

Detección de anticuerpos tipo IgG contra *Borrelia burgdorferi*, y factores asociados a la enfermedad de Lyme en población canina, de los municipios Honda-Tolima, La Mesa y Chia-Cundinamarca

Detection of IgG-type antibodies against *Borrelia burgdorferi*, and factors associated with Lyme disease in the canine population, of the municipalities Honda-Tolima, La Mesa and Chia-Cundinamarca

Lucia Constanza Corrales¹, E. Stiven Quijano Duarte², Evelyn Y. Ramirez Hernandez³

Resumen

Borrelia burgdorferi, es la espiroqueta responsable de ocasionar la enfermedad de Lyme en el hombre y diferentes animales. **Objetivo.** Detectar anticuerpos tipo IgG específicos contra *Borrelia burgdorferi*, en caninos mediante la técnica de inmunofluorescencia y su correlación con otros factores asociados a la enfermedad de Lyme. **Métodos.** Se tomó sangre para detección de IgG contra *Borrelia burgdorferi* sl; frotis de sangre periférica de los caninos y hemolinfa de las garrapatas para búsqueda de espiroquetas con la coloración de Wright y finalmente clasificación de las garrapatas mediante claves morfométricas. **Resultados.** En la prueba serológica en promedio el 69.0 % de los caninos muestreados dieron positivos en las diferentes titulaciones. Se visualizaron estructuras bacterianas de forma espiral tanto en la sangre periférica de los caninos, como en la hemolinfa de las garrapatas, el vector encontrado se clasificó como *Rhipicephalus sanguineus*, hasta ahora no reportado en la literatura científica como portador de *Borrelia*, ni asociado a la enfermedad.

Palabras claves: *Borrelia burgdorferi*, enfermedad de Lyme, espiroqueta, eritema, perros, inmunofluorescencia.

1. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico.
Número de certificación CvLac: 000048264120121119123
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2398-348X>

2. Armada Nacional de Colombia. Bacteriólogo y Laboratorista Clínico.
Número de certificación CvLac: 00017437332019922915
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-2636>

3. Centro Nacional de la Salud. Bacterióloga y Laboratorista Clínico.
Número de certificación CvLac: 000174632120191081811
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2138-8062>

Correo electrónico de correspondencia: lcorrales@unicolmayor.edu.co

Abstract

Borrelia burgdorferi, is the spirochete responsible for causing Lyme disease in man and different animals. **Objective.** Detect specific IgG type antibodies against *Borrelia burgdorferi*, in canines using the immunofluorescence technique and its correlation with other factors associated with Lyme disease. **Methods.** Blood was taken for IgG detection against *Borrelia burgdorferi* sl; Peripheral blood smear of the canines and hemolymph of the ticks to search for spirochetes with Wright staining and finally classification of the ticks using morphometric keys. **Results.** In the serological test, on average 69.0% of the canines sampled gave positive results in the different titrations. Bacterial structures were spirally visualized both in the peripheral blood of the canines and in the hemolymph of the ticks. The vector found was classified as *Rhipicephalus sanguineus*, until now not reported in the scientific literature as a carrier of *Borrelia*, nor associated with the disease.

Keywords: *Borrelia burgdorferi*, Lyme disease, spirochete, erythema, dogs, immunofluorescence.

Introducción

Las espiroquetas que pertenecen al género *Borrelia*, son un grupo de microorganismos cosmopolitas, que incluyen especies transmitidas por artrópodos hematófagos patógenas para ciertos animales vertebrados, incluyendo al humano. Las especies de *Borrelia* que presentan mayor interés clínico son: “*Borrelia burgdorferi*, transmitida por garrapatas duras (Ixodidae) y principal agente etiológico de la enfermedad de Lyme cuyo predominio está en Norteamérica y Europa. Lleva el apellido de quien la descubrió el señor Willi Burgdorfer en el año de 1982, y *Borrelia recurrentis*, responsable de la fiebre recurrente, transmitida por piojos (*Pediculus humanus*) y algunas garrapatas

blandas (*Argasidae*)” (1). “Las espiroquetas se clasifican dentro de tres familias filogenéticas: Spirochaetaceae, Braquispiraceae y Lepstospiraceae” (2), siguiendo en su taxonomía del orden Spirochaetales y se caracterizan por ser bacterias Gram negativas que presentan una morfología helicoidal. El género *Borrelia*, posee una longitud que oscila entre 3 a 20 μm y 0.2 μm a 0.5 μm de ancho, además poseen de 7 a 30 flagelos periplásmicos a partir del extremo celular lo que les confiere una movilidad en forma de ondas. “Necesitan ácidos grasos de cadena larga para su desarrollo y una temperatura de 28 a 30°C. No producen catalasa, la principal fuente de carbono y energía para su desarrollo son los hidratos de carbono, a partir de los cuales obtienen ácido láctico.

Contiene ornitina como componente aminoácido presente en el peptidoglucano y no posee túbulos citoplasmáticos” (3). Entre los factores de patogenicidad y virulencia además de los plásmidos, posee las proteínas de superficie Osp A y Osp B, y puede sobrevivir sin hierro el cual sustituye por manganeso.

Si bien las enfermedades transmitidas por artrópodos han tomado un importante lugar en los estudios de salud pública y medicina interna, no es el caso de la borreliosis, al igual que otras se considera una enfermedad nueva. En América, algunos estudios han permitido determinar la seroprevalencia asociada al microorganismo en perros y humanos, y la presencia de los vectores ha sido un factor de asociación positiva en la mayoría de casos (4).

La importancia de la borreliosis de Lyme radica en que es una enfermedad de tipo zoonótico, hoy en día la mayor parte de la comunidad tiene mascotas y estas son susceptibles de infectarse por la picadura de garrapatas. La enfermedad puede traerle muchas consecuencias al animal. Clínicamente la mayoría de caninos pueden no presentar signos evidentes en fases iniciales a pesar de tener la infección, lo que dificulta su abordaje clínico y diagnóstico. En los animales sintomáticos puede haber fases con distintos grados de cronicidad, que generan síntomas como “artritis, cojera, eritema migratorio, fatiga, anorexia, malestar

general, dolor muscular, rigidez en el cuello, fiebre, bloqueo cardíaco, insuficiencia renal y cambios neurológicos como convulsiones, agresión, y en algunos casos la muerte” (5).

Los caninos como la mayoría de los mamíferos cuentan con tres sistemas de defensa: las barreras físicas, la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa.

La primera barrera de defensa física es la piel, muy eficiente en la protección contra los agentes patógenos. Se requiere una herida, trauma, intervención quirúrgica o picadura de un vector tipo artrópodo como en el caso de la enfermedad de Lyme para que *Borrelia burgdorferi* penetre. La segunda barrera física son las mucosas, en el caso de la infección por esta bacteria, cuando los caninos presentan una ectoparasitosis severa, por reflejo tienden a desprenderlas con la boca en zonas como las patas, el lomo, la grupa y el muslo, debido a ello los caninos pueden ingerirlas llegando hasta su sistema digestivo. Diferentes estudios han llegado a la conclusión que la enfermedad de Lyme también se puede presentar de esta manera en caninos inmunocomprometidos.

Se ha evidenciado que las células del “sistema inmune innato poseen unos receptores denominados “receptores de reconocimiento de patrones” (PRRs), los cuales reconocen estructuras concretas en los agentes patógenos, denominados “patrones moleculares asociados a patógenos” (PAMPs).

La estrategia de reconocimiento microbiano se basa en la detección de patrones moleculares conservados que son productos esenciales de la fisiología microbiana” (6), los cuales corresponden a lipopolisacáridos, peptidoglucanos, ácidos lipoteicoicos, DNA, RNA y glucanos que se expresan en la membrana de los microorganismos patógenos y que son esenciales para su supervivencia.

