



***DETECCIÓN DE ANTICUERPOS TIPO IgG CONTRA *Borrelia burgdorferi*, EN  
POBLACIÓN CANINA, DE LOS MUNICIPIOS HONDA-TOLIMA, LA MESA Y CHIA-  
CUNDINAMARCA.***

**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Programa de Bacteriología y laboratorio clínico  
Trabajo de grado  
Bogotá, 2019**



***DETECCIÓN DE ANTICUERPOS TIPO IgG CONTRA *Borrelia burgdorferi*, EN  
POBLACIÓN CANINA, DE LOS MUNICIPIOS HONDA-TOLIMA, LA MESA Y CHIA-  
CUNDINAMARCA.***

**Estudiantes**

**Elber Stiven Quijano Duarte**

**Evelyn Yuliana Ramírez Hernández**

**Asesora**

**Lucia Constanza Corrales**

**Docente Facultad Ciencias de la Salud**

**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico  
Bogotá, 2019**

## **Dedicatoria**

**A Dios, a mis padres, a mis hermanos, a mis amigos y a los caninos quienes me motivaron a realizar este trabajo (Cory, Manola, Dana y Onix)**

**Stiven Quijano Duarte**

## **Dedicatoria**

**Dedico esta tesis a MARIA ELENA CARDENAS OVIEDO mi abuela que fue lo más importante en mi vida, que gracias a ella tome la decisión de ser Bacterióloga, decisión la cual me siento muy feliz porque amo mi profesión y lo que hago, y todo el esfuerzo en esta tesis fue por ella.**

**EVELYN YULIANA RAMIREZ HERNANDEZ**

## **AGRADECIMIENTO**

**Agradezco a Dios por estar conmigo cada segundo de mi vida y por enseñarme que es mi amigo, que es mi pilar y que bajo cualquier circunstancia siempre habrá un propósito de enseñanza. Por darme fuerzas físicas y emocionales para enfrentar cualquier obstáculo que se me presente, por acompañarme en todo este proceso académico pues siempre he creído que escogí una carrera de servicio y que espero poder brindarle esto a cada ser creado por él.**

**Le agradezco a mi madre por haberme apoyado en cada momento, por sus consejos y sus valores enseñados, por la motivación que me ha permitido avanzar, pero más que nada por su amor brindado.**

**Le agradezco a mi padre por su ayuda durante toda la carrera.**

**A mis hermanos por ser un ejemplo de constancia y dedicación.**

**A mis amigos “Laura Rodríguez, Rosana Pérez, Diego Vega, Karen Olaya, Isabel Ramírez, David Rodríguez, Nataly Gaitán, Josué David Rodríguez, Leonardo Londoño, Karen Fontalvo, Adriana Vega, Cristian Guerrero, Cristian Perdomo, Oscar Rincón, Norma Flores, Willy Sánchez, Diana Mora” por ser un apoyo durante toda mi vida y por darle ese toque único que solo le dan los amigos, por hacerme comprender que este texto es completamente verídico “En todo tiempo ama el amigo, y es como un hermano en tiempo de angustia” Proverbios 17:17**

**A la Iglesia Adventista del Séptimo día-Orígenes por ser un espacio de estudio y descanso**

**A las profesoras Susan Castro, Karen Cubillos por ser un apoyo durante el proceso académico que me motivaron a seguir luchando, a creer en mí y ver que fui soy y seré un gran ser humano.**

**A la profesora Ingrid Pinillos por generar un aprecio por la carrera**

**A la profesora Lucia Corrales por dirigir este proyecto.**

**A Blanyfer Rodríguez por su amistad y por sus enseñanzas en la constancia y la lucha de las metas.**

**Thanks Golrdd**

**Stiven Quijano Duarte**

## **AGRADECIMIENTO**

**Gracias a Dios principalmente porque es mi motor de vida, siempre ha estado a mi lado en todas las decisiones de mi vida y en todos las metas que me he propuesto; una de ellas fue mi tesis de grado.**

**Gracias a mi familia, mis papas ADRIANA HERNANDEZ y JULIO CESAR RAMIREZ que me han apoyado, a mi hermana YULITZA RAMIREZ, a mi tía ARELIS RAMIREZ CARDENAS que es como mi otra mamá y a FAUSTO MARINO HENAO PEÑA, gracias a ellos que han sido un pilar fundamental en mi formación como profesional, por brindarme la confianza, consejos, oportunidad y recursos para lograrlo, gracias por ser los promotores de mis sueños, por creer en mí y en mis expectativas, por estar siempre para mí, por ayudarme en todos los obstáculos que se me han presentado en mi carrera y mi vida.**

**Gracias ELBER STIVEN QUIJANO DUARTE por ser mi compañero de tesis y amigo estos años, por estar conmigo académicamente y personalmente, por ayudarme cuando lo necesité y por sus consejos, muchas gracias a LUCIA CONSTANZA CORRALES nuestra tutora de tesis, que siempre estuvo acompañándonos en este proceso para nuestro grado, gracias a WILLIAM MENDEZ por la colaboración en la toma de muestras de los caninos, a mis amigas LINA MARCELA RIAÑO, BLANYFER RODRIGEZ y DANIELA RIOS por la ayuda en el muestreo de los canino, el desarrollo de la tesis y amistad incondicional que se fue fortaleciendo en el transcurrir de los años.**

**Gracias a Susan Castro por su ayuda en el montaje de las pruebas, a Ingrid Pinillos por su colaboración en la identificación de las garrapatas y a Orlando Torres Garcia gracias por su ayuda en la recolecta de las muestras, a todos por su ayuda en nuestro proyecto.**

**Gracias a Dios por darme la vida y por permitirme lograr este nuevo triunfo, gracias a las personas que me apoyaron y creyeron en la realización de esta tesis.**

**EVELYN YULIANA RAMIREZ HERNANDEZ**

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
OBJETIVOS.....	3
Objetivo General.....	3
Objetivo Especifico.....	3
1- ANTECEDENTES.....	5
2- MARCO REFERENCIAL.....	10
Enfermedad de Lyme.....	10
Agente Etiológico .....	10
Ciclo zoonótico .....	11
Vector .....	11
Reservorio .....	11
Epidemiología .....	12
Manifestaciones clínicas .....	13
Respuesta Inmunológica del hospedero .....	13
Diagnostico Directo .....	16
Diagnostico Indirecto .....	18
Tratamiento .....	20
3- DISEÑO METODOLOGICO .....	21
Tipo de investigación.....	21
Población.....	21
Criterios de inclusión.....	21
Municipios seleccionados para el muestreo.....	21
Muestra.....	25
Técnicas y procedimientos.....	26
4- RESULTADOS.....	33
Descripción de la población en caninos.....	33
Resultados de la prueba de IFI.....	34

Resultado: búsqueda la espiroqueta en los frotis de sangre periférico de los caninos.....	53
Resultado clasificación entomológica de las garrapatas.....	59
Resultado de hemolinfa de las garrapatas.....	64
5- DISCUSION.....	66
6-CONCLUSIONES.....	71
SUGERENCIAS.....	72
BIBLIOGRAFIA.....	73
7- ANEXOS .....	81



## INDICE DE FIGURAS

No.	Título	Pág.
1	Ubicación geográfica del municipio de Honda en el departamento del Tolima en el territorio Colombiano.	22
2	Ubicación geográfica del municipio de la Mesa en el departamento del Tolima en el territorio Colombiano.	23
3	Ubicación geográfica del municipio de Chía en el departamento del Tolima en el territorio Colombiano.	24
4	Fotografía de autor de la tesis en toma de muestra	25
5	Fotografía de autora de la tesis en toma de muestra	25
6	Procedimiento de la Inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos contra <i>Borrelia burgdorferi</i> en sueros de caninos	27
7	Control Negativo- Kit anticuerpos IgG contra <i>Borrelia burgdorferi</i> , IFI-FULLER laboratorios	28
8	Control Positivo Dilución: 1/256 del kit anticuerpos IgG contra <i>Borrelia burgdorferi</i> IFI FULLER laboratorios	28
9	Control Positivo Dilución: 1/512 del kit anticuerpos IgG contra <i>Borrelia burgdorferi</i> IFI FULLER laboratorios	29
10	Control Positivo Dilución: 1/1024 del kit anticuerpos IgG contra <i>Borrelia burgdorferi</i> IFI FULLER laboratorios	29
11	Características morfológicas de <i>Rhipicephalus</i> , partes de la garrapata para la identificación taxonómica	30
12	Garrapata hembra (Izquierda) que estaba en estado de pletorización y fue drenada, garrapata macho (derecha)	32
13	Parte trasera de la pierna de un canino con ectoparasitosis	33
14	Región interdigital de la pata de un canino ectoparasitado	33
15	Obstrucción del canino auditivo de un canino por artrópodos	33
16	Resultado Positivo de IFI contra <i>Borrelia burgdorferi</i> en canino de Honda-Tolima	35
17	Resultado Positivo de IFI contra <i>Borrelia burgdorferi</i> en canino de Honda-Tolima	35
18	Resultado de clasificación sexual de los caninos de Honda-Tolima	36

19	Resultado de positividad de inmunofluorescencia indirecta en Honda-Tolima	36
20	Resultado de titulación IFI en Honda-Tolima	37
21	Resultado Positivo de IFI contra <i>Borrelia burgdorferi</i> en canino de vereda -La esperanza en la Mesa-Cundinamarca	39
22	Resultado Positivo de IFI contra <i>Borrelia burgdorferi</i> en canino de vereda -La esperanza en la Mesa-Cundinamarca	39
23	Resultado de clasificación sexual de los caninos de vereda-La esperanza	40
24	Resultado de positividad de inmunofluorescencia indirecta en vereda-La esperanza	40
25	Resultado de titulación IFI en vereda la esperanza	41
26	Resultado Positivado de IFI contra <i>Borrelia burgdorferi</i> en canino de la vereda las Ceibas-La mesa Cundinamarca	42
27	Resultado de clasificación sexual de los caninos de vereda las ceibas	43
28	Resultado de positividad de inmunofluorescencia indirecta en vereda las ceibas	43
29	Resultado de titulación IFI en vereda ceibas	44
30	Resultado Positivado de IFI contra <i>Borrelia burgdorferi</i> en canino de la vereda la mesa en La mesa Cundinamarca	45
31	Resultado de clasificación sexual de los caninos de vereda la mesa	46
32	Resultado de positividad de inmunofluorescencia indirecta en vereda la mesa	46
33	Resultado de titulación IFI en vereda la mesa	47
34	Resultado Positivado de IFI contra <i>Borrelia burgdorferi</i> en canino de Chía-Cundinamarca	49
35	Resultado Positivado de IFI contra <i>Borrelia burgdorferi</i> en canino de Chía-Cundinamarca	49
36	Resultado de clasificación sexual de los caninos de Chía-Cundinamarca	50
37	Resultado de positividad de inmunofluorescencia indirecta en Chía-Cundinamarca	50
38	Resultado de titulación IFI en Chía-Cundinamarca	51
39	Resultado de clasificación sexual de los tres municipios	51
40	Resultado de IFI en población total de los tres municipios muestreados en porcentaje	52
41	Resultado de IFI de las diluciones realizadas	52
42	Espiroqueta en extendido de sangre periférico de canino muestreado en Honda-Tolima	53
43	Recorte de Figura 42	53

44	Resultado de FSP positivo en Honda-Tolima	54
45	Porcentaje de Positividad de FSP en Honda-Tolima	54
46	Espiroqueta en extendido de sangre periférico de canino muestreado en la Mesa- Cundinamarca	55
47	Recorte de Figura 46	55
48	Resultado de FSP positivo en La Mesa-Cundinamarca	56
49	Porcentaje de Positividad de FSP en La Mesa-Cundinamarca	56
50	Espiroqueta en extendido de sangre periférico de canino muestreado en Chía-Cundinamarca	57
51	Resultado de FSP positivo en Chía-Cundinamarca	57
52	Porcentaje de Positividad de FSP en Chía-Cundinamarca	58
53	Porcentaje de positividad de FSP en los tres municipios muestreados	58
54	Garrapata <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Hembra)	59
55	Garrapata <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Hembra)	59
56	Garrapata <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Macho)	60
57	Grupo de garrapatas <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Machos)	61
58	Grupo de garrapatas <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Machos)	61
59	Grupo de garrapatas <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Hembras pletorizadas y no pletorizadas)	62
60	Garrapata <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Hembra pletorizada)	62
61	Espiroqueta en extendido de Hemolinfa de garrapata Numero 1	64
62	Espiroqueta en extendido de Hemolinfa de garrapata Numero 2	64
63	Espiroqueta en extendido de Hemolinfa de garrapata Numero 3	65
64	Circulo confirmatorio para enfermedad de Lyme en caninos	70

## INDICE DE TABLAS

No.	Título	Pág.
1	Diversidad de especies de <i>Borrelia</i> junto con su localización y vector	12
2	Bandas marcadas por anticuerpo IgG contra <i>Borrelia burgdorferi</i> mediante la técnica Western blot	19
3	Bandas marcadas por anticuerpo IgM contra <i>Borrelia burgdorferi</i> mediante la técnica Western blot	19
4	Límites que presenta el municipio con sus cuatro puntos cardinales	22
5	Límites que presenta el municipio con sus cuatro puntos cardinales	23
6	Límites que presenta el municipio con sus cuatro puntos cardinales	24
7	Datos y resultados de IFI de caninos muestreados en Honda-Tolima	34
8	Datos y resultados de IFI de caninos muestreados en vereda la esperanza en La Mesa-Cundinamarca	38
9	Datos y resultados de IFI de caninos muestreados en vereda las ceibas en La Mesa-Cundinamarca	42
10	Datos y resultados de IFI de caninos muestreados en vereda la mesa en La Mesa-Cundinamarca	45
11	Datos y resultados de IFI de caninos muestreados en Chía-Cundinamarca	48
12	Diferenciación sexual en el conteo de garrapatas	63

