

## ¿Enfermedad de Lyme en Australia? Todavía a Probarse!

**Al Editor:** El primer caso de un síndrome equiparable con la Enfermedad de Lyme se informó en la región del Hunter Valley de New South Wales (NSW) en el sudeste de Australia en 1982, pero no había ninguna serología confirmatoria. Más casos clínicos, nuevamente sin confirmación serológica, fueron informados en 1986, dos en la costa austral y uno en la costa central de NSW. Los «Queensland State Health Laboratories» informaron que 186 (14,9%) de 1.247 sueros tomados de pacientes entre 1986-1989 mostraron respuesta serológica de anticuerpos a *Borrelia burgdorferi* 64 por la prueba de inmuno fluorescencia indirecta (IFA), pero ninguno de estos resultados fueron confirmados por inmunoblot.

En 1988, comenzó una investigación multidisciplinaria de casos presuntos de la Enfermedad de Lyme, comprendiendo estudios clínicos, serológicos, de vector, y de hospedador reservorio, y los resultados de estos estudios han sido publicados (1). Lo que sigue aquí es derivado de los datos acumulados publicados e inéditos del equipo de investigación, y de los miembros que se acreditan en el agradecimiento.

En los últimos 6 años, principalmente a causa de la publicidad local, ha habido un aumento en las pruebas serológicas para la Enfermedad de Lyme en Australia, particularmente del sudeste de Australia. La prueba ha sido frecuentemente realizada en pacientes con problemas de salud carentes de diagnóstico. Así, la mayoría de los pacientes de la Enfermedad de Lyme vistos por los especialistas infecciosos son autoseleccionados y son remitidos para evaluación en base de la exposición a garrapatas e informados como prueba serológica positiva para Enfermedad de Lyme.

Los pacientes con resultados serológicos positivos frecuentemente tienen síntomas de larga duración para los cuales no se ha establecido otro diagnóstico. Los síntomas más comunes son músculo esqueléticos, incluyendo mialgias y artralgias sin la evidencia objetiva de hinchazón articular, y los sín-

dromes que involucran fatiga y pérdida de energía se asemejan al síndrome de fatiga crónica. Algunos pacientes cumplen con criterios diagnósticos correspondientes a la fibromialgia. Los síntomas siguientes más comunes son neurológicos, e incluyen dolores de cabeza frecuentes, incapacidad para concentrarse, y pérdida de la memoria. La manifestación dermatológica más común de la Enfermedad de Lyme crónica, la acrodermatitis crónica atrophicans, vista ocasionalmente en Europa y rara vez en los Estados Unidos, no ha sido informada en Australia.

La manifestación dermatológica característica de la Enfermedad de Lyme aguda, se ha informado en el sudeste de Australia en unos pocos casos de eritema migrante, pero el diagnóstico clínico puede confundirse por reacciones de hipersensibilidad a la picadura de garrapata; una reacción eritematosa espectacular está frecuentemente asociada con la picadura de *Ixodes holocyclus*, la garrapata más común que ataca a humanos en NSW. Sólo ocho especímenes derivados a nuestro laboratorio incluyeron biopsias de piel para aislar espiroquetas. *B. burgdorferi* s.l. fue aislada de un paciente que regresó de Europa, pero no se aisló ninguna espiroqueta de pacientes locales.

En nuestro servicio de diagnóstico serológico, se ha usado un enzimo inmuno ensayo (ELISA) para IgG y una IFA para IgG e IgM con antígenos derivados de *B. burgdorferi* norteamericana cepa B31 (2). Desde 1988 hasta Abril 1994, de 4.372 pacientes locales, 78 (1,8%) fueron positivos para IgG por ambos métodos. La totalidad de los 78 pacientes fueron analizados para IgG por Western blot usando para la confirmación una cepa virulenta norteamericana de *B. burgdorferi* cepa 297 y una cepa Alemana designada B7: con *B. burgdorferi* cepa 297, 46 pacientes estudiados mostraron cuatro bandas indicadoras; con la cepa Europea B7, 22 pacientes analizados mostraron tres bandas indicadoras; las bandas usadas fueron 18, 21, 28, 30, 31, 34, 39, 41, 45, 58, 66, 83, y 93 kDa, modificadas por Dressler et al (3). Otros 24 pa-

cientes con diversos síndromes bacteriológicos, viróxicos, o autoinmunes no relacionados a la Enfermedad de Lyme se probaron como controles: con la cepa 297, las 11 muestras control mostraron dos bandas indicadoras, y con la cepa B7, las 10 muestras control mostraron dos bandas indicadoras.