Los PRRs reconocen a los PAMPs por medio de algunas moléculas como los Receptores de tipo Toll (TLR) “que se encuentran en la membrana de células fagocíticas, presentadoras de antígenos, asesinas naturales, epiteliales intestinales y células linfoides, cuya capacidad es reconocer un número discreto de ligandos presentes en bacterias, hongos, virus y protozoos” (7). Otro “receptor importante en la inmunología innata son los receptores tipo NOD (nucleotide-binding oligomerization) que se caracterizan por ser intracelulares que detectan productos antimicrobianos” (8), así el cuerpo de un animal puede enfocar sus mecanismos de defensa innatos en los sitios de invasión microbiana en el complejo conjunto de reacciones que llamamos inflamación que en el caso de la infección por parte de *Borrelia burgdorferi*, puede generar dicha reacción en forma localizada o en varios sitios del cuerpo.

Inmediatamente se inicia el proceso de fagocitosis, por el que se destruyen y eliminan los agentes extraños. Simultáneamente, las

células fagocíticas producen señales químicas (citoquinas, tales como el factor de necrosis tumoral) y “otros mediadores, que también inducen inflamación. La inflamación a su vez, atrae y concentra nuevas células y moléculas en los lugares de invasión, intentando erradicar la infección y reparando los tejidos dañados” (9).

La respuesta inmune adaptativa se desarrolla mediante dos mecanismos fundamentales: respuesta inmune humoral, donde los linfocitos B juegan un papel preponderante; y respuesta inmune celular, donde los linfocitos T son las células fundamentales. “La inmunidad frente a los invasores extracelulares depende sobre todo de los linfocitos B, que producen los anticuerpos que favorecen la destrucción microbiana” (10).

En cuanto a animales domésticos, los caninos resultan ser un importante hospedador para algunas de estas especies de espiroquetas, siendo de especial relevancia *Borrelia burgdorferi*, transmitida de igual forma por artrópodos ixódidos, convirtiéndose así en una importante zoonosis transmitida por garrapatas (11).

Borrelia burgdorferi posee un ciclo de vida bastante complicado, puesto que viaja entre vectores artrópodos cuya taxonomía se caracteriza por ser de la clase Arachnida, subclase Acari, orden Parasitiformes, suborden Ixodida, super familia Ixodoidea, familia Ixodidae y género Ixodes cuyas especies más

representativas son: *Ixodes scapularis*, *Ixodes pacificus*, *Ixodes dentatus* e *Ixodes ricinus* estas son las principales especies de los vectores en Norteamérica, Europa y Asia; una de las particularidades más importantes que poseen estos vectores es que se desarrollan en tres periodos de maduración: larva, ninfa, y adultos (macho y hembra) además viaja en hospederos vertebrados desde pequeños roedores silvestres hasta grandes mamíferos como ciervos.

Como lo menciona Villamil en su tesis doctoral titulada “Epidemiología de “*Borrelia burgdorferi* sL” (enfermedad de Lyme) en un ecosistema de pinar de montaña supramediterráneo” (12).

La hembra adulta pone los huevos en la vegetación, tras lo cual muere. Cuando las condiciones atmosféricas son buenas, nacen las larvas que miden menos de 1 mm y poseen tres pares de patas. Las larvas se alimentan durante 3-4 días generalmente en pequeños animales silvestres, y posteriormente caen al suelo donde mudan a la fase de ninfa. Estas son un poco más grandes (2mm), con cuatro pares de patas, sin abertura genital y por lo general se alimentan durante varios días de animales silvestres, domésticos y el hombre. Cuando están repletas caen al suelo y mudan a la fase adulto (machos o hembras), que vuelve a picar a un hospedador ya sean grandes animales o incluso el hombre. Las garrapatas hembras, tras permanecer 5 a 7 días alimentándose y ser fecundadas por

los machos, caen de nuevo a la vegetación y comienzan la puesta de huevos.

Esto indica que la espiroqueta debe ser capaz de “adherirse y sobrevivir en el intestino del artrópodo, penetrar el epitelio de dicho órgano y atravesar la hemolinfa hasta llegar a las glándulas salivales y de esta manera transportarse al flujo sanguíneo del hospedero” (13), evitando la reacción inmune y diseminándose en los órganos diana; lo cual logra evadiendo la respuesta inmunitaria tanto innata como adaptativa gracias a varias proteínas de membrana externa y proteínas adhesivas que posee.

La variedad de reservorios de *Borrelia burgdorferi* es amplia y esto se debe a la gran distribución que tiene, en los mamíferos salvajes, especialmente “roedores pequeños como el *Apodemus leucopus* o más conocido como ratón de patas blancas y el venado *Odocoileus virginianus* también conocido como venado de cola blanca” (14), son los reservorios más competentes en Estados Unidos, y el ratón *Apodemus flavicollis*, en el continente europeo y asiático.

En todo el mundo se pueden presentar casos accidentales donde el vector se infecta de alguno de estos reservorios, y transmite el microorganismo a otras especies como caninos y humanos lo cual puede ocurrir por el contacto con la naturaleza (áreas forestales) y animales silvestres.

La borreliosis o enfermedad de Lyme es de “distribución mundial, aunque se describe prácticamente solo en el hemisferio norte y constituye la enfermedad transmitida por vectores más común en Estados Unidos de

América, y regiones Euroasiáticas” (15). La distribución de las especies más representativas de *Borrelia sensu stricto* se explica en la Tabla 1.

Tabla 1. Diversidad de especies de *Borrelia* junto con su localización y vector.

<i>Borrelia</i>	Localización	Vector
<i>Borrelia burgdorferi sensu stricto</i>	Estados Unidos América latina Europa	<i>Ixodes</i> sp
<i>Borrelia garinii</i>	Europa	<i>Ixodes ricinus</i>
	Asia	<i>Ixodes persulcatus</i>
<i>Borrelia afzelii</i>	Europa	<i>Ixodes ricinus</i>
	Asia	<i>Ixodes persulcatus</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Oeste de los Estados Unidos	<i>Ixodes pacificus</i>
	Norte y centro de los Estados Unidos	<i>Ixodes scapularis</i>
	Europa	<i>Ixodes ricinus</i>
	América Latina	<i>Ixodes</i> sp
<i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>	América Latina	<i>Ixodes</i> sp

Fuente: Elaboración propia.

En América Latina, países como Brasil y México han realizado estudios moleculares, serológicos y clínicos, un poco más profundos sobre Borreliosis tanto en caninos como en humanos, que indican la existencia de la bacteria en estos países. La detección de *Borrelia burgdorferi* “no posee un método

completamente estandarizado y los investigadores usan distintos reactivos, protocolos y sus propios criterios de validación” (16). A nivel mundial se usan pruebas para la detección del agente (diagnóstico directo) o la respuesta que se ha producido en el hospedero (diagnóstico indirecto).

Materiales y métodos

Muestra

58 caninos de los municipios de Honda-Tolima, la Mesa y Chía Cundinamarca, lugares geográficos con la temperatura y humedad que permite el ciclo de vida de la garrapata. Los animales seleccionados presentaban una alta ectoparasitosis, y se les tomó sangre en tubo seco para obtención de suero y en tubo con anticoagulante para los FSP, de igual forma se recolectaron las garrapatas.

Identificación anticuerpos IgG por la técnica IFI

Mediante inmunoensayo de fluorescencia indirecta se realizó la detección y semicuantificación de anticuerpos de clase IgG contra *Borrelia burgdorferi* sl, con el kit anticuerpos IgG contra *Borrelia burgdorferi*, IFI- FULLER laboratorios. El principio de la Inmunofluorescencia indirecta se basa en demostrar si en el suero del paciente existen anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi*, los cuales se unirán al antígeno que está adherido al portaobjeto, complejo que es detectado mediante la adición de anti-inmunoglobulina canina conjugada con fluoroforo. Finalmente, la reacción es observada mediante microscopio de fluorescencia.

Las láminas IFA en este kit, contienen espiroquetas de *Borrelia burgdorferi* sensu lato dentro de una matriz de homogenizado de

saco de yema de huevo lavado con acetona. Los sueros de los caninos y el control se llevan a dilución de tamizado en solución salina tamponada con fosfato (PBS), 1/256, 1/512, 1/1024 y se incuban para permitir la reacción del anticuerpo con las espiroquetas, a continuación, se lavan y se añade la IgG anti-canina marcada con fluoroforo (conjugado) para reaccionar con los complejos antígeno-anticuerpo y marcarlos.