## RESUMEN

*Borrelia burgdorferi*, es la espiroqueta responsable de ocasionar la enfermedad de Lyme en caninos, se caracteriza por ser una afección zoonótica y ser transmitida por garrapatas. Actualmente es considerada una de las enfermedades emergentes con mayor dificultad en su diagnóstico. Las manifestaciones clínicas en los canes pueden ser tanto a nivel cutáneo como sistémicas, con afección musculoesquelética, neurológica y cardíaca. El diagnóstico se basa en el cuadro clínico y puede ser confirmado mediante estudios de serología; por tal razón en este estudio se escogió la técnica de inmunofluorescencia indirecta para detectar IgG contra *Borrelia burgdorferi*, como objetivo principal. Complementario al diagnóstico serológico, se realizó la búsqueda de la bacteria en frotis de sangre periférico de los caninos de los municipios de Honda-Tolima, la Mesa y Chía Cundinamarca, los caninos del municipio de Honda-Tolima eran canes de hogar y de la calle, la población del cuadrúpedo en la Mesa y Chía Cundinamarca eran de fundaciones de perros en condiciones de calle y abandono. En cuanto al objetivo específico relacionado con el vector se realizó el reconocimiento entomológico de las garrapatas recolectadas para confirmar la especie que está transmitiendo *Borrelia burgdorferi* ocasionando la enfermedad de Lyme en nuestro país. Como resultados se obtuvo un porcentaje del 69.0 % de los caninos muestreados dieron positivos en la prueba serológica. El vector encontrado se clasificó como *Rhipicephalus sanguineus*, hasta ahora no reportado, ni asociado a la enfermedad, y se visualizaron estructuras bacterianas de forma espiral tanto en la sangre periférica de los caninos, como en la hemolinfa de las garrapatas.

## INTRODUCCIÓN

Las espiroquetas que pertenecen al género *Borrelia*, son un grupo de microorganismos cosmopolitas, que incluyen especies transmitidas por artrópodos hematófagos que resultan 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, y *Borrelia recurrentis*, responsable de la fiebre recurrente, transmitida por piojos (*Pediculus humanus*) y algunas garrapatas blandas (*Argasidae*)”<sup>1</sup>.

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 y 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<sup>2</sup>.

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 de la enfermedad por la picadura de garrapatas. La enfermedad puede traer muchas consecuencias ocasionando la muerte del animal. 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<sup>3</sup>. Clínicamente, la mayoría de perros pueden no presentar signos evidentes en fases iniciales a pesar de tener la infección, lo que dificulta su abordaje clínico y diagnóstico. En animales sintomáticos puede haber fases con distintos grados de cronicidad que cursa, en general, con alteraciones cutáneas y musculo esqueléticas, con signos de letargia y pirexia y, en menor medida, síndromes asociados a enfermedad renal, cardíaca o neurológica<sup>4</sup>.

El diagnóstico de la borreliosis en perros infectados naturalmente muestra baja frecuencia de la bacteria dentro del hospedador, debido a que las pruebas diagnósticas inmunológicas indirectas expresan títulos de anticuerpos a exposiciones previas<sup>1</sup>. Para la identificación de la infección en animales y en el hombre se han usado técnicas de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), ensayo inmunoenzimático indirecto, prueba de anticuerpos de inmunofluorescencia (IFAT) y Western Blot (WB). Por otra parte, se ha determinado incluso la presencia del microorganismo directamente en el vector mediante técnicas de amplificación génica en garrapatas adultas del género *Ixodes*<sup>5</sup>. Un factor crítico para la Borreliosis es, sin duda, la presencia del vector, cuya distribución se ha incrementado debido a los cambios climáticos, ecológicos y sociales (dada la inminente cercanía entre el humano y las especies domésticas y silvestres). De esta forma se plantean, al menos, dos escenarios de importante atención: la presencia de la bacteria con su consecuente efecto patógeno, y la dinámica del vector que la transmite.

En Colombia, la seroprevalencia ha sido determinada en algunas ciudades de la región Andina y Caribe (0-16%, n=200), utilizando técnicas de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA)<sup>6</sup>. Sumado a esto, existen reportes de casos clínicos de borreliosis canina que cursan con los signos

clínicos descritos típicamente, con hallazgos hematológicos de trombocitopenia y confirmación de seropositividad.

En este contexto, la investigación tiene como fin determinar la presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* en muestras de caninos, mediante una prueba serológica de IgG (principal anticuerpo en respuesta antibacteriana) específica para este microorganismo. Las poblaciones de caninos incluidas en el estudio pertenecen a los municipios de Honda en el departamento de Tolima, la Mesa y Chía-en Cundinamarca. Además, se realizó la búsqueda del ectoparásito que la transmite, ya que al hallar garrapatas duras será un factor que permitirá, sugerir una asociación entre su acción como vector y la presencia o exposición al microorganismo obtenido en los resultados serológicos.

Dada la naturaleza zoonótica del microorganismo, la inminente cercanía entre humanos y animales, y las condiciones físico-climáticas de los municipios de Honda, la Mesa y Chía, lugares apropiados para el exitoso cumplimiento del ciclo de vida del vector y la transmisión de la bacteria, con este se busca ayudar a comprender la dinámica de la infección, el abordaje clínico, diagnóstico y biológico de las enfermedades producidas por estas espiroquetas.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

- Detectar anticuerpos tipo IgG específicos contra *Borrelia burgdorferi*, mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta relacionando hallazgos clínicos a la enfermedad de Lyme

### **Objetivos específicos**

- Realizar la detección de IgG contra *Borrelia burgdorferi*, por inmunofluorescencia en los caninos muestreados.
- Clasificar el vector de acuerdo con el libro “Ticks of Domestic Animals in Africa: a Guide to Identification of Species”, para determinar el artrópodo responsable de transmitir *Borrelia burgdorferi* en nuestro país.
- Correlacionar los resultados obtenidos en la prueba inmunológica con la presencia del vector en los caninos muestreados.
- Identificar la espiroqueta en las láminas de FSP de caninos y en la hemolinfa de las garrapatas.
- Determinar los factores que presenta la población canina susceptible de presentar infección por *Borrelia burgdorferi*.



## 1. ANTECEDENTES

“La enfermedad de Lyme o borreliosis es zoonótica de distribución mundial, causada por *Borrelia burgdorferi* y transmitida por la picadura de garrapatas, principalmente *Ixodes scapularis* e *I. pacificus*. Está caracterizada por desórdenes polisistémicos”<sup>1</sup>. Se ha evidenciado que los caninos que se encuentran en ambiente doméstico, tienen un lugar importante en la infección por garrapatas en zonas de temperatura alta. Dicha enfermedad se caracteriza por generar una sintomatología en los estos animales caracterizada por “artritis, eritema migrante, fatiga, anorexia, malestar general, dolor muscular, rigidez de cuello, fiebre, bloqueo cardiaco, falla renal y alteraciones neurológicas como convulsiones y comportamiento agresivo”<sup>7</sup>.

*Borrelia burgdorferi*, es un microorganismo poco estudiado; sin embargo, actualmente varios centros de investigación tratan de comprender la enfermedad de Lyme con todo lo que conlleva; uno de estos es el laboratorio de parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán, donde se realizó uno de los estudios más en América Latina, que lleva como título “Detección de *Borrelia burgdorferi sensu lato* en perros y sus garrapatas en comunidades rurales de Yucatán, México”, dicha investigación describe la detección molecular de *Borrelia burgdorferi* mediante la técnica de PCR convencional y anidada, el estudio se hizo tanto en la sangre del canino como en la garrapata, arrojando resultados bastante indicativos de la infección en el animal, así como la detección del microorganismo en el artrópodo, lo cual aportó al conocimiento científico tanto en México como en Latinoamérica. De este se concluyó que “el perro puede actuar como un importante centinela del complejo *B. burgdorferi s.l.*, debido al contacto directo que mantiene con el hábitat de las garrapatas vectoras, haciéndolo más vulnerable a adquirir esta bacteria, y que los perros desempeñan un papel clave en la dispersión de garrapatas, en el ambiente intra o peridomiciliar”<sup>8</sup>

Lyme por ser una enfermedad transmitida por vectores que afecta a los caninos, y otras especies, ha generado el interés de investigadores por realizar estudios a lo largo de los años que han contribuido a comprender la historia natural de ésta. En el año 2016 se realizó una investigación con el título de “Serosurvey of *Borrelia* in dogs, horses, and humans exposed to ticks in a rural settlement of southern Brazil” realizado por diferentes departamentos de Medicina Veterinaria de Brasil, la cual tenía como primer objetivo realizar un estudio serológico para la detección de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* en perros, caballos y humanos altamente expuestos a picaduras de garrapatas, un segundo objetivo fue comprender la correlación que se tiene entre los asentamientos rurales de los animales domésticos y los seres humanos, con el clima, el medio ambiente y si esto tiene una condición favorable en la infección generada por garrapatas, además de identificar las especies de garrapatas presentes para determinar factores de riesgos asociados con la seropositividad de dichos asentamientos.

La metodología en esta investigación se basó en el uso de dos pruebas muy frecuentes en el campo de la ciencia: detección de anticuerpos por inmunofluorescencia (IFAT) y por Western blot (WB). Uno de los resultados más importantes de esta investigación fue que “las garrapatas identificadas fueron en su mayoría de perros e incluyeron 45/67 *Rhipicephalus sanguineos*, 21/67 *Amblyomma ovale* y 1/67 *Amblyoma cajennense*; en los caballos las garrapatas presentes fueron en su totalidad de la especie *Amblyoma cajennense*”<sup>2</sup>. Como conclusión los anticuerpos anti-*Borrelia* se

encontraron en perros, equinos y sus propietarios en el asentamiento rural indicando que en países de América ya existe infección por *Borrelia burgdorferi*.

En Colombia se han llevado a cabo investigaciones como la descrita en el artículo “Monitoreo de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, y *Dirofilaria immitis* en perros de tres ciudades en Colombia”. Escrito por los investigadores McCown M, Monterroso V, Cardona W. y publicado en el año 2015, en el cual se estudiaron caninos de las ciudades de Medellín, Barranquilla y Cartagena en Colombia, para determinar la prevalencia de la Enfermedad del Gusano del Corazón, la Ehrlichiosis, la Anaplasmosis, y la Enfermedad de Lyme. La Metodología implementada se basó en la recolección de muestras sanguíneas en las tres ciudades y analizadas con el objetivo de identificar anticuerpos de *B. burgdorferi*, por el método del ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). Se evidenció que las muestras recolectadas fueron negativas para anticuerpos de *B. burgdorferi*, lo que determina un “hallazgo interesante ya que la evidencia del agente etiológico causante de enfermedad de Lyme ya había sido reportado en Colombia”<sup>5</sup>, Ecuador, Brasil, Perú y Argentina. Dada la negatividad de este resultado en dicha investigación y de acuerdo a la vigilancia epidemiológica, se considera que se debe incrementar el control ya que cabe la posibilidad de que exista un nuevo vector para la borreliosis.

De las investigaciones realizadas en Colombia se halló evidencia clínica de acuerdo con un reporte de caso descrito en el artículo “Primer reporte de seroprevalencia de borreliosis canina en una ciudad localizada en una altitud media en la región tropical (Medellín, Colombia)” escrito por González, Villegas, Carmona, Castañeda, y publicado en el año 2014, el objetivo de este trabajo fue mostrar el reporte de un caso clínico de un canino de raza Bulldog paciente de la Clínica de Pequeños Animales de la Universidad CES en Medellín, Colombia. Los síntomas de consulta fueron emesis y pérdida del apetito; en la anamnesis se evidenció que el canino tenía su esquema de vacunación al día y había sido desparasitado. El método de detección fue dado gracias a la evidencia de trombocitopenia, por tal motivo se le realizó análisis para detección de anticuerpos contra *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* y antígenos específicos de *Dirofilaria Immitis*, obteniendo resultado positivo para *Borrelia burgdorferi*. En este estudio se compararon resultados tanto en caninos como en humanos con resultados positivos, que fueron reportados en el Departamento de Antioquia, llevando a la conclusión que se debe mantener el registro de los casos reportados de acuerdo a la distribución geográfica, para que de esta manera se pueda identificar su incidencia, y por último, “recomiendan complementar el diagnóstico con técnicas como ELISA y PCR para establecer un diagnóstico integral”<sup>9</sup>.

De otro lado, es importante considerar las investigaciones realizadas en otros países en los cuales utilizaron otras opciones para el diagnóstico y la identificación; cabe resaltar un artículo titulado “Distribution of ixodid ticks on dogs in Nuevo León, México, and their association with *Borrelia burgdorferi* sensu lato” Escrito por Lucio Galaviz-Silva, Karla Carmelita Pérez-Treviño, Zinnia J. Molina-Garza publicado en el año 2013. En éste se buscaba “documentar la distribución geográfica de las especies de garrapatas de Ixodes en perros y la prevalencia de *Borrelia burgdorferi* en garrapatas adultas; como metodología se tomaron muestras de sangre para realizar una amplificación de la región ospA del genoma de *B. burgdorferi*”<sup>10</sup>. De los resultados obtenidos se demostró que los perros muestreados en Guadalupe y Estanzuela fueron positivos para *B. burgdorferi*, utilizando como técnica PCR. Los investigadores dejan como reflexión que muy probablemente los vectores desempeñan un papel más importante de lo que se pensaba en la zoonosis y epidemiología relacionado con *B. burgdorferi*.