Un grado alto de reactividad cruzada fue demostrada con los controles, particularmente con respecto a las bandas 31, 41, 58, y 66 Kda tanto con el antígeno Europeo como con el Estadounidense. Como ninguno de los 78 pacientes, incluyendo los de la última etapa de pacientes positivos presuntos por ELISA e IF, mostraron más de cuatro bandas específicas a un antígeno, se considerarían negativos por los criterios de Dressler et al (3). Menos del 1% de todos pacientes referidos se adaptaron a la definición de vigilancia nacional de caso usada en los Estados Unidos por los «Centers for Disease Control and Prevention». Los problemas de especificidad y sensibilidad asociados con las pruebas serológicas para la Enfermedad de Lyme son bien reconocidos, particularmente en Australia donde no ha sido aislada ninguna espiroqueta local para su uso como antígeno de referencia.

La tasa de seroprevalencia para la infección en humanos por *B. burgdorferi* ha sido comparada entre grupos de exposición de garrapata catalogados como: alta 200 (residentes rurales) y baja 200 (residentes urbanos) en la costa de NSW, por el uso de ELISA para IgG. No se encontró diferencia significativa entre los dos grupos, y el valor total de seropositividad fue 2,2% (9/400). Una encuesta paralela en perros en NSW ha mostrado un resultado similar con un valor total de seropositividad de 2,5% (6/239). Estos resultados contrastan con los informados en áreas conocidas de enfermedad endémica fuera de Australia que tienen poblaciones rurales con tasas de seropositivos apreciablemente más altas. La baja tasa encontrada por nuestras encuestas es similar a las encontradas por otros estudios emprendidos en áreas donde la Enfermedad de Lyme no es endémica, y con 1%-3% de resultados serológicos positivos en humanos cuya causa ha sido las reacciones cruzadas de anticuerpos (4).

Desde Enero de 1990 a Diciembre de 1992, se recolectaron garrapatas en áreas asociadas con casos presuntos de Enfermedad Lyme y se examinaron para espiroquetas para detectar al posible agente causal en vectores potenciales. Las garrapatas se recolectaron a lo largo de la costa oriental de Australia, desde el sur de Queensland a través de NSW al norte de Victoria, por acopio de hábitats naturales, y a partir de animales domésticos y otros animales nativos. La detección de espiroquetas fue intentada por microscopía en campo oscuro y cultivando contenidos de intestino y por prueba directa de garrapatas mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar el gen específico de la flagelina de *Borrelia* (5).

En el total, se procesaron más de 12.000 garrapatas (>1.000 por PCR), incluyendo 7.922 *I. holocyclus* (1). No fue detectada ninguna espiroqueta por microscopía de campo oscuro o por PCR. Objetos semejantes a espiroquetas (Spirochete-like objects- SLOs), se observaron en 94 cultivos de sangre de garrapatas y sólo en cultivos con contaminantes bacterianos presumiblemente de la alimentación sanguínea. Algunos SLOs brindaron resultados positivos de fluorescencia cuando se probaron con anticuerpos específicos policlonales anti *Borrelia*, pero las pruebas con anticuerpos monoclonales (anti-flagelina H9724, anti-OspA H5332, anti-OspB H6831) fueron negativas. Las microfotografías electrónicas mostraron que los SLOs no fueron típicos de *Borrelia*, estaban compuestos de fibras, y probablemente no fueran espiroquetas. Las microfotografías electrónicas fueron parecidas a las microfotografías de SLOs recuperadas de cultivos contaminados de garrapatas en los Estados Unidos y Europa y se pensó que estaba compuesto de cúmulos de flagelos bacterianos, probablemente de los contaminantes. La caracterización molecular indicó que los SLOs no estaban relacionados a *B. burgdorferi*.

Un pequeño número de animales vertebrados nativos (13 ratas nativas *Rattus fuscipes*, 3 "bandicoots" *Perameles nasuta*, y 1 ratón marsupial *Antechinus stuartii*) atrapados en la costa austral de NSW fueron biopsiados por punción de oreja (6) para el cultivo e investigación por PCR, pero no se encontró evidencia de *Borrelia*. El muestreo animal fue claramente inadecuado, y los primers de PCR usados para la garrapata y los animales estudiados pueden haber sido inapropiados e incapaces de identificar espiroquetas nativas Australianas; sin embargo, las extensas investigaciones de contenidos intestinal de garrapatas por cultivo y microscopía en campo oscuro fueron también negativas para *Borrelia*.