La reacción positiva se ve como espiroquetas fluorescentes de color verde manzana contra un fondo rojo de la matriz del saco vitelino.

Frotis de sangre periférica de los caninos

Procedimiento que generalmente se utiliza para la observación microscópica de células sanguíneas y microorganismos hemáticos. El método que se utilizó fue el del portaobjetos, también conocido como método de cuña.

Identificación Taxonómica de Ectoparásitos

La clasificación de la garrapata se realizó mediante el análisis de las características morfométricas y su comparación con las guías ilustradas.

Observación de espiroquetas en la hemolinfa de la garrapata

Mediante punción con el estilete o aguja fina de disección en el artrópodo hembra pleto-rizada, se obtuvo la hemolinfa con el fin de realizar un frotis periférico para realizar la observación de espiroquetas. El procedimiento consistió en inmovilizar el artrópodo con unas pinzas, realizar una punción con el estilete en la cutícula suave debajo del escudo dorsal en la parte distal, recolectar la hemo-linfa, realizar el frotis, colorear con Wright y observar al microscopio.

Resultados

Descripción de la población de caninos

Los caninos muestreados cumplieron con los siguientes criterios de inclusión: presentar signos clínicos como decaimiento o fiebre en los últimos dos meses, exposición a artrópodos (garrapatas) o ectoparasitosis, que vivieran o hubieran estado en lugares donde la temperatura superará los 24 °C, que el esquema de vacunación estuviera incompleto y que preferiblemente presentara eritema migrans. Las fotografías 1, 2 y 3, muestran los caninos con ectoparasitosis.

Figura 1. Parte trasera de la pierna de un canino con ectoparasitosis.



Fuente: Autores.

Figura 2. Ectoparasitosis de un canino entre los dedos de la garra.



Fuente: Autores.

Figura 3. Canal auditivo de un canino obstruido por garrapatas.



Fuente: Autores.

Resultado de las pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFI)

Honda – Tolima

Inmunofluorescencia Indirecta IFI Honda-Tolima (n = 12)

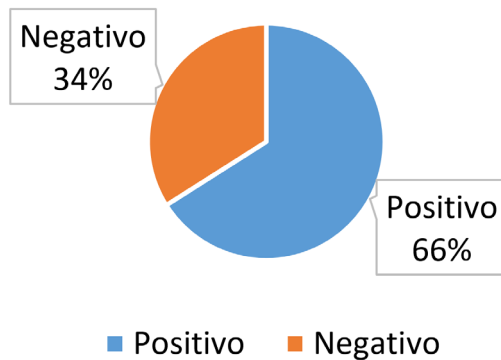


Figura 4. Resultado de Positividad de Inmunofluorescencia indirecta en Honda- Tolima.

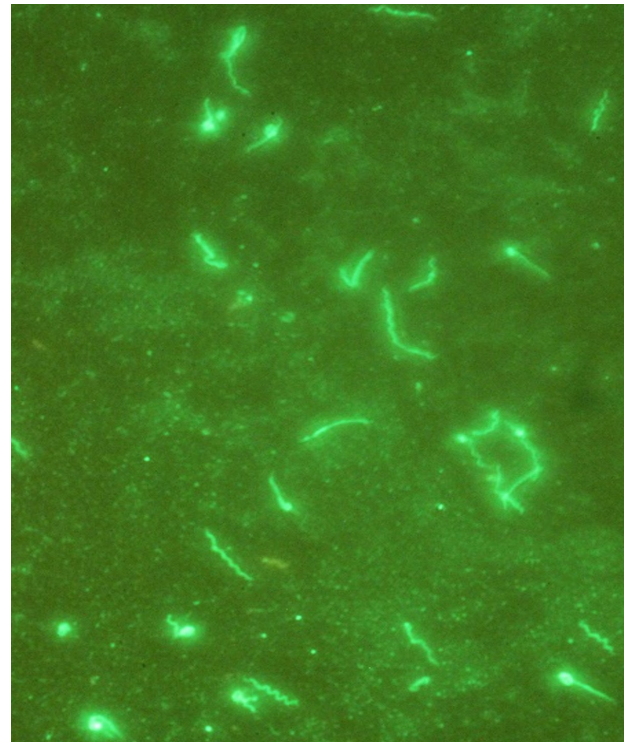


Figura 5. Resultado Positivo de IFI contra *Borrelia burgdorferi* en canino de Honda-Tolima /Quijano, Ramírez.

Titulación de anticuerpos en caninos de Honda- Tolima

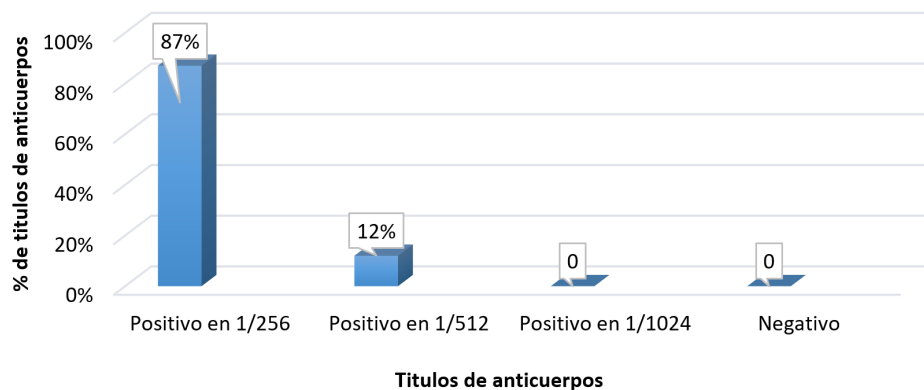


Figura 6. Resultados de la Titulación IFI en Honda- Tolima.

La Mesa- Cundinamarca

Inmunofluorescencia Indirecta IFI La Mesa- Cundinamarca (n = 28)

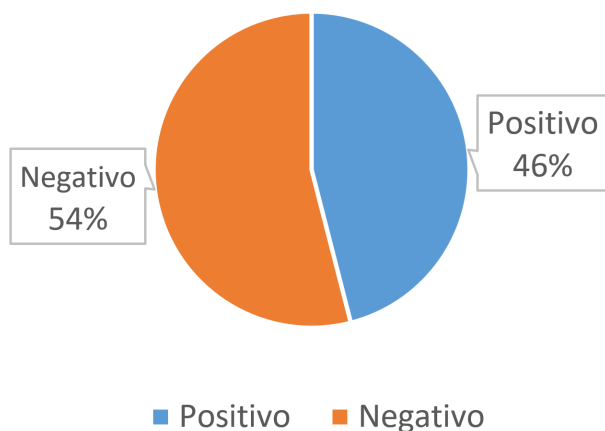


Figura 7. Resultado de Positividad de Inmunofluorescencia indirecta en La Mesa- Cundinamarca.

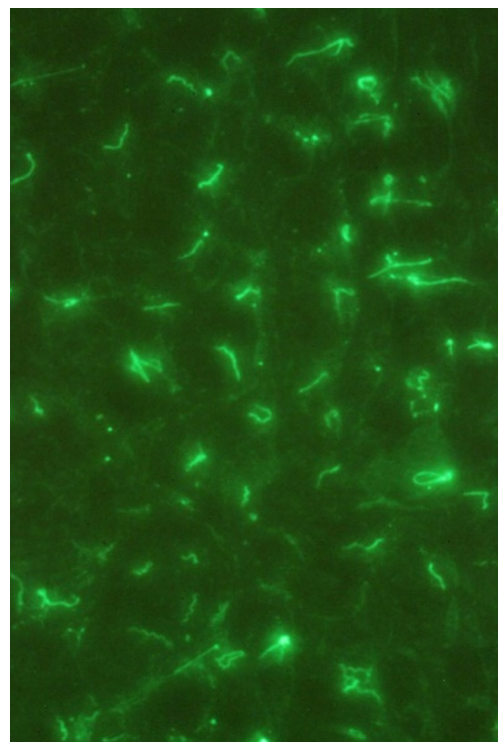


Figura 8. Resultado Positivo de IFI contra *Borrelia burgdorferi* en canino de la Mesa Cundinamarca /Quijano, Ramírez.