Con respecto a los métodos de diagnóstico para la detección de *Borrelia burgdorferi*, en el artículo “Presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* y *Anaplasma* sp. en canes de la ciudad de Lima” escrito por Alicia Rubio, Elia Salas, Gisella Gómez, publicado en el año 2011, se hace el reporte de caso de tres caninos, los cuales presentaban síntomas como fiebre y letargia; la metodología utilizada consistió en tomar muestras de sangre de los pacientes y de acuerdo a sus síntomas, realizar la prueba ELISA SNA, como “prueba de diagnóstico in vitro para la detección del antígeno de *Dirofilaria immitis* y anticuerpos contra *A. phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* y *Ehrlichia canis* en suero, plasma o sangre entera de caninos (IDEXX Laboratories Inc)<sup>11</sup>. Los resultados obtenidos demostraron la existencia de anticuerpos contra *Anaplasma* y *Borrelia*, por lo que se concluye que es importante considerar estos microorganismos en el diagnóstico diferencial sobre todo en áreas donde se conoce que la exposición a las garrapatas es alta, también cuando se presenta un malestar inespecífico de fiebre y letargia. Respecto a la necesidad de métodos complementarios de diagnóstico, las técnicas como inmunofluorescencia indirecta (IFI) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) son de considerar para el diagnóstico y diferenciación de estos dos agentes.

Cabe resaltar que las enfermedades transmitidas por vectores pueden conllevar a enfermedades zoonóticas, por lo cual, es importante su control y registro epidemiológico, la correcta identificación del agente infeccioso y la caracterización geográfica para un manejo apropiado por los entes públicos y privados, así como, su prevención. Al respecto en el artículo “Zoonosis transmitidas por animales silvestres y su impacto en las enfermedades emergentes y reemergentes” escrito por Santiago Monsalve, Salim Mattar, Marco González publicado en el año 2009, se evidencia la relación que tienen las enfermedades emergentes y reemergentes que pueden estar ligadas a la pérdida de la biodiversidad por factores antropogénicos, debido a la destrucción de hábitats naturales, el tráfico de fauna y a la pérdida de diversidad genética, aspectos que juegan un papel importante en la aparición de patologías de origen infeccioso. Como propósito los investigadores plantean la importancia de conocer las zoonosis transmitidas por animales silvestres, su forma de contagio y sus principales vectores y hospedadores.

Con la investigación realizada en Colombia sobre la seroprevalencia de *Borrelia burgdorferi* en 200 caninos del área rural del municipio de Montería (Córdoba), de diferentes edades, sexo, razas y actividad, y estudiados mediante la técnica serológica de ELISA, se obtuvo una seropositividad del 16% (32/200). Igualmente se demostró reacción cruzada con *Leptospira* spp, en 10 muestras (31.25%). Los seronegativos a *Leptospira* y seropositivos a Lyme se reconfirmaron con Western Immunoblot, y se encontraron 4 seropositivos (12.5%)<sup>6</sup>. Llegando a la conclusión, que “aproximadamente el 60% de los patógenos reconocidos como causantes de enfermedad humana son zoonóticos, y el 75% de las enfermedades que se consideran como emergentes en las últimas dos décadas provienen de fuentes de animales silvestres”<sup>6</sup>. Además, es importante resaltar que se debe tener en cuenta la cooperación de distintas ramas del conocimiento y así formar un equipo interdisciplinario que permita establecer soluciones y propuestas para el cuidado, conservación y correcta manipulación del medio ambiente, la fauna silvestre y la microbiología

Se puede señalar que la enfermedad de Lyme en el continente americano no está bien diagnosticada, probablemente porque no se han realizado los suficientes estudios sobre el tema.

Sin embargo, la investigación titulada “Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in Dogs From a Mexico-U.S. Border Desert Region: Pilot Study” cuyo objetivo fue determinar la seroprevalencia de *Borrelia burgdorferi* en población canina en la región fronteriza de México y Estados Unidos, con muestra sanguíneas de 94 perros, analizadas con el Kit de Elisa contra *Borrelia burgdorferi*, los resultados mostraron una prevalencia de *Borrelia burgdorferi* de 8.2% indicando que en Latinoamérica si se está presentando dicha infección, dado que “*B. burgdorferi* se transmite por garrapatas, se deben establecer medidas preventivas y de control para erradicar las garrapatas con el fin de minimizar el riesgo de infección”<sup>12</sup>.

La enfermedad de Lyme hace unos años se reportaba únicamente en el continente Europeo, pero con el tiempo se ha venido presentando en América en diferentes países. En Brasil, los investigadores Lucia Helena O’Dwyer, et al, realizaron un estudio titulado “Soroprevalência de *Borrelia burgdorferi* sensu lato associada à presença de carrapatos em cães de áreas rurais do Estado do Rio de Janeiro, Brasil” cuyo objetivo fue determinar anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* en perros de las zonas rurales de siete municipios del Estado de Río de Janeiro, la metodología que se utilizó fue un ensayo inmunoenzimático indirecto y se aplicó a 199 muestras de caninos donde se encontró que el 15,58% fueron positivos, además de las garrapatas que fueron recogidas de los caninos muestreados el “24,1% se identificaron como *Amblyomma cajennense*, 13,6% como *Rhipicephalus sanguineus*, 2,5% como *Amblyomma aureolatum* y 1,5% como *Amblyomma ovale*. De los animales seropositivos para *B. burgdorferi*, el 38,7%, presentaban *A. cajennense* y el 22,6% presentaban *Rhipicephalus sanguineus*, no habiendo, sin embargo, una correlación positiva entre la presencia de la garrapata y la serología positiva”<sup>13</sup>. Dicha investigación aclara que en América el vector de *Borrelia burgdorferi* ha cambiado, puesto que las diferentes investigaciones dicen que la garrapata que transmite el microorganismo es *Ixodes scapularis* e *I. pacificus* pero esta afirmación se reevalúa puesto que en el continente se detecta un nuevo vector.

En los Estados Unidos también se están presentando casos de Borreliosis canina, debido a dicha problemática se realizó el estudio “The Dog as a Sentinel for Human Infection: Prevalence of *Borrelia burgdorferi* C6 Antibodies in Dogs from Southeastern and Mid-Atlantic States” en 2004, cuyo objetivo específico era saber si la exposición canina a *Borrelia burgdorferi* sería menor en Carolina del Norte, en comparación con la exposición en Virginia, Maryland y Pennsylvania. Para resolver esta pregunta, los investigadores evaluaron el estado de exposición a *B. burgdorferi* utilizando un ensayo de inmunoabsorción enzimático basado en un péptido C6 específico y sensible. Esta prueba se les realizó a 1666 muestras de caninos en el laboratorio de diagnóstico de enfermedades transmitidas por vectores de Carolina del Norte. La comparación entre estados se hizo mediante análisis por Chi-square o Fisher, con dicho estudio se concluyó que “la transmisión de *B. burgdorferi* parece ocurrir con poca frecuencia en los perros de Carolina del Norte en comparación con los perros que residen en otros estados del sudeste y medio Atlántico”<sup>14</sup>.

En Colombia, los señores Freddy Buitrago, et al, del Departamento de Medicina Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Córdoba, realizaron en el año de 2003 una investigación titulada “Determinación de anticuerpos para *Borrelia burgdorferi* en perros mediante técnica de Elisa en el área rural del municipio de Montería – Córdoba” la investigación además de determinar anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi*, también buscaba identificar taxonómicamente los ectoparásitos encontrados en los animales a evaluar”<sup>15</sup>. Los

investigadores realizaron el estudio con una población de 200 caninos y se evaluaron con la técnica de Elisa, donde los resultados demostraron seropositividad, el siguiente paso fue reconfirmar con Western Immunoblot, y se encontraron 4 seropositivos con ligera reacción antigénica relacionada con Lyme. Esto indica que, en Colombia, se encuentra el microorganismo que ocasiona la enfermedad de Lyme, estos resultados invitan a indagar más sobre esta patología, debido a que posiblemente esté afectando a los caninos del país, sin un correcto diagnóstico.

Una de las investigaciones que tomó bastante importancia fue la de los señores Salinas Meléndez, et al, en 1999 titulada “Serological Survey of Canine Borreliosis” publicada en la revista latinoamericana de microbiología, los investigadores en este año se dieron cuenta que la enfermedad de Lyme se estaba describiendo y manifestando en los caninos, por eso ellos tomaron la iniciativa de realizar esta investigación en el área metropolitana de Monterrey-México, obteniendo 850 muestras de sangre de perros y analizándola con la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFA) para detectar anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi*. En esta exploración se obtuvo que “el 16% (136) de estos perros tuvieron resultados positivos. Estos hallazgos sugieren que la exposición a este microorganismo es común en perros y que esta enfermedad es de importancia en el campo veterinario”<sup>16</sup>.

En el año de 1997 Jaime Rojo Vázquez publicó un artículo titulado “Seroprevalencia de la infección por *Borrelia burgdorferi* y *Rickettsia conorii* en población humana y canina de la zona básica de salud de San Andrés del Rabanedo (León, España)” esta investigación tuvo como objetivo determinar si dichos microorganismos estaban afectando tanto a humanos como a caninos. En el estudio se realizó serología para detectar *Borrelia burgdorferi* y *Rickettsia conorii*, los resultados fueron bastante interesantes: en perros, el 2.10% tenía anticuerpos frente a *B. burgdorferi*, pero lo más llamativo fue que “la seroprevalencia hallada fue mayor en humanos que en los perros, cuando debiera ser superior en éstos, o por lo menos igual, tratándose de una antropozoonosis.”<sup>17</sup>. Esto indica que en el siglo pasado tanto en caninos como en humanos ya se habían presentado infecciones por *Borrelia burgdorferi*.

Silvia Delgado y Pedro Cármenes, en 1995 realizaron un estudio llamado “Seroepidemiological survey for *Borrelia burgdorferi* (Lyme disease) in dogs from northwestern of Spain” en el cual buscaban estimar la prevalencia de la borreliosis canina (enfermedad de Lyme) en Castilla y León, la región más extensa de España. En este estudio se utilizó la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFA), utilizando la cepa *Borrelia burgdorferi* B31 como antígeno. Vale resaltar que se probaron sueros de 308 caninos de 7 provincias de la región. “De todos los animales muestreados, 37 (21%), fueron seropositivos. Casi todas las provincias tuvieron una seroprevalencia de 20% o menos”<sup>18</sup>. Esto indica que desde hace más de 20 años en Europa los caninos ya estaban presentando borreliosis, y que en el campo del diagnóstico veterinario no se estaba prestando atención. Como conclusiones se tienen: que los perros que en algún momento tuvieron garrapatas fueron más a menudo seropositivos, y que los perros en Castilla y León, aunque en la mayoría de los casos no desarrollan la enfermedad, están expuestos al agente de la enfermedad de Lyme.

## 2. MARCO REFERENCIAL

### Enfermedad de Lyme

La enfermedad de Lyme es una patología de desarrollo multisistémico, de distribución mundial, pero predomina en las regiones templadas, es causada por la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* y transmitida por garrapatas, cuyo vector principal es del género *Ixodes*. Se considera que dicha enfermedad es la más transmitida por garrapatas en el hemisferio norte. Esta patología tiene una característica bastante peculiar y es que además de afectar a humanos “puede ser transmitida a roedores, ciervos, perros, gatos, vacas, caballos, reptiles y aves”<sup>19</sup> lo que nos indica que es una enfermedad zoonótica. De estos animales el canino es catalogado como el reservorio más importante en la infección por garrapatas en el ámbito doméstico.

### Agente etiológico

“Las espiroquetas se clasifican dentro de tres familias filogenéticas: *Spirochaetaceae*, *Braquispiraceae* y *Lepstospiraceae*”<sup>20</sup> 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  $\mu\text{m}$  y 0.2  $\mu\text{m}$  a 0.5  $\mu\text{m}$  de ancho<sup>21</sup>, en el libro de Bacteriología teoría y práctica Corrales menciona:

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.

La especie más importante a nivel zoonótico es *B. burgdorferi* cuyo predominio esta en Norteamérica y Europa, lleva el apellido de quien la descubrió el señor Willi Burgdorfer en el año de 1982 y es el agente causal de la enfermedad de Lyme.

“Actualmente se conocen once genoespecies de *Borrelia burgdorferi*, de las cuales *B. Burgdorferi* sensu stricto (*B. Burgdorferi* s.s.) *B. garinii* y *B. afzelii* son las únicas, hasta el momento, claramente patógenas para el hombre”<sup>22</sup>. Una particularidad que presenta esta especie de *Borrelia* es que carece de lipopolisacáridos y posee abundantes lipoproteínas de superficie, además de esto una “característica que la diferencia de otras bacterias es que, debido a que la membrana externa carece de rigidez, son los flagelos los que determinan la forma de la espiroqueta”<sup>20</sup>. Su genoma fue “publicado en 1997 por el Institute of Genome Research (TIGR) como *B. burgdorferi* cepa B31 por el grupo de Fraser, et al., y fue completado por Casjens, et al. en el año 2000”<sup>23</sup>. El genoma de “*Borrelia burgdorferi* está compuesto por un cromosoma ADN lineal de 1 kb, 22 plásmidos y el genóforo bacteriano que contiene 853 genes”<sup>24</sup>.