Hay algunas diferencias importantes en la Enfermedad de Lyme entre Australia y las áreas endémicas del hemisferio Norte con respecto a la historia natural de la borreliosis. No existen en Australia garrapatas del complejo *I. persulcatus*, el principal vector para el ser humano en el hemisferio norte. En Australia oriental, el candidato vector lógico sería el *I. holocyclus*, que tiene una amplia gama de hospedadores y es la garrapata más común que pica a humanos. *I. holocyclus* no puede transmitir una cepa norteamericana de *B. burgdorferi* (7) pero la asociación con cualquier posible espiroqueta Australiana permanece sin resolver. Asimismo, ninguna de las especies de mamíferos identificadas como los hospedadores reservorios en el hemisferio Norte están presentes en Australia. Hay informes de espiroquetas en animales nativos Australianos, y un mamífero local podría ser un hospedador reservorio para una espiroqueta nativa que ocasionalmente infecta humanos mediante una garrapata vector y produce un síndrome clínico parecido a la Enfermedad

de Lyme; sin embargo, ninguna espiroqueta fue detectada en las garrapatas o los animales estudiados.

El diagnóstico de la Enfermedad de Lyme fuera de áreas conocidas como endémicas no deberían basarse únicamente sobre la serología porque algunos síndromes no relacionados, tales como las enfermedades autoinmunes y las reacciones cruzadas con otras bacterias, pueden producir falsos resultados positivos. Asimismo, un diagnóstico definitivo basado en terrenos clínicos solamente en un área no endémica es difícil de justificar sin el apoyo científico adecuado basado en el aislamiento del agente causal a partir del paciente, de otro paciente, o del vector conocido en la región. En Australia, el desacuerdo con respecto a qué constituye un resultado positivo serológico ha contribuido por demás a sobrediagnosticar la Enfermedad de Lyme. Hasta que un organismo sea aislado de un paciente local y se caracterice, la presencia de Enfermedad de Lyme en Australia permanecerá discutible.



## Referencias

1. Russell RC, Doggett SL, Munro R, Ellis J, Avery D, Hunt C, Dickeson D., Lyme disease: a search for the causative agent in ticks in southeastern Australia. *Epidemiol Infect* 1994; 112:375-84.
2. Russell H, Sampson JS, Schmid GP, Wilkinson HW, Plikaytis B., Enzyme-linked immunosorbent assay and direct immunofluorescence assay for Lyme disease. *J Infect Dis* 1984; 149:465-70.
3. Dressler F, Whalen JA, Reinhardt BN, Steere AC. Western blotting in the serodiagnosis of Lyme disease. *J Infect Dis* 1993; 167:392-400.
4. Barbour AG, Fish D. The biological and social phenomenon of Lyme disease. *Science* 1993; 260:1610-6.
5. Persing DH, Telford III SR, Rys PN, Dodge DE, White TJ, Malawista SE, Spielman A. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in museum specimens of *Ixodes dammini* ticks. *Science* 1990; 249:1420-3.
6. Sinsky RJ, Piesman J. Ear punch biopsy method for detection and isolation of *Borrelia burgdorferi* from rodents. *J Clin Microbiol* 1989; 27:1723-7.
7. Piesman J, Stone BF. Vector competence of the Australian paralysis tick, *Ixodes holocyclus*, for the Lyme disease spirochaete *Borrelia burgdorferi*. *Int J Parasitol* 1991; 21:109-11.



## Agradecimientos

A mis colegas Rosemary Munro (microbiología clínica), «Department of Microbiology», «Liverpool Hospital», y Stephen Doggett (entomología), David Dickeson (serología), Danielle Avery (biología molecular), Cheryl Hunt (biología molecular), Joanne Mercer (microbiología), y Nicole Trivett (microscopía electrónica), CIDM en el Westmead Hospital, y John Ellis (biología molecular), «Department of Microbiology, University of Technology» Sydney, Richard Lawrence, «Clinical Superintendent of Medicine, Westmead Hospital», que brindaron valiosas discusiones sobre aspectos clínicos de presentación de caso. Nuestras investigaciones fueron apoyadas por el «National Health and Medical Research Council» y la «Ramaciotti Foundation».

### **Richard C. Russell**

Department of Medical Entomology, Centre for Infectious Diseases and Microbiology, University of Sydney and Westmead Hospital, Westmead, Australia