Titulación de anticuerpos en La Mesa- Cundinamarca

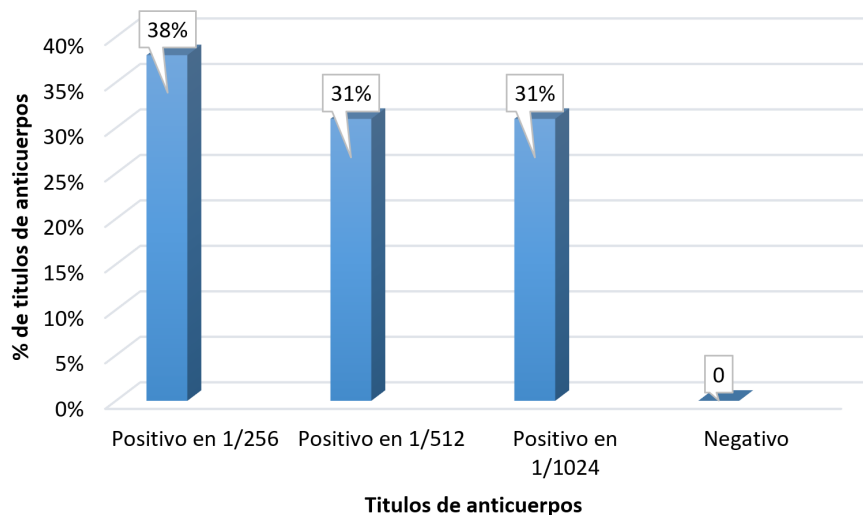


Figura 9. Resultados de la Titulación IFI en la Mesa- Cundinamarca.

Chía – Cundinamarca

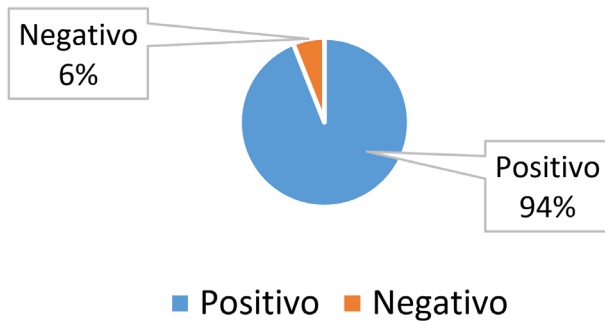
Inmunofluorescencia Indirecta IFI
Chía-Cundinamarca (n = 18)

Figura 10. Resultado de Positividad de Inmunofluorescencia indirecta en Chía-Cundinamarca.

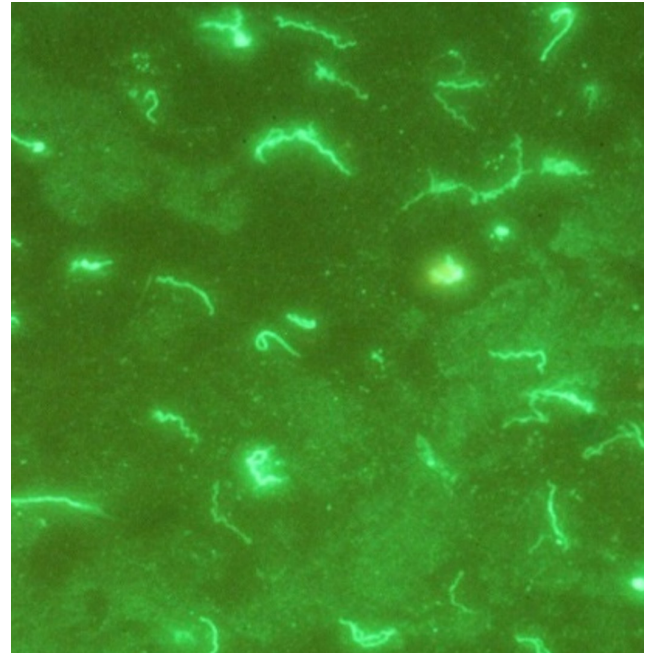


Figura 11. Resultado Positivo de IFI contra *Borrelia burgdorferi* en canino de Chía-Cundinamarca /Quijano, Ramírez.

Titulación de anticuerpos en Chía-Cundinamarca

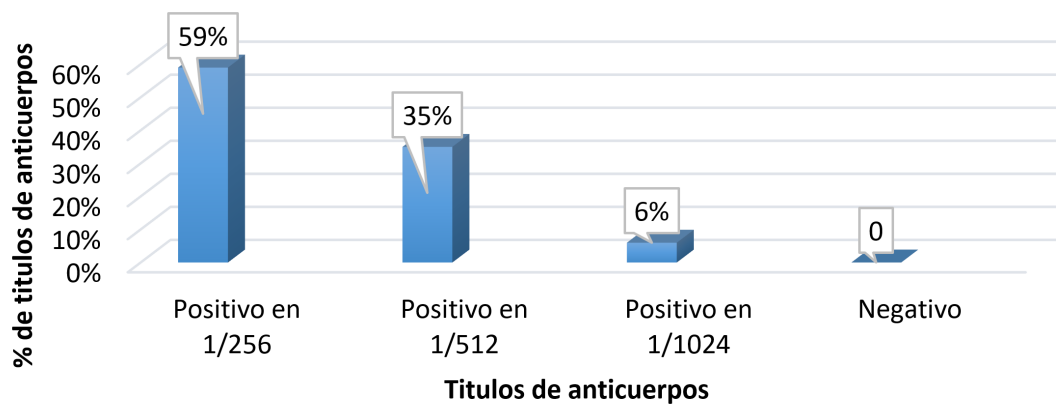


Figura 12. Resultado de Titulación IFI en Chía-Cundinamarca.

En la figura 13, se muestra que 40 caninos corresponden al 69% del total de la población muestreada (n=58) dieron positivas para la prueba de IFI contra *Borrelia*

burgdorferi, confirmando que los caninos presentan anticuerpos IgG, frente a la espiroqueta.

Resultados de la Técnica de Inmunofluorescencia Indirecta IFI

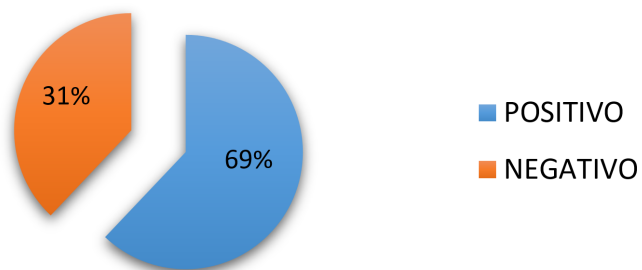


Figura 13. Resultado de IFI en población total de los tres municipios muestreados en porcentaje.

En la siguiente gráfica se observa que en la prueba inmunoserológica, el mayor número de muestras correspondieron a la dilución 1/256.

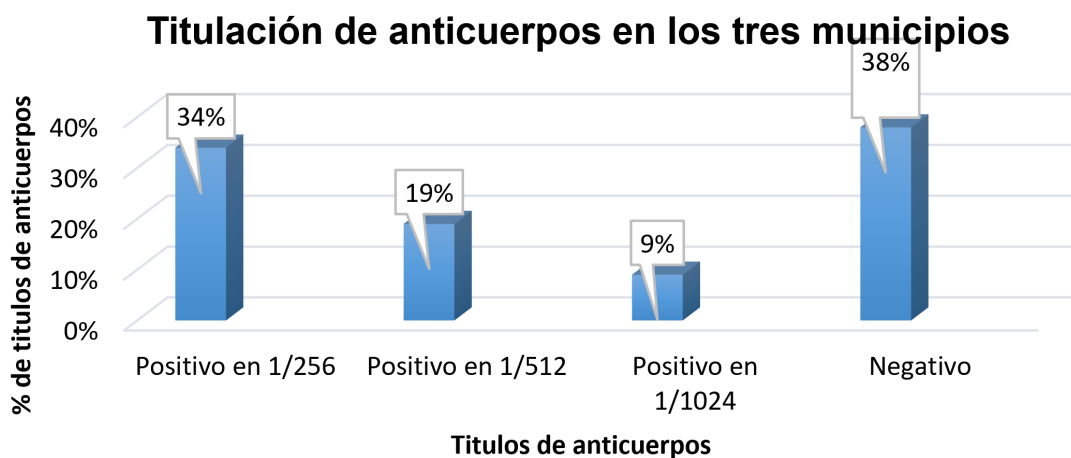


Figura 14. Resultado de IFI de las diluciones realizadas.