Entre los factores de patogenicidad y virulencia además de los plásmidos, posee proteínas de superficie principales, como Osp A y Osp B, y un plus que posee esta bacteria es que puede sobrevivir sin hierro el cual sustituye por manganeso.

### **Ciclo zoonótico**

*Borrelia burgdorferi* posee un ciclo de vida bastante complicado, puesto que viaja entre vectores artrópodos como garrapatas del género *Ixodes* en sus tres estadios larva, ninfa y adulto y hospederos vertebrados desde pequeños roedores silvestres hasta grandes mamíferos como ciervos. 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, de esta manera transportarse al flujo sanguíneo del hospedero”<sup>25</sup> 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.

### **Vector**

El artrópodo responsable de la enfermedad de Lyme es la garrapata de 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*. Estos son los principales vectores en Norteamérica, Europa y Asia, se caracterizan porque poseen tres periodos de maduración: larva, ninfa, y adultos (macho y hembra).

Como lo menciona Villamil en su tesis doctoral titulada “Epidemiología de “*Borrelia burgdorferi* s L” (enfermedad de Lyme) en un ecosistema de pinar de montaña supramediterráneo”<sup>26</sup>

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 pequeños 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 5-7 días alimentándose y ser fecundadas por los machos, caen de nuevo a la vegetación y comienzan la puesta de huevos.

### **Reservorio**

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”<sup>27</sup> son los reservorios más competentes en Estados Unidos, mientras que en el continente europeo y asiático se considera que el ratón *Apodemus flavicollis*, es el reservorio que tiene el microorganismo que ocasiona la borreliosis.

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.

## Epidemiología

La borreliosis o enfermedad de Lyme se caracteriza por tener una “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”<sup>28</sup> 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 sp</i>
<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 sp</i>
<i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>	América Latina	<i>Ixodes sp</i>

“Se han descubierto hallazgos clínicos y de laboratorio relacionados con *Borrelia Burgdorferi* en América Latina, en diferentes países como Bolivia, Argentina, Chile, Venezuela y Colombia”<sup>29</sup>. En la mayoría de estos países se han obtenido evidencias serológicas, pero no han confirmado el asentamiento del microorganismo responsable de la enfermedad de Lyme.

Países como Brasil y México han realizado estudios un poco más profundos sobre Borreliosis tanto en caninos como en humanos, lo que ha permitido generar conocimiento científico sobre el patógeno mediante estudios moleculares, serológicos y clínicos que indican la existencia de *Borrelia burgdorferi* en estos países. Un aspecto que ha coincidido en los estudios realizados en estos países es el factor de riesgo que posibilita adquirir la infección, sobresaliendo el contar con zonas boscosas o donde predomine una vegetación abundante a la cual tengan acceso los caninos. A la fecha en América Latina donde se reportan más casos, es en los países que se encuentran por debajo de la zona tropical y en “los meses entre junio y agosto debido a que es verano y las garrapatas están en la búsqueda de un hospedero mamífero”<sup>30</sup>.



## **Manifestaciones Clínicas.**

La enfermedad de Lyme es compleja puesto que no todos los caninos infectados por *Borrelia burgdorferi* presentaran los mismos signos clínicos. Esta es una enfermedad que presenta un cuadro clínico multisistémico, probablemente por tres factores: el primero es el estado del sistema inmunológico del canino, el segundo la predisposición genética (raza) y el tercero por la exposición constante a los artrópodos generando una ectoparasitosis.

La borreliosis canina, genera 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”<sup>31</sup>. Pero como se mencionó anteriormente estas manifestaciones no son constantes.

Un estudio realizado en enero del 2018, estableció una comparación entre las manifestaciones clínicas de caninos seropositivos para *Borrelia burgdorferi* en Norte América y Europa, donde se demuestra que los caninos norteamericanos presentaron una “Evidencia histopatológica subclínica de cambios sinoviales leves a moderados, perivasculitis y perineuritis en el sitio de la mordedura de la garrapata, además los canes no mostraron signos neurológicos, y finalizando se evidencio miocarditis fatal en cachorros Bóxer lo que indica que puede haber predisposición genética para la miocarditis autoinmune desencadenada por un antígeno de *Borrelia* que imita la miosina cardíaca”<sup>32</sup> pero lamentablemente tanto la neuroborreliosis canina como la miocarditis a causa de *Borrelia burgdorferi* están mal documentadas. En los caninos europeos se evidencio posiblemente signos clínicos atribuidos en general a la enfermedad de Lyme, los cuales fueron infestación por garrapatas, cojera, signos neurológicos, nefropatía, letargo, anorexia y fiebre.

Como dice Caride en su tesis doctoral “en la diseminación que genera *Borrelia burgdorferi* los signos pueden ser subclínicos o desarrollar un amplio rango de alteraciones clínicas, lo cual dependerá del tiempo transcurrido desde la infección y del órgano o sistema afectado”<sup>26</sup>.

## **Respuesta inmune del Hospedero**

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

La primera barrera de defensa física es la piel, muy eficiente en la protección contra los agentes patógenos. Muy pocos gérmenes tienen la capacidad de penetrar la piel intacta y 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* pueda ingresar en los diferentes tejidos del canino. La segunda barrera física son las mucosas, en el caso de la infección por *Borrelia burgdorferi*, 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. Aunque la respuesta del sistema inmunológico como mecanismos de

defensa ayuda a expulsar los antígenos que llegan por vía oral de diferentes maneras como autolimpieza por peristaltismo, diarrea, vómito y formación de una capa de mucus que impide o dificulta la adherencia de los patógenos al epitelio gastrointestinal. Otra ayuda que posee el sistema inmunológico son las enzimas que se producen en “los jugos gástricos, pancreáticos e intestinales, así como la bilis que tienen actividad bactericida. A diferentes niveles, la mucosa del tracto digestivo tiene características especiales. En el estómago el pH es tan ácido que destruye la mayoría de los gérmenes que entran con los alimentos. Por esto la aclorhidria producida por gastritis atrófica”<sup>33</sup> u otras causas como estrés físico o emocional en el canino, generan una disminución en la resistencia del aparato digestivo a las infecciones.

## **La inmunidad innata**

Las barreras físicas lamentablemente no son cien por ciento eficaces, teniendo en cuenta el tiempo y la persistencia, un microorganismo invasor eventualmente puede superar simples obstáculos físicos. Sin embargo, la mayoría de los intentos de invasión microbianos son bloqueados rápidamente antes de que puedan causar enfermedad. “Todos los mamíferos deben detectar y eliminar a los invasores microbianos con la mayor rapidez y eficacia posible. Esta es la misión del sistema inmune innato”<sup>34</sup>.

Se ha evidenciado que las células del “sistema inmune innato poseen unos receptores denominados “receptores de reconocimiento de patrones” (PRRs). Éstos reconocen estructuras concretas en los agentes patógenos, los 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”<sup>35</sup>, 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”<sup>36</sup>. 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”<sup>37</sup> 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.

Durante la inflamación, los cambios en los tejidos provocados por la invasión microbiana o por daños “en los tejidos producen un aumento del flujo de sangre y la acumulación de células que pueden atacar y destruir los invasores, estas células llamadas neutrófilos y macrófagos, pueden destruir la mayoría de los organismos invasores y así evitar su propagación a las zonas no infectadas del cuerpo”<sup>34</sup> 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 .<sup>38</sup>

El sistema inmune innato carece de cualquier “forma de memoria, y cada infección se trata de forma idéntica. Por lo tanto, la intensidad y la duración de los procesos tales como la inflamación, se mantienen sin cambios no importa cuántas veces se encuentra un invasor específico. Por otra parte, siempre está listo para responder inmediatamente una vez que se detecta un invasor”<sup>35</sup>

## **Inmunidad adaptativa**

La inflamación es el conjunto de mecanismos de respuesta de los tejidos vivos a una agresión física, química, infecciosa o autoinmune, que localiza, aísla y destruye al agente agresor. Hace parte de la inmunidad innata como la adquirida, dicho esto la inflamación y otros componentes del sistema inmune innato son críticos en la defensa del cuerpo. Los animales que no puedan generar una respuesta innata morirán por infecciones incontrolables (caso de algunos caninos con inmunosupresiones). Sin embargo, estos mecanismos innatos no pueden ofrecer la solución definitiva para la defensa del cuerpo. Lo que se necesita realmente es un sistema de defensa que pueda reconocer y destruir a los invasores específicos y aprender de ese proceso, de manera que, así en caso de que estos vuelvan a invadir serán destruidos con mayor eficacia. Este tipo de “respuesta adaptativa es la función del sistema inmune adquirido, al cual le toma varios días para convertirse en efectivo, tiempo requerido para que los linfocitos T y B reconozcan a dichos antígenos, se diferencien y se conviertan en células efectoras”<sup>39</sup>

La inmunidad adaptativa posee diversas características que le dan una ventaja al cuerpo para poder defenderse contra diversas infecciones de diferente nivel, en este caso bacterianas, la primera característica es la “especificidad debido a que este tipo de respuesta va dirigida específicamente a determinada molécula antigénica, la sección que es reconocida por los linfocitos es determinada como epítipo”<sup>40</sup>. La segunda es la memoria y la heterogeneidad o diversidad debido a que el sistema adaptativo no solo reconoce los microorganismos invasores, sino que también los destruye y conserva la memoria del encuentro. Si el canino vuelve a tener un contacto con la misma bacteria el sistema inmunológico responde más rápido y con mayor eficacia.

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 proteínas denominadas anticuerpos que favorecen la destrucción microbiana. Esta respuesta inmunitaria mediada por linfocitos B se denomina en ocasiones respuesta inmunitaria humoral puesto que los anticuerpos están presentes en los fluidos corporales”<sup>34</sup>

Debido a que los “anticuerpos no actúan dentro de las células, la inmunidad frente a los invasores intracelulares depende de los linfocitos T, pues una de sus capacidades es destruir células infectadas o anómalas, este tipo de respuesta se denomina respuesta inmunitaria mediada por células y en esta se clasifican tres tipos importantes de linfocitos T”<sup>41</sup>. Uno es responsable de destruir las células anómalas este recibe el nombre de Linfocito T Citotóxico. El segundo proporciona señales que activan las respuestas inmunitarias adaptativas, por lo que se denomina

linfocito T colaborador y el tercero, pero no menos importante es el linfocito cuya función es regular las respuestas inmunitarias y se denominan linfocitos T reguladores.

Una maravilla del sistema inmunológico en los mamíferos es que en la respuesta inmune adaptativa genera poblaciones de linfocitos T y B de memoria de vida larga que garantizan la persistencia de esta inmunidad durante mucho tiempo, incluso durante toda la vida. En la enfermedad de Lyme siento una infección bacteriana los anticuerpos que se producen son inmunoglobulinas IgG cuya característica principal es que se encuentran en plasma o suero sanguíneo y en el líquido intersticial, dicho esto en la investigación se toman muestras sanguíneas para detectar los anticuerpos presentes en los caninos

## **Diagnóstico**

La detección de *Borrelia burgdorferi* “no posee un método completamente estandarizado y los investigadores usan distintos reactivos, protocolos y sus propios criterios de validación”<sup>42</sup> En los diferentes centros de investigación 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).

### **Diagnóstico Directo**

El diagnóstico directo se basa en la visualización del microorganismo o su aislamiento, además genera la detección de los antígenos del microbio y los ácidos nucleicos. Para la realización de ambos se puede partir de sangre, muestras cutáneas (tomadas preferentemente de la periferia de la lesión del eritema), líquido cefalorraquídeo (LCR), sinovial o incluso orina<sup>43</sup>.

- **Observación de la Espiroqueta en lamina mediante un Frotis de Sangre Periférico (FSP)**

Este Método consiste en colocar una gota de sangre sobre un extremo del portaobjeto y extenderla con otro, siempre en un ángulo de 30°- 45°, se debe mover el segundo portaobjeto hacia atrás hasta tocar la gota de sangre, luego se debe empujar con rapidez y suavemente hacia adelante, hasta el extremo opuesto para crear el frotis, extendiendo la gotita en forma constante y uniforme, para formar una película fina de sangre bien distribuida sin agujeros ni surcos. El siguiente paso es realizar una tinción ya sea Wright o Giemsa y por último realizar la observación en un microscopio. Esta técnica no posee una validación certera puesto que la observación es bastante compleja además este método difiere del criterio personal de los investigadores.

- **Cultivo**

La utilización de medios de cultivo es el procedimiento ideal para confirmar el diagnóstico etiológico, pero la complejidad que posee *Borrelia burgdorferi* es grande, debido a que es un microorganismo de difícil aislamiento esto se debe a su tiempo de crecimiento puesto que esta entre 3-4 semanas y, a veces hasta meses. El medio utilizado es el desarrollado por Barbour y modificado posteriormente por Stoenner y Kelly, y que en la actualidad se puede adquirir de forma comercial. A este medio, se le denomina BSK-H y se le añaden distintas mezclas de L-cisteína, ditiotreitol y antimicrobianos para evitar el crecimiento de la flora contaminante.

