

## Infección Simultánea de Ninfas de *Ixodes ricinus* por dos especies de *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato: posibles implicaciones de las manifestaciones de clínicas

Los datos de estudios Europeos indican que en humanos, genoespecies particulares de *Borrelia burgdorferi* pueden asociarse con las manifestaciones clínicas específicas de la enfermedad de Lyme. Las infecciones por *B. burgdorferi* sensu stricto tienden a conducir a síntomas artríticos, mientras que las infecciones por *B. garinii* parecen ocasionar complicaciones neurológicas. Las manifestaciones cutáneas tardías (acrodermatitis) parecen estar asociadas con *B. afzelii* (1). Las manifestaciones clínicas mixtas han sido también descritas (2). Recientemente se ha demostrado, mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que el DNA de más de una de las tres especies de *Borrelia* asociadas con la enfermedad de Lyme en Europa estaban presentes en los fluidos biológicos de los pacientes de enfermedad Lyme (3). Estos datos generan la pregunta en lo que concierne al crecimiento relativo de especies de *Borrelia* después de una mordedura por una garrapata dualmente infectada, la importancia clínica de la infección humana ocasionada por más de una de las especies de *Borrelia*, y el origen de estas infecciones múltiples. Este último punto evoca la siguiente pregunta: ¿Estas infecciones resultan de las mordeduras consecutivas por dos garrapatas infectadas o desde una única mordedura por una garrapata infectada por más de una especie?

Para investigar si las garrapatas están infectadas por especies diferentes del complejo *B. burgdorferi* a la vez, llevamos a cabo un muestreo del vector *Ixodes ricinus* durante la primavera de 1994, en Rambouillet Forest cerca de París. Un total de 249 ninfas no alimentadas, recolectadas de la vegetación, fueron analizadas por PCR. Las garrapatas se aplastaron en buffer de fosfatos salino, solubilizado en 0,5 % de Tween 20, y hervidas por 10 min. El lisado resultante fue usado como una plantilla para las reacciones de amplificación por los primers *ospA* universales basados en SL o en aquellos basados en los tres pares de primers genoespecíficos (3). Estos últimos primers distinguen las tres especies asociadas a la enfermedad de Lyme *B. burgdorferi* sensu lato p. ej., *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, y *B. afzelii*. En algunos casos, los productos amplificados de DNA fueron digeridos con enzimas de restricción específicas para confirmar la tipificación de la cepa de *Borrelia*.

Treinta de las 249 ninfas fueron positivas para *B. burgdorferi* cuando fueron usados los primers SL universales. La prueba adicional de 5 de 30 ninfas por PCR, usando conjuntos de primers genoespecíficos y el análisis de restricción, no confirmó los resultados preliminares con los primers universales. Esto puede haber sido debido o a la variabilidad genotípica de *B. burgdorferi* sensu lato o a la existencia de otro subgrupo distinto o especies genómicas incluidas en *B. burgdorferi* sensu lato, como otros datos parecen indicar (4). De las otras 25 ninfas, 22 fueron analizadas por ambas formas: análisis de restricción y primers específicos, y tres por la análisis de restricción sola. (El material disponible de garrapata no era suficiente para realizar PCR con primers genoespecíficos) Diecinueve ninfas estaban infectadas por especies únicas de *Borrelia* (cuatro por *B. garinii*, 15 por *B. afzelii*), y seis estaban infectadas por más de una (dos por ambos *B. burgdorferi* sensu stricto y *B. garinii*, tres por *B. garinii* y *B. afzelii*, uno por *B. burgdorferi* sensu stricto y *B. afzelii*).

A partir de estos resultados, parece que cuando las ninfas están infectadas con una especie, *B. afzelii* es la más frecuente. Estas especies pueden realmente ser prevalentes en esta área de estudio o pueden tener un mayor tropismo para el tejido dérmico y/o para el sistema circulatorio periférico del vertebrado que las otras dos especies. En ninfas infectadas, la presencia simultánea de más de una genoespecie en ninfas no alimentadas de *I. ricinus* no fue excepcional (24%), y todas las combinaciones de las dos especies fueron observadas. La asociación de tres genoespecies no ha sido aún detectada. Las infecciones simultáneas en ninfas sin alimentarse podrían tener diferentes explicaciones. La primera es una comida larval sobre un hospedador infectado por más de una especie. Recientemente, *Apodemus speciosus* (el ratón de campo) infectado por dos especies diferentes se han encontrado (5). Una segunda posibilidad es por comidas infecciosas interrumpidas sucesivas. Una tercera posibilidad es una comida larval infecciosa por una larva infectada anteriormente transovariamente. La cuarta posibilidad es una infección mixta adquirida transovariamente.

**Bruno Pichon,\* Edmond Godfroid,# Bernard Hoyois,# Alex Bollen,# Francois Rodhain,\* y Claudine Pérez-Eid\***

\* *Unite' d'Ecologie des Systèmes Vectoriels, Institut Pasteur 75724 Paris, France*  
# *Laboratoire de Genetique Applique', Universite' Libre de Bruxelles, Rue de l'Industrie 24, B-1400 Nivelles, Belgium*

Este trabajo fue apoyado por subsidios de Recherche & Partage Association, la Gould Foundation, y el Conseil du Departement du Val d'Oise. E. Godfroid, B. Hoyois, y A. Bollen, fueron apoyados por un subsidio del Walloon Region of Belgium (Convención UIB, Región Wallonne No. 2267).

## Referencias

1. Assous MV, Postic D, Paul G, Nevot P, Baranton G. Western blot analysis of sera from Lyme borreliosis patients according to the genomic species of the *Borrelia* strain used as antigens. *Eur J Clin Infect Dis* 1993;12:261-8.
2. Wienecke R, Neubert U, Volkenandt M. Cross-immunity among types of *Borrelia burgdorferi*. *Lancet* 1993;341:830-1.
3. Demaerschalck I, Ben Messaoud A, De Kesel M, Hoyois B, Lobet Y, Hoet P, et al. Simultaneous presence of different *Borrelia burgdorferi* genospecies in biological fluids of Lyme disease patients. *J Clin Microbiol* 1995;33:602-8.
4. Nohlmans LMKE, De Boer R, Van Den Boggard AEJM, Van Boven CPA. Genotypic and phenotypic analysis of *Borrelia burgdorferi* isolates from the Netherlands. *J Clin Microbiol* 1995; 33:119-25.
5. Nakao M, Miyamoto K. Mixed infection of different *Borrelia* species among *Apodemus speciosus* mice in Hokkaido, Japan. *J Clin Microbiol* 1995;33:490-2.