*Resultado de la búsqueda de
espiroquetas en los FSP de los caninos*



Figura 15. Espiroqueta en extendido de sangre periférico de canino muestreado en Honda-Tolima/Quijano, Ramírez.



Figura 16. Espiroqueta en extendido de sangre periférico de canino muestreado en la Mesa- Cundinamarca/Quijano, Ramírez.

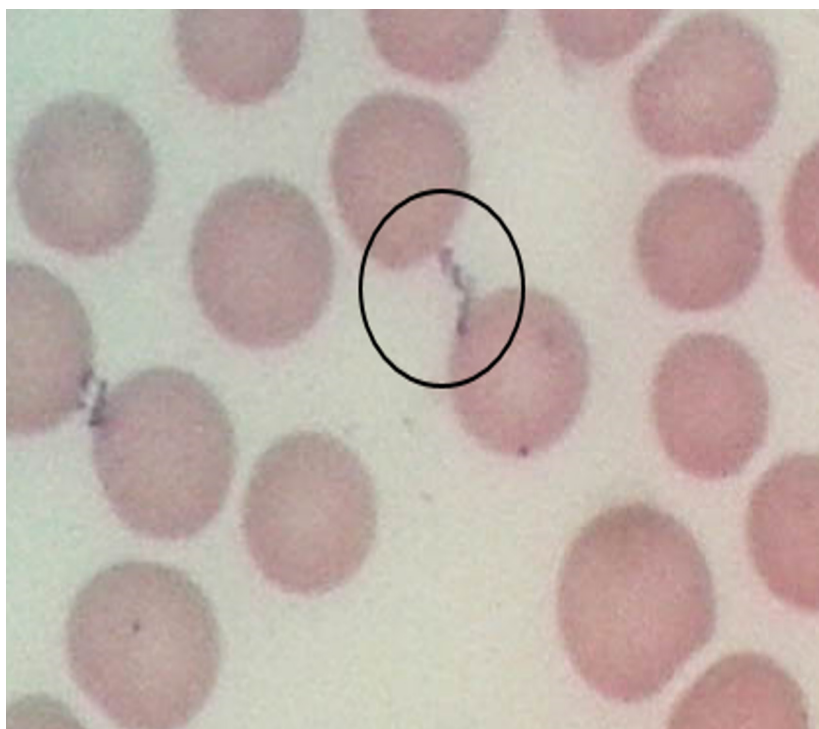


Figura 17. Espiroqueta en extendido de sangre periférico de canino muestreado en Chía-Cundinamarca/Quijano, Ramírez.

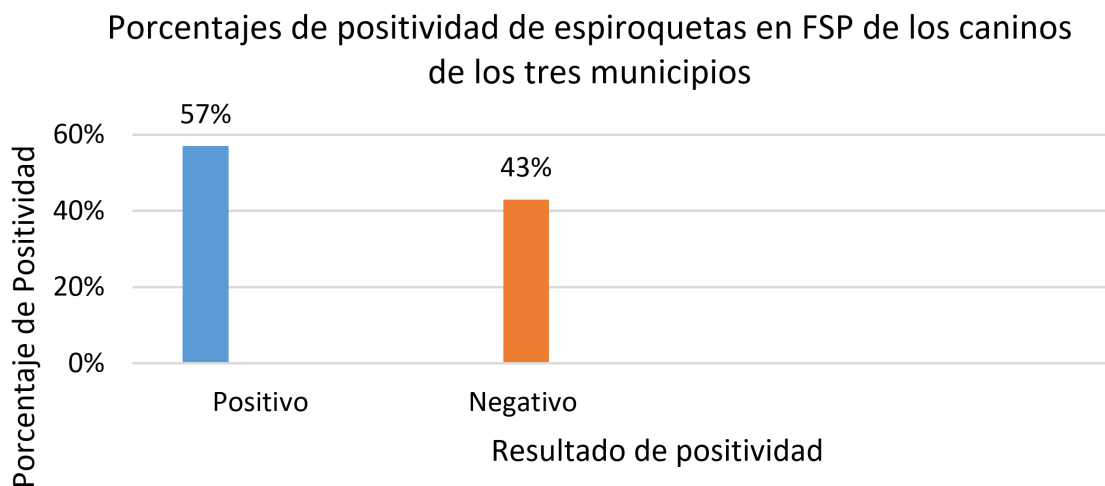


Figura 18. Porcentajes de positividad de FSP de los tres municipios.

Resultado de la clasificación entomológica de las garrapatas

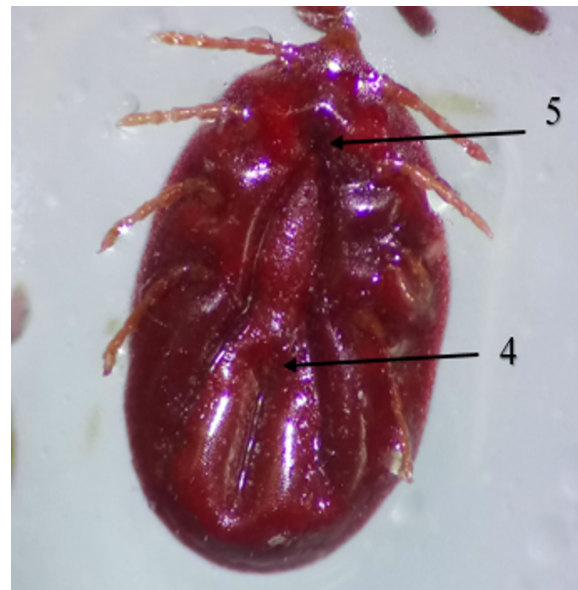
Para la clasificación de los artrópodos se utilizaron diferentes claves de identificación ilustradas del libro “Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species” las cuales permitieron la identificación de las garrapatas. Los resultados fueron los siguientes:

Reino: *Animalia*
Filo: *Arthropoda*
Clase: *Arachnida*
Subclase: *Acari*
Superorden: *Parasitiformes*
Orden: *Ixodida*
Familia: *Ixodidae*
Género: *Rhipicephalus*
Especie: *R. sanguineus*



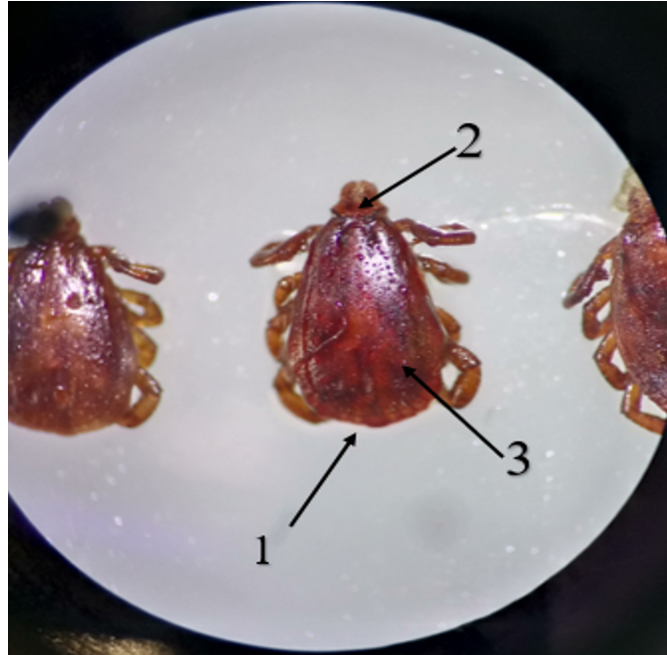
Nota. 1: Festones, 2: Capitulo hexagonal, 3: Escudo dorsal incompleto.