“Debido al bajo número de espiroquetas viables presentes en las biopsias de los pacientes infectados y la dificultad en el aislamiento, un resultado negativo en el cultivo no siempre excluye una infección activa. Las Borrelias son más frecuentemente aisladas de cultivos de biopsias de piel de pacientes con eritema crónico migratorio (ECM) o con acrodermatitis crónica atrófica (ACA), o bien de sangre de individuos con infección temprana o de fluido sinovial de individuos con artritis”<sup>44</sup>. Se recomienda que, el cultivo se realice de forma inmediata, se recomienda transportar o pre-incubar la muestra en caldo infusión corazón o tioglicolato.

- **Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR)**

Para el diagnóstico en el laboratorio de *Borrelia burgdorferi*, “la utilización de técnicas moleculares se ha centrado principalmente en los métodos basados en PCR. El primer ensayo de PCR para la detección específica de un gen de *B. burgdorferi* sensu lato codificado cromosómicamente se informó en 1989”<sup>45</sup>. Las muestras más apropiadas para desarrollar la técnica contra el microorganismo responsable de la enfermedad de Lyme son: Sangre, líquido cefalorraquídeo o líquido sinovial, esta muestra depende de la manifestación clínica que este presentando el paciente, además es muy importante a la hora de realizar este procedimiento tener en cuenta que los estudios en “tejidos animales infectados sugieren que la PCR con ADN preparado a partir de tejidos frescos congelados tiene mayores rendimientos que con ADN de tejidos embebidos en parafina y formaldehidos”<sup>46</sup> Esto nos ayudará a un mejor procesamiento de la muestra y permite obtener un resultado más confiable. El análisis de PCR para la detección de *Borrelia burgdorferi* se puede realizar en diferentes pacientes con diversas manifestaciones clínicas como son:

- 1) Muestra de Biopsia de piel de pacientes con manifestaciones cutáneas
- 2) Sangre de pacientes con sospecha de Enfermedad de Lyme
- 3) Líquido Cefalorraquídeo (LCR) con sospecha de pacientes con neuroborreliosis
- 4) Líquido sinovial de pacientes con artritis de Lyme
- 5) Muestra de Orina de pacientes con una borreliosis temprana.

Los investigadores deben comprender los resultados de la prueba de PCR, como dice Exger en su artículo titulado “Isolation and detection of *Borrelia burgdorferi* DNA from cerebral spinal fluid, synovial fluid, blood, urine, and ticks using the Roche MagNA Pure system and real-time PCR”

“Los resultados pueden ser cualitativos (PCR convencional y PCR anidada) o cuantitativos (PCR competitiva y PCR en tiempo real). Cada uno de estos métodos de PCR tiene sus ventajas y desventajas. Para el diagnóstico de laboratorio de la infección por *B. burgdorferi* sensu lato, una PCR cualitativa suele ser suficiente. Sin embargo, varios instrumentos de PCR en tiempo real como el Sistema de Detección de Secuencia (Applied Biosystems, Inc.) y LightCycler (Roche Diagnostics, Inc.) ahora están disponibles comercialmente y ofrecen opciones para la automatización en un entorno de laboratorio clínico”<sup>47</sup>

Se han empleado técnicas moleculares basadas en PCR para (i) confirmación del diagnóstico clínico de LB sospechoso por sus siglas en inglés (Lyme Borreliosis), (ii) identificación y / o tipificación molecular de las espiroquetas infecciosas en muestras clínicas o en aislados cultivados, y (iii) detección de coinfección de *B. burgdorferi* sensu lato y otros patógenos transmitidos por

garrapatas; sin embargo, los ensayos de PCR no han sido ampliamente aceptados para el diagnóstico de laboratorio de LB<sup>48</sup>

### **Diagnóstico Indirecto**

Son aquellos que reconocen la respuesta inmune ya sea humoral o celular por parte del huésped, esto indica que va a detectar anticuerpos específicos contra *Borrelia burgdorferi*. Debido a las limitaciones en la detección directa de la bacteria en muestras clínicas, los métodos de detección de anticuerpos han sido la principal modalidad de laboratorio utilizada para apoyar el diagnóstico clínico de la enfermedad.

A la hora de realizar estas pruebas inmunológicas es de vital importancia entender la composición antigénica de *Borrelia burgdorferi*. “Numerosos estudios mencionan la importancia de la flageloína de la proteína flagelar (41 kDa), como un antígeno inmunodominante. Las respuestas fuertes de IgG e IgM a esta proteína se desarrollan a los pocos días de la infección con *B. burgdorferi*. Por lo tanto, algunos inmunoensayos consisten en flagelos purificados solos mientras que, en otros, se agrega flagelina para enriquecer la mezcla antigénica<sup>49</sup>”

### **Inmunofluorescencia Indirecta**

Fue la primera técnica serológica empleada para la ayuda del diagnóstico frente a la enfermedad de Lyme. Para la implementación de esta técnica se requiere la utilización de suero o plasma puesto que estos dos componentes nos dan la facilidad de detectar los anticuerpos específicos contra *Borrelia burgdorferi* originados por el cuerpo del canino, frente a una infección que está presentando o pudo haber tenido. Se caracteriza por utilizar células completas de *Borrelia* fijadas a portaobjetos. “El suero del paciente se enfrenta a la espiroqueta fijada, y se revela con inmunoglobulina antihumana marcada con fluoresceína o isotiocianato de fluoresceína. Los valores de sensibilidad y especificidad de este ensayo están sujetos a la subjetividad del lector, pues el título de anticuerpos antiborrelia del paciente, se obtiene por el nivel de fluoresceína que se observe en el portaobjeto comparada con los controles, pudiendo ser diferente dependiendo de la lectura realizada<sup>50</sup>”

La técnica de inmunofluorescencia posee unas limitaciones como dice Magnarelli<sup>51</sup> debido a que incluye la utilización de microscopía de fluorescencia, un personal completamente entrenado para la interpretación de la prueba, realizar las diluciones del control para comparación y un criterio científico.

### **Elisa**

La técnica Elisa recibe este nombre por ser acrónimo del inglés Enzyme -Linked ImmunoSorbent Assay o en español Ensayo por inmunoabsorción ligado a Enzimas, esto indica que este método es inmunoenzimático, gracias a que los anticuerpos anti-especie se señalizan con una enzima, de forma que los conjugados (anticuerpo marcado con una enzima específica) resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Como menciona Caride<sup>26</sup> en su tesis, al estar los anticuerpos marcados con la enzima e insolubilizados sobre un soporte, el complejo antígeno-anticuerpo quedará inmovilizado y, por tanto, podrá fácilmente ser revelado mediante la adición

de un sustrato específico que, al actuar la enzima, producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro.

Una de las características más grandes para la implementación de la técnica Elisa, es que se pueden implementar varios tipos de muestra como: suero, plasma, líquido cefalorraquídeo (LCR), saliva, orina, entre otros, esta selección se debe al propósito con el que utilice la técnica, debido a que puede detectar anticuerpos como antígenos en diferentes especies animales.

Como toda prueba en el campo científico posee limitaciones y en el caso de la técnica de ELISA para la detección de *B. burgdorferi* sensu lato es “la falta de estandarización. Existen variaciones entre los ensayos en términos de composición antigénica y en la detección de clases de inmunoglobulinas específicas, particularmente en la detección de anticuerpos IgM”<sup>52</sup>. Además, las preparaciones de antígenos de células enteras carecen de especificidad “debido a la presencia de antígenos de reacción cruzada de *B. burgdorferi* sensu lato, dentro de los cuales se incluyen antígenos bacterianos comunes tales como proteínas de choque térmico, antígenos flagelares y otros”<sup>53</sup>.

### Western Blot o Inmunoblot

Esta técnica se caracteriza por realizar electroforesis con el fin de identificar la producción de anticuerpos específicos como respuesta frente a *Borrelia burgdorferi*. El propósito de implementar esta prueba es validar los anticuerpos detectados por técnicas como Inmunofluorescencia indirecta (IFI) o Elisa. La electroforesis se usa para separar los diferentes antígenos de la espiroqueta en función a su peso molecular. En el análisis del gel SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis que traduce electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico) la literatura nos indica que se han hallado al menos 29 componentes lisados de *Borrelia burgdorferi* de los cuales entre 11 y 12 se reconocen mediante la técnica mencionada al ser usados sueros de pacientes con Enfermedad de Lyme.

En el Western blot se detectan “las proteínas inmunodominantes Osp A (30 a 32 kD), Osp B (34 a 36 kD) y Osp C (21 a 25 kD). Los anticuerpos contra estas proteínas pueden persistir por meses o años, por lo que no son marcadores de actividad. Se considera que los sueros de pacientes tienen anticuerpos IgG dirigidos contra *Borrelia spp*”<sup>54</sup> si muestran al menos dos bandas de reacción antígeno-anticuerpo con cualquiera de las proteínas de los siguientes pesos moleculares:

Tabla 2: Bandas marcadas por anticuerpo IgG contra *Borrelia burgdorferi* mediante la técnica Western blot

Anticuerpo	Osp C		Bmp A			Fla				Unidad
IgG	18	21	28	30	39	45	58	66	93	kD

En cambio, un resultado positivo para IgM debe tener inmunorreacción con una de las siguientes tres bandas:

Tabla 3: Bandas marcadas por anticuerpo IgM contra *Borrelia burgdorferi* mediante la técnica Western blot

Anticuerpo	Osp C	Bmp A		Unidad
IgM	24	28	41	kD

La implementación de la técnica de Western Blot permite una confirmación certera sobre la infección con *Borrelia burgdorferi*, que está presentando o pudo tener el paciente.

### Tratamiento

El tratamiento para pacientes caninos, lamentablemente no está aún estandarizado debido a que no todos los pacientes que son infectados por *Borrelia burgdorferi* presentan un cuadro clínico específico, esto se debe a varios factores; uno de los más importantes es el estado del sistema inmunológico del canino debido a que el microorganismo tendrá mayor replicación y mayor diseminación en los diferentes órganos y tejidos del paciente.

Estudios entre los años de 1990 y 2005 han llegado a la conclusión de que el tratamiento a seguir para “la borreliosis canina, se basa en el uso de tetraciclina, doxiciclina, ampicilina o amoxicilina, cefalosporina de tercera generación y / o eritromicina y sus derivados”<sup>55</sup> Se recomienda que cuando se esté brindando el tratamiento al paciente se observe que haya una desaparición de los signos clínicos acompañada de un ligero aumento de anticuerpos pues esto nos indicará que se está controlando la enfermedad y que hay una respuesta inmunológica correcta.



### **3. DISEÑO METODOLOGICO**

#### **3.1. Tipo de investigación:**

El enfoque que se presenta en la investigación es cualitativo puesto que se detectará la presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* mediante la técnica de inmunofluorescencia, vale mencionar que esta indagación posee un alcance netamente exploratorio debido a que se está generando conocimiento de un problema poco estudiado, contiene variables cualitativas que describirá un fenómeno gracias a sus características presentadas.

#### **3.2. Población:**

Caninos del municipio de Honda en el Tolima y la Mesa y Chía en Cundinamarca, se seleccionaron estos lugares geográficos principalmente por la temperatura y humedad que presentan, ya que esto es de vital importancia para el ciclo de vida de la garrapata, también que los animales presentan una alta ectoparasitosis y esto supone una probabilidad alta de encontrar anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi*.

#### **Criterios de inclusión de la población canina muestreada**

Los criterios que se consideraron importantes para incluir a los caninos en el estudio fueron:

- Que estuvieran expuestos a ectoparásitos (Garrapatas)
- Que presentarán o hayan presentado signos clínicos como decaimiento
- Que se encuentren por debajo de los 2.800 metros sobre el nivel del mar
- Que el sitio donde se encuentren los caninos tengan una temperatura mínima de 24 grados Centígrados

#### **Municipios seleccionados para el muestreo**

Los municipios escogidos fueron Honda que se encuentra en el departamento del Tolima, La Mesa y Chía que están localizados en el departamento de Cundinamarca, dado que tienen características ambientales y de localización geográfica adecuadas para el hábitat de los artrópodos.

### **Honda-Tolima:**

Es un municipio ubicado en el departamento de Tolima, Colombia. Limita con los departamentos de Cundinamarca y Caldas. Honda está ubicada en medio de la Cordillera Central y la Cordillera Oriental en el Valle del Río Magdalena, que en esta región se denomina Valle del Magdalena Medio. Posee una altitud de 229 m s. n. m y su temperatura promedio de 33 °C, constante todo el año. Este municipio se caracteriza por tener en sus cuatro puntos cardinales limitaciones muy importantes en la historia colombiana.

Tabla 4: Límites que presenta el municipio con sus cuatro puntos cardinales

Norte	La dorada municipio del departamento de Caldas
Sur	Municipio de Armero
Oriente	Departamento de Cundinamarca
Occidente	Municipio de San Sebastián de Mariquita

La siguiente figura, se muestra la geografía del departamento y su ubicación en el mapa de Colombia<sup>56</sup>.

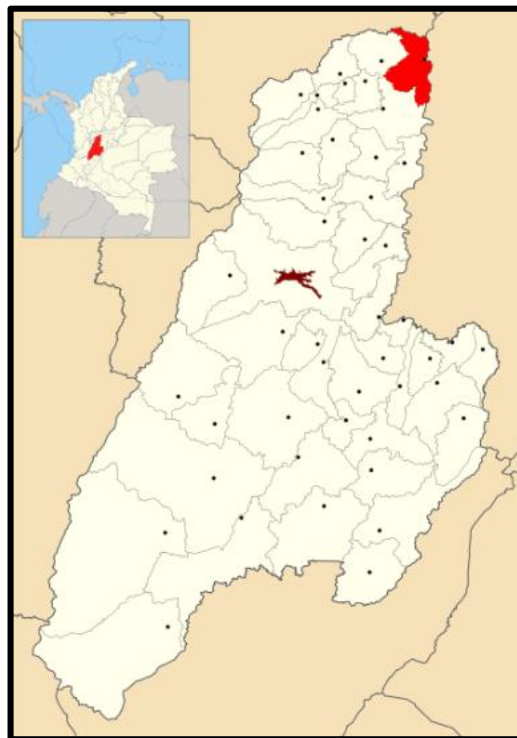


Figura 1. Ubicación geográfica del municipio de Honda en el departamento del Tolima en el territorio Colombiano.

