin Microbiol* 1999;37:2241-2247.
21. Magnarelli LA. Current status of laboratory diagnosis for Lyme disease. *Am J Med* 1995;98:10-12.
22. Cinco M, Barbone F, Grazia-Ciufolini M, Mascioli M, Anguero-Rosenfeld M, Stefanel P, et al. Seroprevalence of tick-borne infections in forestry rangers from northeastern Italy. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:1056-1061.
23. Burkot TR, Schriefer ME, Larsen SA. Cross-reactivity to *Borrelia burgdorferi* proteins in serum samples from residents of a tropical country nonendemic for Lyme disease. *J Infect Dis* 1997;175:466-469.