Figura 19. Garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Hembra) /Quijano, Ramirez.



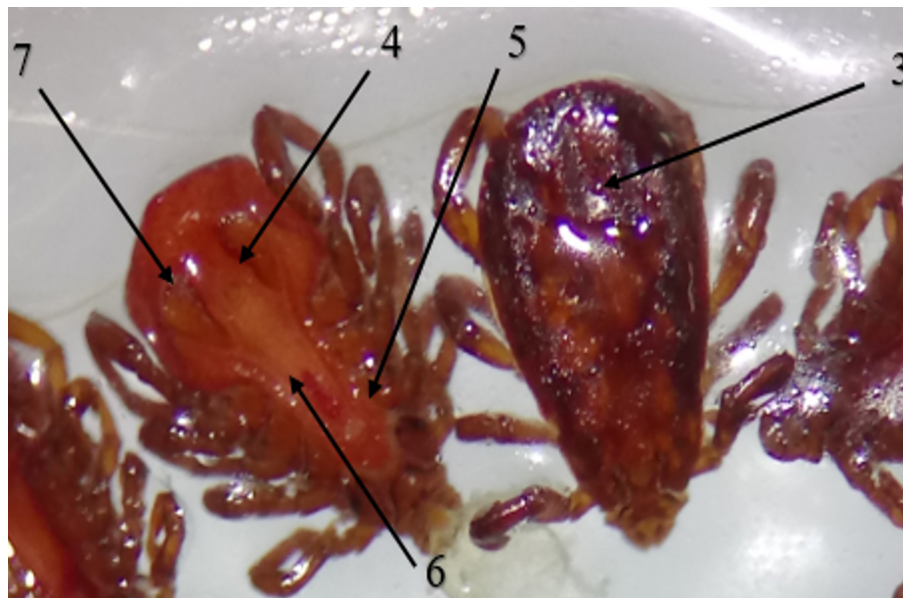
Nota. 4: Ano, 5: Orificio genital.

Figura 20. Garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Hembra pleto-rizada) /Quijano, Ramirez.



Nota. 1: Festones, 2: Capitulo hexagonal, 3: Escudo dorsal completo.

Figura 21. Garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Macho) /Quijano, Ramírez.



Nota. 3: Escudo dorsal completo, 4: Ano, 5: Orificio genital, 6: Surco genital, 7: Placas ventrales.

Figura 22. Garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* (Macho) /Quijano, Ramírez.

La garrapata canina marrón, garrapata de perro o garrapata café del perro (*Rhipicephalus sanguineus*) es un artrópodo ectoparásito hematófago de la familia Ixodidae, que ataca con frecuencia los perros, aunque también puede parasitar a otros animales domésticos, salvajes e incluso ocasionalmente al humano. Su tamaño es variable, las hembras son generalmente más grandes que los machos (dimorfismo sexual), también influye el que se estén o no alimentando, es así que, si una garrapata adulta hembra se encuentra en ayuno, su cuerpo medirá cerca de tres milímetros de largo, pero cuando se alimenta esta misma hembra puede llegar a medir cerca de 12 milímetros

(incluso 30mm) de largo. Su coloración es marrón rojizo, las hembras tienen el cuerpo más oscuro, especialmente en la cara frontal del carapacho. Los cuatro pares de patas son de color marrón. Las ninfas miden cerca de un milímetro de largo, mientras que las larvas miden 0.5 milímetros.

Resultado de extendido de hemolinfa de las garrapatas

En las figuras 23 a, b y c, se observan las espiroquetas en los extendidos de hemolinfa de las garrapatas que parasitaban los caninos muestreados con la tinción de Wright.

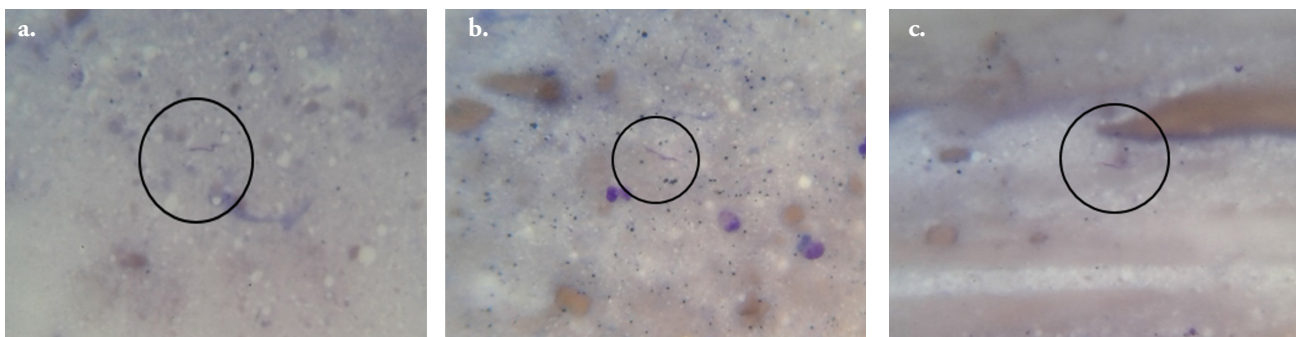


Figura 23. Espiroquetas en extendido de hemolinfa de garrapata /Quijano, Ramírez.

Discusión

Al revisar la literatura relacionada con estudios sobre *Borrelia burgdorferi*, en población canina en nuestro país, no se encontró información existente, por lo cual este trabajo busca contribuir con nuevo conocimiento

al evidenciar la presencia de esta bacteria en diferentes territorios del país.

Para la detección de anticuerpos de tipo IgG contra *Borrelia burgdorferi*, se utilizó la metodología de Inmunofluorescencia Indirecta. En este caso el anticuerpo a detectar

es una inmunoglobulina IgG y el antígeno son las cepas bacterianas B31 y 297 de *Borrelia burgdorferi*. Esta técnica posee ciertas limitaciones para la detección del microorganismo, debido a que esta bacteria tiene diversidad antigénica en un porcentaje muy elevado, lo que contribuye a que el sistema inmunológico genere anticuerpos específicos contra ciertos epítopes.

Los anticuerpos de tipo IgG, comienzan a aumentar lentamente luego de semanas o meses de iniciada la infección, lo que limita el diagnóstico temprano.

La interpretación y la lectura de la inmunoreactividad depende de la concentración de anticuerpos que posea el canino, como dice Agüero-Rosenfeld (17), si el canino presenta una concentración alta de anticuerpos contra el microorganismo al realizar la prueba, la inmunofluorescencia será alta, pues esta técnica es directamente proporcional, pero si la concentración es muy baja o se encuentra en el periodo inicial de la infección la inmunofluorescencia será baja o nula.

Con la técnica de inmunofluorescencia indirecta para anticuerpos tipo IgG se obtuvieron resultados positivos en el 65% del total de la población (58 canes), discriminados así: en el municipio de Honda, Tolima (n= 12) 66.6% de positividad, en La Mesa, Cundinamarca (n= 28) 46.1% y en el municipio de Chía, Cundinamarca (n= 18) 94,4%. Estos porcentajes indican que los

caninos de los tres municipios estudiados están siendo afectados por el microorganismo *Borrelia burgdorferi* y que probablemente padecen la enfermedad de Lyme.

Borrelia burgdorferi posee una capacidad extraordinaria para generar adaptaciones a diferentes condiciones ambientales y a diversos vectores, este fenómeno se debe a la transición de los diferentes entornos del ciclo enzoótico que requiere no solo la “regulación diferencial de los genes, sino que probablemente haya llevado a adaptaciones moleculares reflejadas en su curiosa arquitectura genómica” (18), pues *Borrelia burgdorferi*, tiene uno de los genomas bacterianos más complejos, debido a que “consiste en un cromosoma lineal de 50950 kb y un complemento variable de plásmidos circulares (cps) y plásmidos lineales (lps) que varían en tamaño de 9 a 62 kb”(19). La mayoría de los genes que codifican las lipoproteínas expresadas en la membrana externa, presumiblemente mediado por la transición que se emplea en el ciclo enzoótico se localizan en los plásmidos, pues “algunos plásmidos circulares y lineales son esenciales para el ciclo enzoótico pero no para la propagación in vitro, como lp28-1, lp25 y algunos miembros de la familia cp32, al menos algunos cp32s son profagos que pueden ser transducidos” (20), en particular, “cp26 es el único plásmido de una sola copia que se conoce que es esencial para el crecimiento in vitro: transporta resT, que codifica la resolución del telómero necesaria para replicar moléculas

lineales y también transporta ospC” (21), que se requiere para la “transmisión de la garrapata a los vertebrados y su infectividad” (22), otorgándole a este microorganismo una patogenia de amplio espectro.