## La Mesa-Cundinamarca

Es un municipio del departamento de Cundinamarca, Colombia. Ubicado en la Provincia del Tequendama a 54 km al suroeste de Bogotá, la capital colombiana. Es la capital de la Provincia del Tequendama, una de las 15 en que se encuentra dividido el Departamento de Cundinamarca. Posee una altitud de: 1200 m s. n. m. Tiene una temperatura media de 24 °C.

Tabla 5: Límites que presenta el municipio con sus cuatro puntos cardinales

Norte	Municipios de Cachipay y Zipacon
Sur	Municipio del Colegio y Anapoima
Oriente	Municipios de Bajaca y Tena
Occidente	Municipio de Quipile

En la siguiente figura se muestra el departamento y la ciudad en el mapa colombiano<sup>58</sup>.



Figura 2. Ubicación geográfica del municipio de la Mesa en el departamento de Cundinamarca en el territorio Colombiano.

### Chía-Cundinamarca

Es un municipio colombiano del departamento de Cundinamarca, ubicado en la Provincia de Sabana Centro, a 10 km al norte de Bogotá. El municipio de Chía está situado en el altiplano Cundiboyacense (Cordillera Oriental de los Andes), a una altitud promedio de poco menos de 2600 m s. n. m. El casco urbano cuenta con un área de 17 km<sup>2</sup> y el área total del municipio es de aproximadamente 79 km<sup>2</sup>. Límites que presenta el municipio de Chía:

Tabla 6: Límites que presenta el municipio con sus cuatro puntos cardinales

Norte	Cajicá.
Sur	Distrito Capital de Bogotá (junto a las localidades de Usaquén y Suba), y los municipios de Cota y La Calera
Oriente	Sopó.
Occidente	Tenjo y Tabio

El municipio está delimitado además por un sistema montañoso compuesto por los cerros de La Valvanera al occidente (2900 m s. n. m.) y El Peñón al oriente (2900 m s. n. m.). Por su territorio pasan el Río Bogotá, el Río Frío, y otros cursos menores. La figura número 3 que se muestra a continuación es la geografía del departamento y de la ciudad en el mapa colombiano<sup>58</sup>.



Figura 3. Ubicación geográfica del municipio de Chia en el departamento de Cundinamarca en el territorio Colombiano.

### 3.2.1 Muestra:

La muestra incluida en el estudio estuvo conformada por sangre total y suero de 60 individuos, las cuales fueron tomadas en tubo tapa lila para la realización de los extendidos de sangre periférica y tubo tapa amarilla para obtener el suero y realizar la detección de los anticuerpos. También se realizó la recolección de garrapatas a los caninos muestreados de cada una de las poblaciones para su clasificación.

- **Recolección de la muestra**

La población de caninos que participó en el estudio eran mascotas, a sus dueños le fueron informados los objetivos del proyecto y procedimientos que se seguirían; los que aceptaron participar, proporcionaron los datos de los caninos. El siguiente paso fue verificar que los caninos presentaran garrapatas y decaimiento, antes de incluirlos en el muestreo. La muestra de sangre se tomó en el tercio delantero, en tubo tapa lila para los frotis de sangre periférica y en el tubo tapa amarilla para obtención del suero y realizar la prueba inmunoserológica.

- **Toma de muestra**

Para ejecutar el muestreo de los caninos se realizó una revisión del material requerido, la integridad de mismo como: embalaje y fecha de caducidad. Se ubicó al canino sobre una mesa en posición de decúbito esternal. Con ayuda de un bozal se agarró el hocico y se procedió a limpiar la zona de venopunción con alcohol para identificar mejor la vena y eliminar la contaminación macroscópica de la piel y el pelo. Se recolectaron garrapatas de cada uno de los animales muestreados, mediante pinzas, tomando el artrópodo por la cabeza para no desprender la probóscide ya que es una parte importante para la clasificación taxonómica. También se realizó extendido de sangre periférica de las garrapatas. Las figuras 4 y 5 son fotografías de los autores del trabajo muestreando a diferentes caninos.



Figura 4 /Quijano, Ramirez



Figura 5/Quijano, Ramirez

### 3.3 TECNICAS Y PROCEDIMIENTOS

- **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* (sensu lato), en el suero de los caninos, con el kit anticuerpos IgG contra *Borrelia burgdorferi*, IFI- FULLER laboratorios.

Principio de la Inmunofluorescencia indirecta:

Si en el suero del paciente existen anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi*, estos se unirán al antígeno que está adherido al portaobjeto. Este complejo es detectado mediante la adición de anti-inmunoglobulina canina conjugada con fluoroforo al pocillo. Finalmente, la reacción es observada mediante un microscopio de fluorescencia.

Explicación de la prueba:

Las láminas IFA en este kit utilizan espiroquetas de *Borrelia burgdorferi* (sensu lato) dentro de una matriz de homogenizado de saco de yema de huevo lavado con acetona. Los sueros del paciente y del control se llevan a dilución de tamizado en solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se incuban en los pocillos de deslizamiento individuales para permitir la reacción del anticuerpo del paciente con los organismos. Las láminas se lavan a continuación para eliminar las proteínas séricas que no han reaccionado, y se añade una IgG anti-canina marcada con fluoroforo (conjugado) para reaccionar con los complejos antígeno-anticuerpo y marcarlos. Después de una incubación adicional, los resultantes pueden visualizarse usando microscopio de fluorescencia estándar, donde una reacción positiva se ve como espiroquetas fluorescentes de color verde manzana claramente definidas contra un fondo rojo contrastante de la matriz del saco vitelino. Una reacción negativa se ve como la ausencia de espiroquetas claramente definidas, como la observada en el pozo de control negativo. Posteriormente, las reacciones positivas pueden volver a ensayarse a diluciones más altas para determinar la dilución reactiva alta o dilución final.

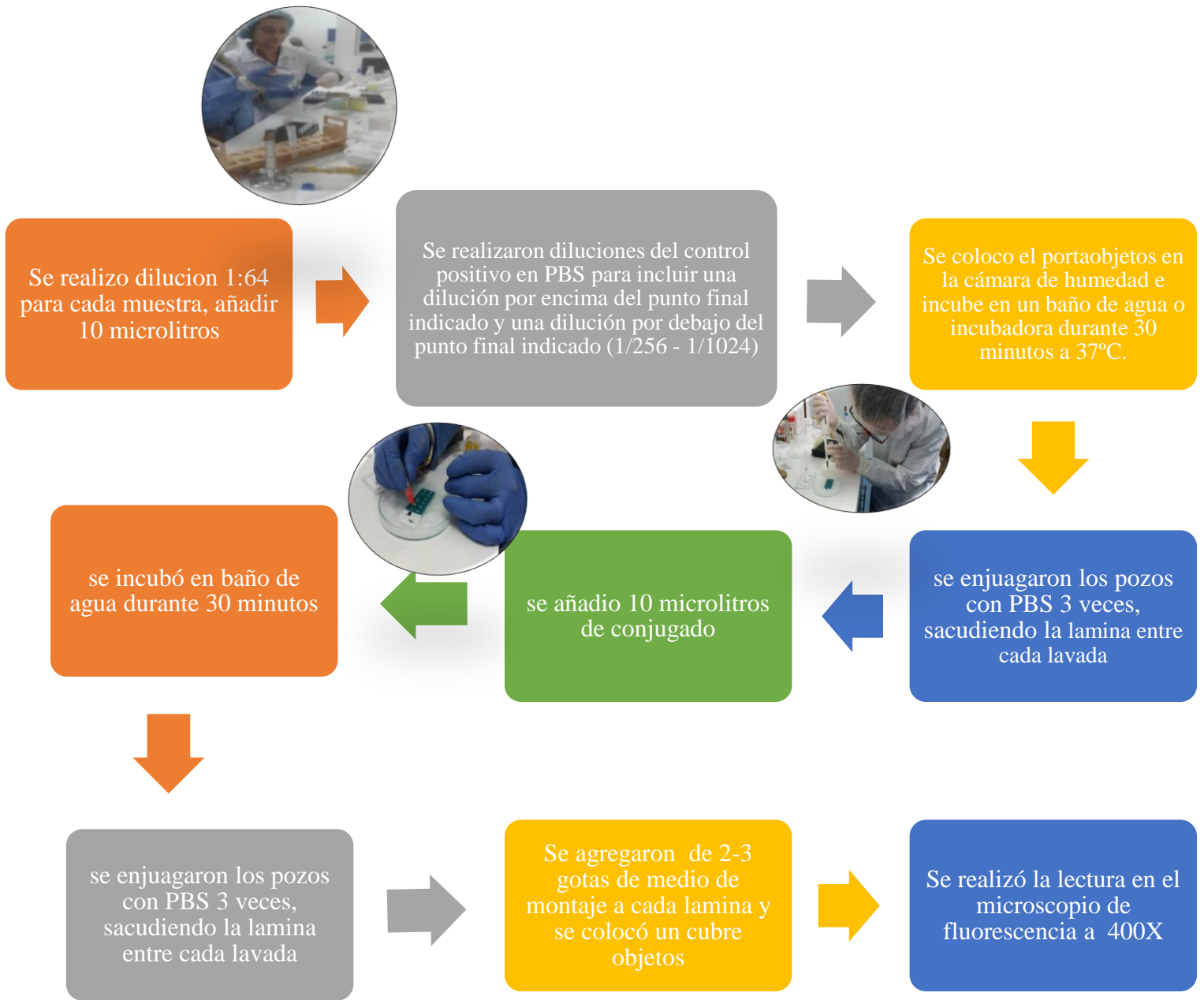


Figura 6: Procedimiento de la Inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* en sueros de caninos. /Quijano, Ramirez

Las siguientes fotografías son los controles que se le realizan a la prueba y que determina si una muestra es negativa o positiva, e identificar el grado de reactividad expresada en cada muestra.

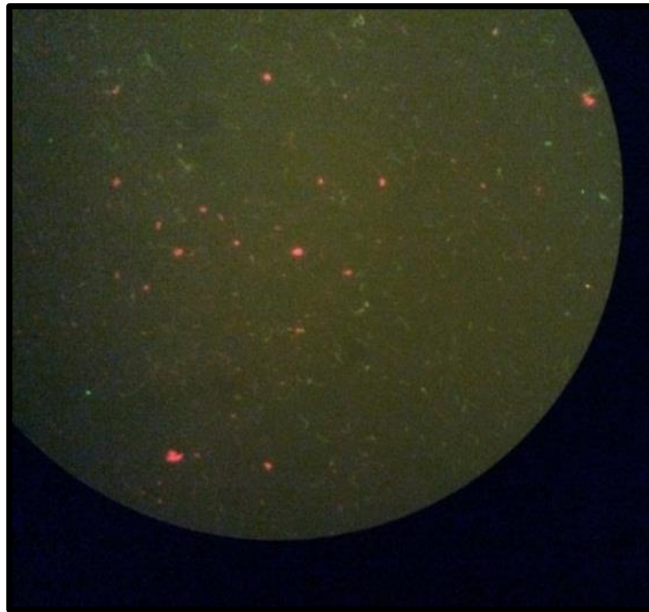


Figura 7: Control Negativo -kit anticuerpos IgG contra *Borrelia burgdorferi*, IFI- FULLER laboratorios/Quijano, Ramirez

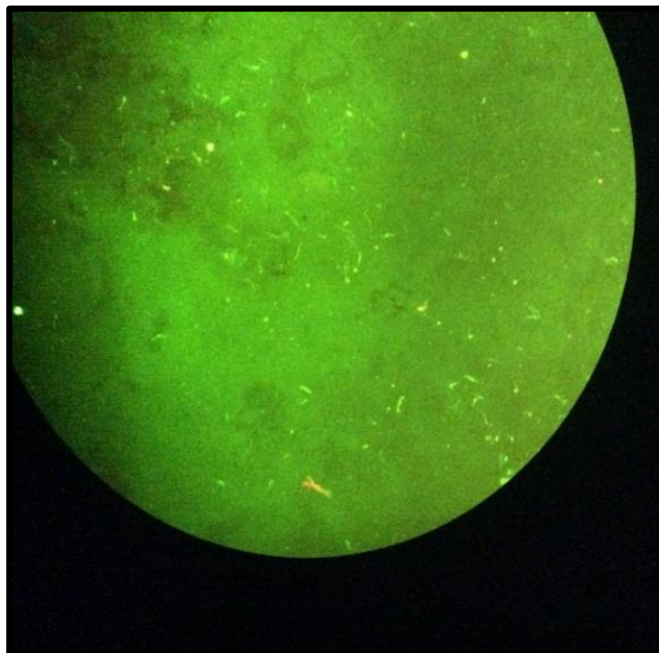


Figura 8: Control Positivo Dilución: 1/256 del kit anticuerpos IgG contra *Borrelia burgdorferi*, IFI- FULLER laboratorios/Quijano, Ramirez



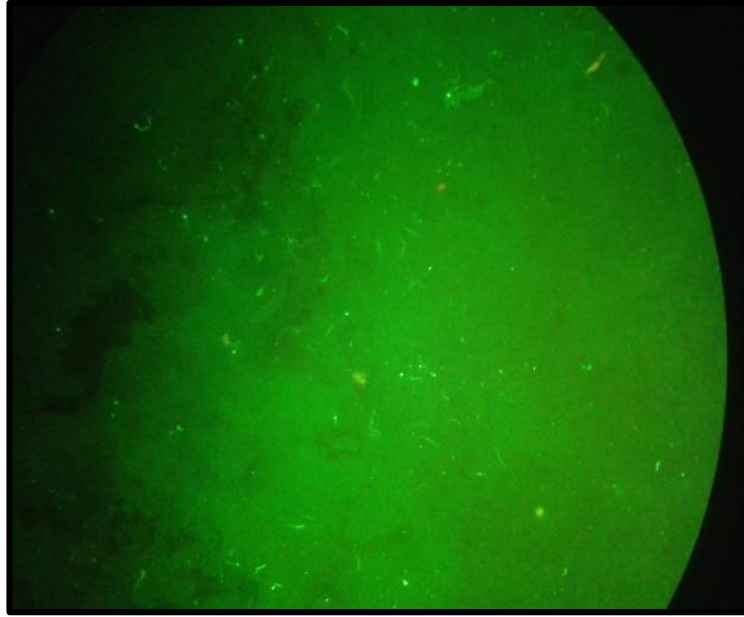


Figura 9: Control positivo de dilución: 1/512 del kit anticuerpos IgG contra *Borrelia burgdorferi*, IFI- FULLER laboratorios/Quijano, Ramirez

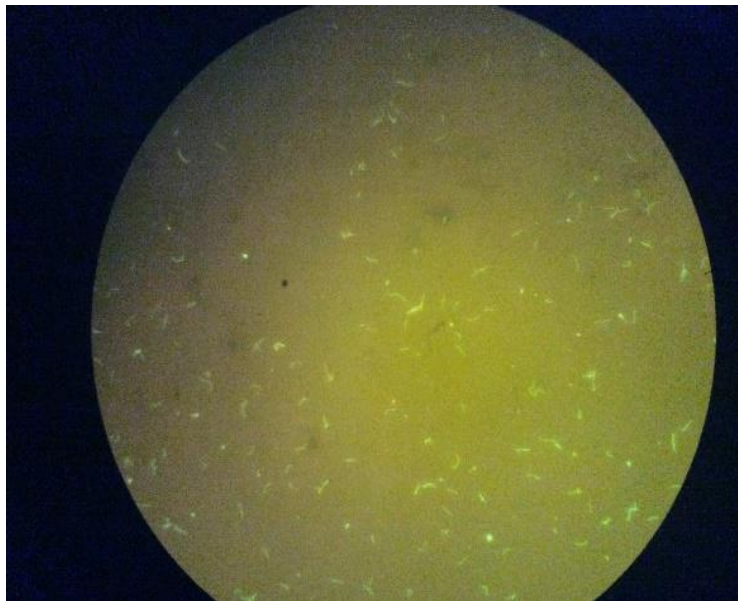


Figura 10: Control positivo dilución: 1/1024 del kit anticuerpos IgG contra *Borrelia burgdorferi*, IFI- FULLER laboratorios/Quijano, Ramirez

- **Frotis de sangre periférico de sangre de caninos**

Es un procedimiento que generalmente se utiliza para la observación microscópica de células sanguíneas, el método que se utilizó en este trabajo fue el del portaobjetos o también conocido como método de cuña, se realizó de manera manual con el procedimiento sugerido en “¿Cómo obtener un extendido de sangre periférica de óptima calidad?”<sup>59</sup> Para leer el paso a paso de la elaboración del frotis de sangre periférica y coloración de Wright dirigirse a anexos.

- **Identificación Taxonómica de Ectoparásitos mediante guías ilustradas**

El análisis de la morfología de este ectoparásito y su comparación con las guías ilustradas es útil para su clasificación de especie e identificarlas dentro del grupo de garrapatas duras y blandas. En la figura se muestra una clave de identificación ilustrada del género *Rhipicephalus* tomado del libro “*Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species*”<sup>60</sup>.

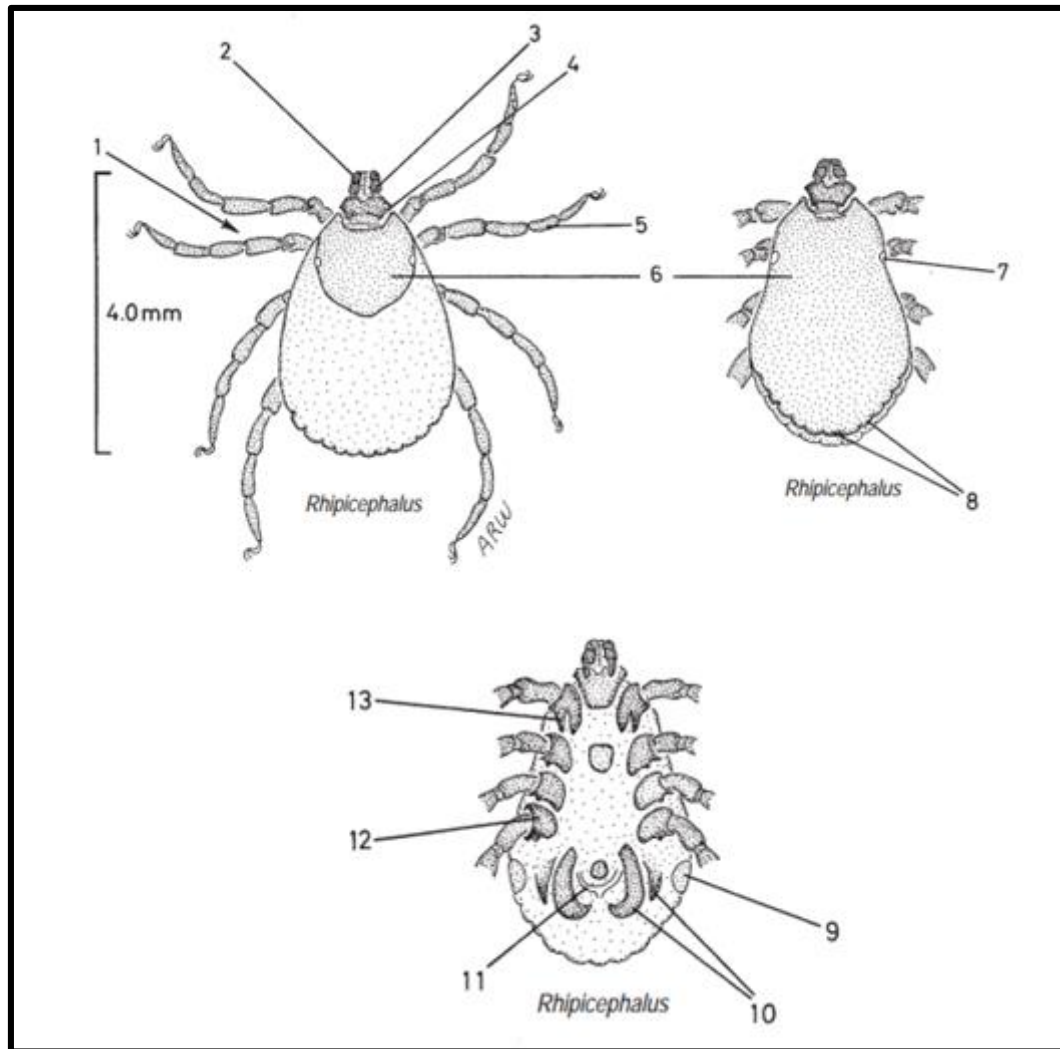


Figura 11. Características morfológicas de *Rhipicephalus*, partes de la garrapata para la identificación taxonómica

### **Características morfológicas a tener en cuenta**

1. El tamaño de las garrapatas no alimentadas es mediano (3 a 5 mm), incluidas las piezas bucales. La sutura lateral está ausente. La textura del tegumento tiene estrías.
2. Piezas bucales son anteriores.
3. Los artículos de los pedipalpos son todos pequeños.
4. La base del capítulo tiene márgenes laterales claramente angulares (haciendo una forma hexagonal de toda la base capitulo).
5. Las piernas no tienen anillos pálidos. Las piernas son delgadas. Los lóbulos o almohadillas están siempre presentes.
6. El escudo está presente en las hembras pues es incompleto y en los machos es completo
7. Los ojos están presentes y son planos a ligeramente convexos (pero en *Rhipicephalus*. Evertsi los ojos son muy convexos o muy abultados).
8. Los festones están presentes en los machos (y en las hembras, pero no están claros cuando se alimenta a las hembras).
9. Las placas espiraculares son grandes y posteriores a las 4 patas. Las copas de espiráculos están dispersas sobre las placas de los espiráculos.
10. Las placas ventrales están presentes solo en los machos (por lo general tiene dos pares de placas).
11. El surco anal es posterior al ano.
12. 4 coxas de tamaño normal
13. La coxa numero 1 tienen espolones pares grandes e iguales.

- **Observación de espiroquetas obtenidas a través de la hemolinfa de la garrapata de vida libre (in vitro)**

Este método consiste en realizar una pequeña punción con el estilete o aguja fina de un kit de disección, en el artrópodo hembra que estuviera pletorizada para poder obtener la hemolinfa con el fin de realizar un frotis periférico para realizar la observación de espiroquetas en la lámina.

1. Tomar el artrópodo con unas pinzas para inmovilizarlo en caso de que este vivo, si la garrapata ya está muerta simplemente sujetarlo para poder realizar la punción con mayor precisión
2. Cuando este inmovilizado o sujetado realizar una punción con el estilete en la cutícula suave debajo del escudo dorsal en la parte distal
3. Cuando salga la hemolinfa, con un capilar tomar el líquido y realizar un frotis periférico
4. Realizar coloración de Wright
5. Observar al microscopio en objetivos de 10x, 40x Y 100x

En la siguiente imagen podemos observar un artrópodo hembra a mano izquierda donde se le realizó el procedimiento anteriormente mencionado para el drenaje de la hemolinfa.



Figura 12: Garrapata hembra (izquierda) que estaba en estado de pletorización y fue drenada, garrapata macho (derecha).

## 4.0 RESULTADOS

### 4.1 DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN DE CANINOS

Los caninos muestreados que cumplieron con los requisitos (criterios de inclusión) los cuales eran: signos clínicos como el decaimiento, que estuvieran expuestos a artrópodos (garrapatas) o tuvieran una ectoparasitosis y que vivieran o hubieran estado en lugares donde la temperatura superará los 24 grados centígrados. Las siguientes fotografías fueron tomadas por los autores del trabajo, donde se muestran los caninos con ectoparasitosis.



Figura 13: Parte trasera de la pierna de un canino /Quijano, Ramirez

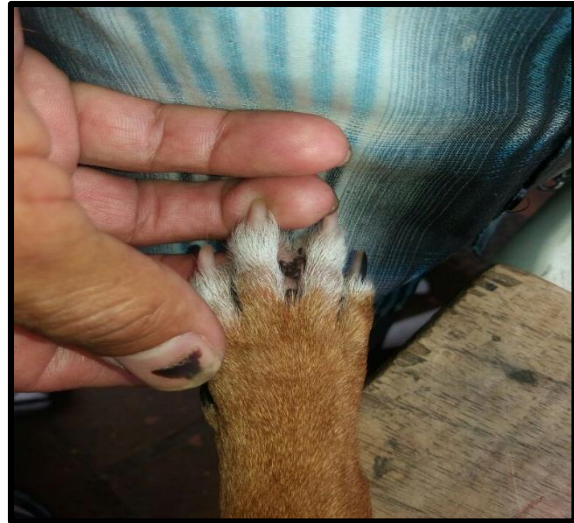


Figura 14: Región interdigital de la pata de un canino ectoparasitado /Quijano, Ramirez

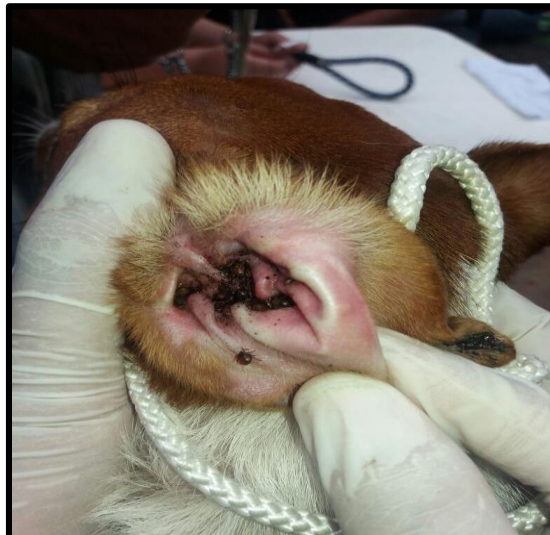


Figura 15: Obstrucción del Canal auditivo de un canino por artrópodos. /Quijano, Ramirez

## 4.2 EL RESULTADO DE LAS PRUEBAS IFI

### DATOS DE CANINOS DE HONDA TOLIMA

En la siguiente tabla se presentan los datos de los caninos muestreados y los resultados de las titulaciones de la prueba IFI. Se puede observar que más del 66.6% de los caninos dieron títulos positivos para *Borrelia burgdorferi*.