Borrelia burgdorferi, posiblemente ha desarrollado una adaptabilidad tan grande a diversos entornos, gracias a la transferencia horizontal de genes o HGT (por sus siglas en inglés) este mecanismo consiste en adquirir genes de otras bacterias mediante diferentes estrategias que llevan a ampliar el código genético, esta puede ser una de las razones por las cuales esta bacteria tiene un genoma tan grande y compuesto por secciones de plásmidos con un porcentaje tan elevado. Además del mecanismo de transferencia horizontal de genes (HGT), conlleva “la variación genética que se genera efectivamente durante la infección de los mamíferos por un sistema de recombinación intrigante en el locus vlsE” (23). Este locus le confiere una característica elemental a *Borrelia burgdorferi* relacionada con la posibilidad de evadir la respuesta inmune adaptativa para persistir en el huésped vertebrado, pues la mezcla de los “epítopos antigénicos expuestos de una proteína de superficie importante durante la infección del huésped es una estrategia utilizada por muchas otras bacterias patógenas persistentes, incluidas *Campylobacter jejuni*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum* y *Borrelia hermsii* como mecanismo de evasión. Sin embargo, los mecanismos moleculares em-

pleados por *B. burgdorferi* para generar diversidad antigénica son inusuales” (24). En 1997, se hizo un aporte al conocimiento sobre *Borrelia burgdorferi* en el que “descubrieron el sistema vls (secuencia variable similar a la proteína principal) que crea epítopos muy diversos de la membrana externa de la lipoproteína VlsE durante la infección de los mamíferos” (25).

Es así como en una infección persistente los organismos patógenos requieren estrategias efectivas para defenderse de la respuesta inmune del huésped. Una estrategia común es la variación continua de los epítopos de superficie a través de la mezcla recombinante de información genética.” *Borrelia burgdorferi*, codifica una lipoproteína unida a la superficie, VlsE; esta proteína está codificada por el locus vlsE transportado en el extremo derecho del plásmido lineal lp28-1” (26). Gracias a todos estos mecanismos que posee, tiene la capacidad de adaptarse a diferentes pisos térmicos y de cambiar de vector, pues la literatura científica afirma que el microorganismo es transmitido por el género de artrópodos *Ixodes*, pero mediante este estudio se demuestra que en los municipios de Honda-Tolima, La Mesa y Chía Cundinamarca, se describe como vector de *Borrelia burgdorferi* a *Rhipicephalus sanguineus*. Esta información obtenida brinda un aporte importante a la ciencia, ya que los resultados indican que el microorganismo ha cambiado de vector y se informa por primera vez en la literatura científica, mediante este estudio.

Al indagar sobre el género *Borrelia*, se encontró que algunos autores afirman que este género posee una característica clínica muy particular, que le permite ocasionar picos febriles inconsistentes con intervalos de días o hasta semanas. La explicación a esta sintomatología se debe a que cuando el microorganismo viaja por el torrente sanguíneo, el sistema inmunológico genera una respuesta que no es efectiva. Al respecto Sotelo Cruz y Valencia Mayora, afirman que “un método simple y efectivo para la observación de espiroquetas es que durante el periodo febril se realice en el humano infectado un frotis delgado de sangre o uno periférico de gota gruesa y se tiña con colorantes Wright, Giemsa o naranja de acridina, también se puede utilizar la técnica de observación bajo un microscopio de campo oscuro para la identificación de dichos microorganismos” (27). De acuerdo con lo anteriormente expuesto se realizó la búsqueda de las espiroquetas en el frotis de sangre periférica de los caninos, obteniendo resultados positivos con la limitación de no poder realizar el extendido de sangre periférica en los momentos de pico febril.

Al observar espiroquetas en algunas muestras, y correlacionarlas con el resultado obtenido en las pruebas de inmunofluorescencia indirecta se infiere que los caninos estaban infectados, y que las espiroquetas observadas en el extendido viajan por el torrente sanguíneo del animal hasta conseguir su respectivo tropismo.

Al realizar la correlación, se encontró que los caninos que poseían la espiroqueta en su sangre presentaron títulos de inmunofluorescencia en 1/256 y en 1/512, lo cual se explica desde dos factores: el primero cuando *Borrelia burgdorferi* está en el torrente sanguíneo el sistema inmunológico está combatiendo al microorganismo y generando mayor concentración de anticuerpos como respuesta celular y humoral. El segundo factor se relaciona con el grado de ectoparasitosis del canino, lo cual está relacionado con una mayor concentración bacteriana.

Borrelia burgdorferi produce diversos signos clínicos como dice la médica zootecnista Blanca Boria, todos estos signos “son sistémicos como la anorexia, fiebre, depresión, cojera y dolor articular. Puede haber efusión abdominal y linfadenopatía con menos frecuencia. También hay dolor generalizado en músculo y articulaciones y adinamia. Es frecuente la cojera crónica intermitente y afectando alternativamente diversas extremidades sin más signos clínicos. En un porcentaje bajo de casos se presenta enfermedad cardíaca, neurológica y renal por glomerulonefritis” (28). Este microorganismo tiene la capacidad de afectar diversos órganos en el canino, lo cual le da un amplio espectro de signos y síntomas a nivel fisiológico y anatómico, característica que se relaciona con los tropismos. Como consecuencia de lo anterior los caninos infectados por *Borrelia burgdorferi* tienen un pronóstico reservado dado que las afecciones son multisistémicas

y su estado y evolución se relacionan con el estado inmunológico y la carga bacteriana presente.

Gonzalo Osorio, en el artículo “Search for the spirochete *Borrelia burgdorferi* sensu lato by polymerase chain reaction in Chilean ticks” (29), describe el procedimiento para detectar la espiroqueta en la garrapata por PCR. Osorio junto con otros científicos mencionan que el microorganismo posee la capacidad de viajar dentro del cuerpo del artrópodo. Para confirmar la presencia de la espiroqueta en las garrapatas se realizaron frotis de hemolinfa periférica de las hembras pletorizadas, se siguió el protocolo de un extendido y se coloreó con Wright. Con este procedimiento se encontraron espiroquetas en la hemolinfa del artrópodo indicando que la espiroqueta realiza un gran camino hasta generar una infección pues los mecanismos que tiene el microorganismo le dan una asombrosa habilidad adaptativa.

Esta investigación genera un aporte a la comunidad científica colombiana a nivel de la salud pública, el campo veterinario y humano, ya que se estableció que *Borrelia burgdorferi*, está generando infecciones en caninos produciendo la enfermedad de Lyme en sus diferentes ciclos; que se adaptó a un nuevo vector y a diferentes pisos térmicos.

En el campo veterinario se hace un llamado a considerar esta infección como frecuente en la población canina y a realizar prue-

bas de laboratorio como apoyo diagnóstico cuando se encuentre la ectoparasitosis y los diversos signos específicos como el eritema migrans. Adicionalmente, es posible que este microorganismo con el tiempo genere infecciones de tipo zoonótico y enzoótico, por lo tanto, si no se toman medidas puede convertirse en un problema de salud pública. Con los resultados encontrados en este estudio se abre camino para continuar evaluando la infección en caninos de otras regiones del país, así como en otras especies de animales susceptibles de ser parasitadas por garrapatas. De igual forma es recomendable probar otras técnicas de diagnóstico de fácil acceso para los laboratorios y para los pacientes.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto se presenta el siguiente esquema que resume el círculo confirmatorio.



Figura 24. Circulo confirmatorio para enfermedad de Lyme en caninos.

Referencias

1. Leschnik M, Canine borreliosis: Are we facing the facts? J.med.vet.mycol. [Internet] 2013; 2:197-198. [Consultado 2018 nov 18]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24316153>
2. García M, Skinner C, Salas J, Ocampo J. Enfermedad de Lyme: Actualizaciones. Gac.méd. Méx. [Internet] 2014; 150:84-95 [Consultado 2019 ene 20]. Disponible en: https://www.anmm.org.mx/GMM/2014/n1/GMM_150_2014_1_084-095.pdf
3. Corrales L, Ávila S, Estupiñan S. Bacteriología Teoría y Práctica. Bogotá, D.C. Editorial Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca;2013.
4. Gomes D, Costa R, Wischral T, Santos R, Tamekuni K, Rodríguez N et al. Serosurvey of *Borrelia* in dogs, horses, and humans exposed to ticks in a rural settlement of southern Brazil. Rev. bras. parasitol. vet. [Internet]. 2016; 25 (4): 418-422. [Consultado 2018 nov 18]. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/rbpv/v25n4/1984-2961-rbpv-S1984-29612016085.pdf>
5. Tinoco L, Quiroz H, Quintero M, Rentería T, Barreras A, López G, Hori S, Tamayo A, et al. Seroprevalence of *borrelia burgdorferi* in dogs from a Mexico-U.S. Border deser región: pilot study. J. anim. vet. adv. [Internet] 2007; 6: 787-789. [Consultado 2019 ene 22] Disponible en: <http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javaa/2007/787-789.pdf>
6. Campos C. El sistema inmunológico en los mamíferos: Las defensas del cuerpo. Rev.biol. trop. [internet] 2014;8 (1) :80-93 [Consultado 2018 feb 10] Disponible: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/nutrianimal/article/view/14921>
7. Bautista C, Mosqueda J. Papel de los receptores tipo Toll en la inmunidad innata y su complicación en medicina veterinaria. Vet. Méx. [Internet] 2005; 36 (4): 453-468 [Consultado 2018 feb 10] Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42336407>
8. Girardin S, Travassos L, Herve M, Blanot D, Boneca I, Philpott D, et al. Peptidoglycan Molecular Requirements Allowing Detection by Nod1 and Nod2. J. Biol. Chem. [Internet] 2003, 278:41702-41708. [Consultado 2018 feb 10] Disponible en: <http://www.jbc.org/content/278/43/41702.full.html#ref-list-1>

9. Collado V, Porras R, Cutili M, Gómez E. El sistema inmune innato I: sus mecanismos. RCCV. [Internet] 2008 2(1): 1-16. [Consultado 2018 feb 10] Disponible en: <http://revistas.ucm.es/index.php/RCCV/article/view/RCCV0808120001A/22569>
10. Tizard I. Inmunología veterinaria. 10a ed. Barcelona-España: Saunders Elsevier. 2019.
11. Meryl P. Littman, VMD. Canine Borreliosis. Vet. Med. Small anim. clin. [Internet] 2003;33: 827–862 [Consultado 2018 nov 18]. Disponible en: [http://www.vetsmall.theclinics.com/article/S0195-5616\(03\)00037-8/abstract](http://www.vetsmall.theclinics.com/article/S0195-5616(03)00037-8/abstract)
12. Caride Villamil E. epidemiología de *Borrelia Burgdorferi* s.l. (Enfermedad de Lyme) en un ecosistema de pinar de montaña supramediterraneo. [Tesis doctoral en Veterinaria] Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de veterinaria. Departamento de Patología Animal; 2002.
13. Rodríguez I. Actualización acerca de *Borrelia burgdorferi* sensu lato y enfermedad de lyme. Rev. cuba. med. trop. [Internet] 2013; 65(2): 149-165. [Consultado 2019 ene 20]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v65n2/mtr02213.pdf>
14. Orestes L, Infante J, Ramírez C, Lavastida H. Enfermedad de Lyme: Historia, microbiología, epizootiología y epidemiología. Rev. cuba. hig. epidemiol. [Internet] 2011; 50(2): 231-244 [Consultado 2019 ene 22]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hie/v50n2/hie12212.pdf>
15. The center for food security and public health. Enfermedad de Lyme [Internet]. [Consultado 2019 ene 22]. Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/disease.php?name=lyme-disease&lang=es>
16. Jacobson R, Chang Y, Shin S. Lyme disease: laboratory diagnosis of infected and vaccinated symptomatic dogs. Semin Vet Med Surg [Internet] 1996; 11 (3): 172-182 [Consultado 2019 feb 12]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8942214>
17. Aguero-Rosenfeld M, Wang G, Schwartz I, Wormser G. Diagnosis of Lyme Borreliosis. Clin Microbiol Rev. [Internet] 2005;18(3):484-509. [Consultado 2019 ene 20]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1195970/pdf/0038-04.pdf>
18. Brisson D, Drecktrah D, Eggers C, Samuels D. Genetics of *Borrelia burgdorferi*. Ann.rev.genet. [Internet] 2012; 46 :513–34. [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-genet-011112-112140>
19. Casjens S, Mongodin E, Qiu W, Luft B, Schutzer S, Gilcrease E. et al. Genome Stability of Lyme Disease Spirochetes: Comparative Genomics of *Borrelia burgdorferi* Plasmids. Plos ONE. [Internet] 2012; 7 (3). [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0033280>
20. Lagal V, Postic D, Ruzic-Sabljić E, Baranton G. Genetic Diversity among *Borrelia* Strains Determined by Single-Strand Conformation Polymorphism Analysis of the ospC Gene and Its Association with Invasiveness. J. clin. microbiol. [Internet] 2003; 41 (11): 5059–5065. [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC262544/>
21. Marconi R, Samuels D, Garon C. Transcriptional Analyses and Mapping of the ospC Gene in Lyme Disease Spirochetes. J. Bacteriol. [Internet] 1993;175(4): 926–932. [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC193003/>
22. Chaconas G, Kobryn K. Structure, Function, and Evolution of Linear Replicons in *Borrelia*. Annu. Rev. Microbiol. [Internet] 2010; 64:185–202. [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.micro.112408.134037:rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&journalCode=micro
23. Lin T, Gao L, Edmondson D, Jacobs M, Philipp M, Norris S. Central Role of the Holliday Junction Helicase RuvAB in vlsE Recombination and Infectivity of *Borrelia burgdorferi*. Plos ONE. [Internet] 2009; 5 (12). [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1000679>
24. Radolf J, Calimano M, Stevenson B, T.Hu L. Of ticks, mice and men: understanding the dual-host lifestyle of Lyme disease spirochaetes. Nat. Rev. Microbiol. [Internet] 2012 10(2): 87–99. [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22230951>

25. Zhang J, Hardham J, Barbour A, Norris S. Antigenic Variation in Lyme Disease *Borreliae* by Promiscuous Recombination of VMP-like Sequence Cassettes. *Cell*. [Internet] 1997; 89: 275-285. [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9108482>
26. Dresser A, Hardy P, Chaconas G. Investigation of the Genes Involved in Antigenic Switching at the *vlsE* Locus in *Borrelia burgdorferi*: An Essential Role for the RuvAB Branch Migrase. *PLoS Pathog.* [Internet] 2009; 5 (12). [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2779866/>
27. Cruz N, Mayoral P. Borreliosis, fiebre recurrente causada por espiroquetas. Informe de un caso. *Bol. méd. Hosp. Infant. Méx.* [Internet] 2012;69(2):121-125 [Consultado 2019 mar 20] Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462012000200008
28. Boria B. Enfermedad de Lyme: presentación de casos clínicos y conocimiento de la enfermedad entre veterinarios y estudiantes en los municipios de Veracruz y Boca del Río. [Tesis de grado para obtención de título de Médico Veterinario Zootecnista] Veracruz: Universidad Veracruzana. Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia; 2012.
29. Osorio G. Búsqueda de la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* sensu lato mediante PCR en garrapatas ixoideas chilenas silvestres. *Rev. méd. Chile.* [Internet] 2001;129(3). [Consultado 2019 mar 20] Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872001000300006