Tabla 7: Datos y resultados de IFI de caninos muestreados en Honda- Tolima

CODIGO	NOMBRE DE LA MASCOTA	SEXO	LUGAR	EDAD	ANTECEDENTES	RESULTADO DE IFI	TITULO
Ho.C.1	Bruno	Macho	Honda	5 años	Presencia de garrapatas	Positivo	1/512
Ho.C.2	Niño	Macho	Honda	3 años	Presencia de garrapatas	Positivo	1/256
Ho.C.3	piky	Macho	Honda	23 meses/casi dos años	Presencia de garrapatas	Positivo	1/256
Ho.C.4	Luna	Hembra	Honda	5 años	Presencia de garrapatas	Negativo	
Ho.C.5	Docky	Macho	Honda	3 años	Presencia de garrapatas	Negativo	
Ho.C.6	Fiulet	Macho	Honda	7 años	Presencia de garrapatas	Positivo	1/256
Ho.C.7	Igool	Macho	Honda	2 años y 5 meses	Presencia de garrapatas	Positivo	1/256
Ho.C.8	Muñeca	Hembra	Honda	5 años	Presencia de garrapatas	Positivo	1/256
Ho.C.9	Pecas	Hembra	Honda	2 años	Presencia de garrapatas	Negativo	
Ho.C.10	Morisca	Hembra	Honda	3 años	Presencia de garrapatas	Positivo	1/256
Ho.C.11	Niño	Macho	Honda	Adoptado/ No registra	Presencia de garrapatas	Positivo	1/256
Ho.C.12	Niño	Macho	Honda	23 meses/casi dos años	Presencia de garrapatas	Negativo	

Las fotografías que se muestran a continuación son algunas de los resultados positivos de la prueba de inmunofluorescencia indirecta en los caninos de Honda-Tolima.

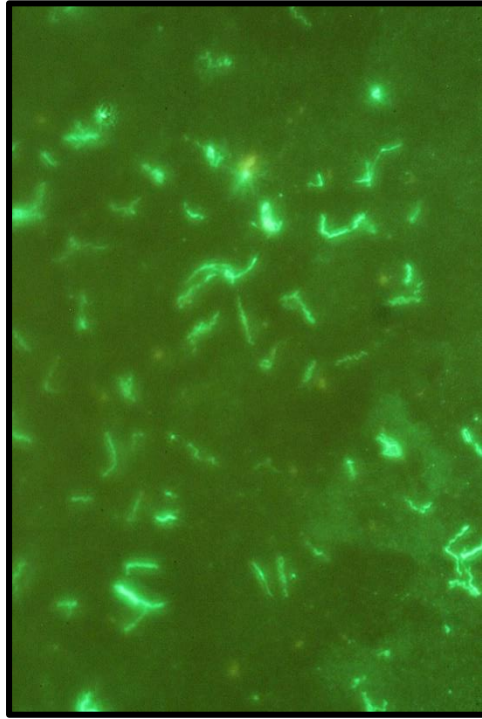


Figura 16: Resultado Positivo de IFI contra *Borrelia burgdorferi* en canino de Honda-Tolima /Quijano, Ramirez

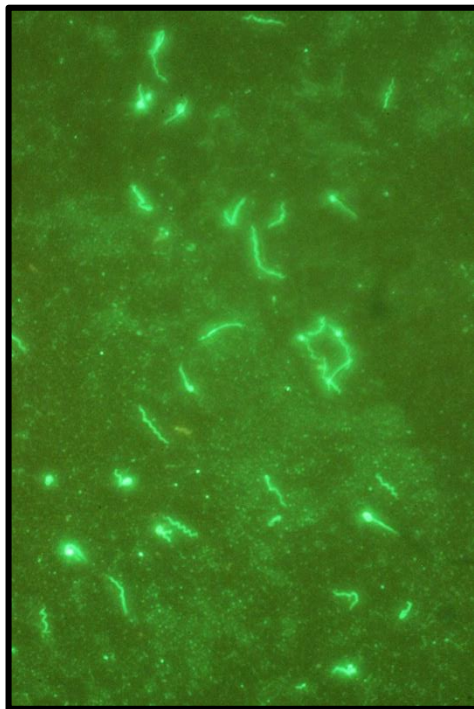


Figura 17: Resultado Positivo de IFI contra *Borrelia burgdorferi* en canino de Honda-Tolima /Quijano, Ramirez

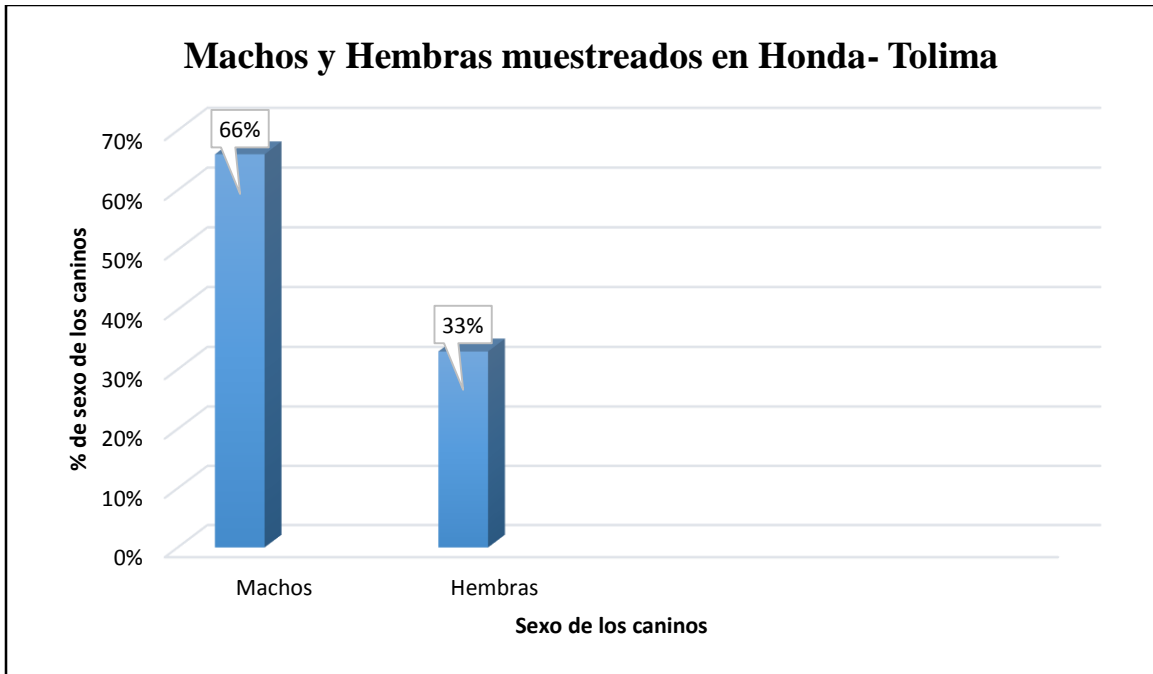


Figura 18: Resultado de clasificación sexual de los caninos de Honda-Tolima

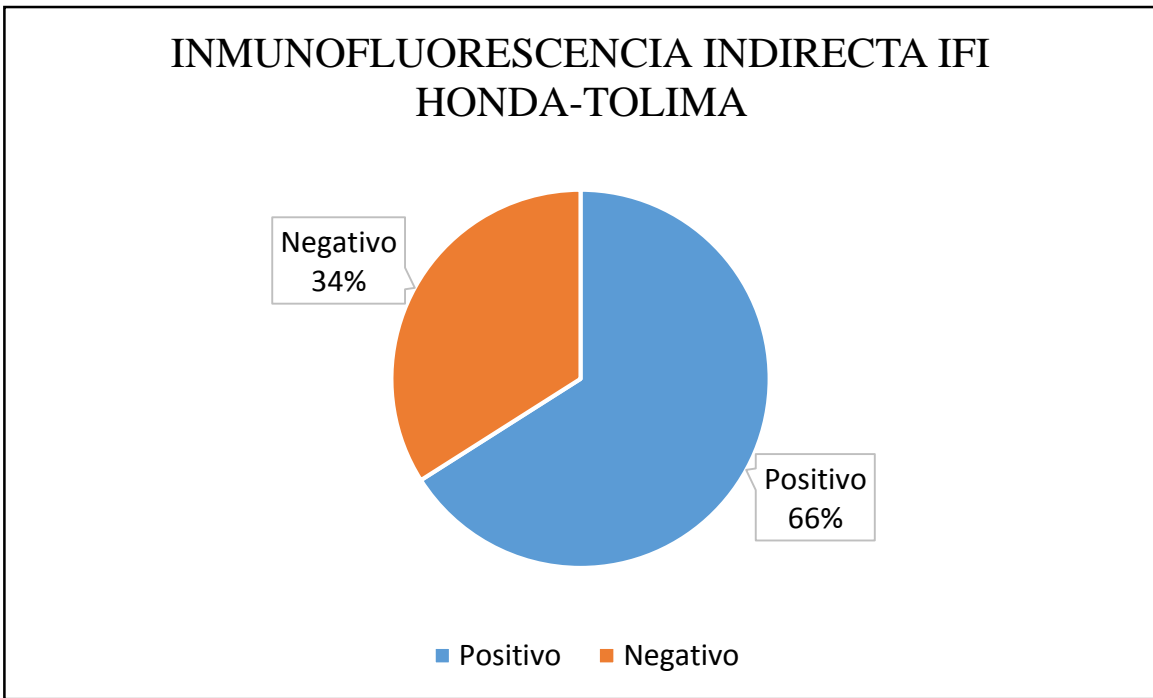


Figura 19: Resultado de Positividad de Inmunofluorescencia indirecta en Honda- Tolima



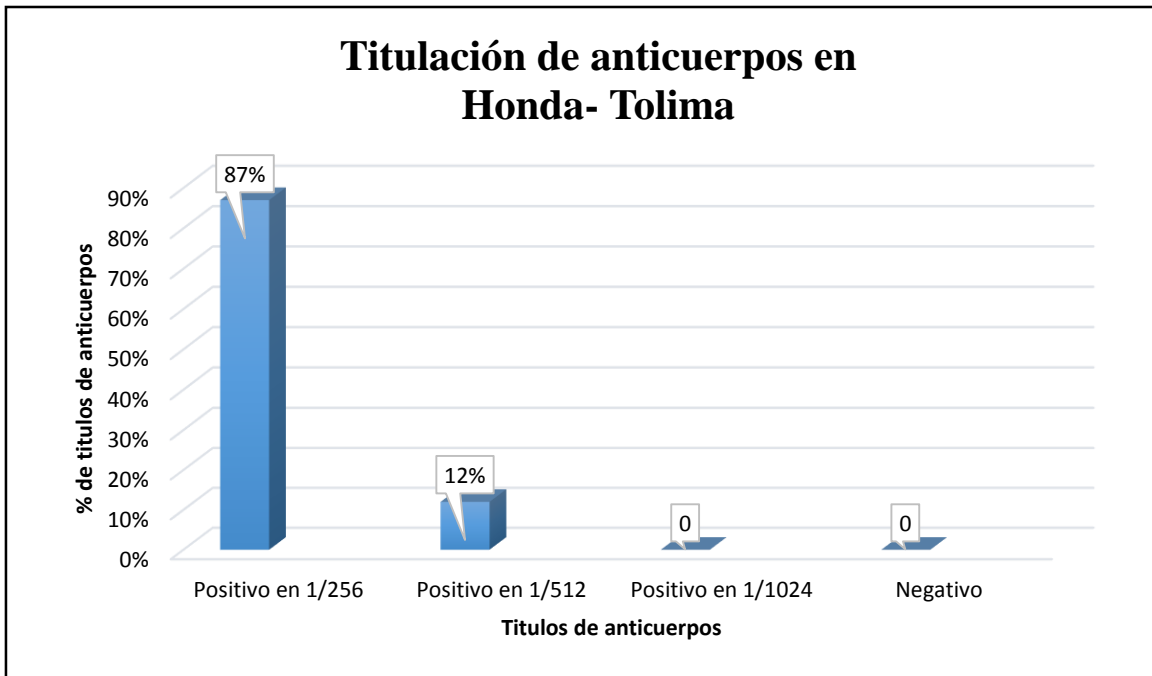


Figura 20: Resultado de Titulación IFI en Honda- Tolima

## RESULTADOS OBTENIDOS EN LA POBLACIÓN CANINA DE LA MESA

En esta tabla observamos los datos de los caninos muestreados en la vereda la esperanza en la mesa y los resultados de las titulaciones de la prueba IFI, el 50% de las muestras dieron positivo.

Tabla 8: Datos y resultados de IFI de caninos muestreados en vereda la esperanza en La mesa-Cundinamarca

CODIGO	VEREDA	NOMBRE DE LA MASCOTA	SEXO	EDAD	ANTECEDENTES	RESULTADO	TITULO
Me.C.13	La esperanza	Kiara	Hembra	1 año	Garrapatas	Negativo	
Me.C.14	La esperanza	Tobías	Macho	7 años	Garrapatas	Positivo	1/512
Me.C.15	La esperanza	Guardián	Macho	3 meses	Garrapatas	Positivo	1/256
Me.C.16	La esperanza	Lulú	Hembra	6 meses	Garrapatas	Positivo	1/512
Me.C.17	La esperanza	Zeus	Macho	10 años	Garrapatas	Negativo	
Me.C.18	La esperanza	Motas	Macho	1 año	Garrapatas	Negativo	
Me.C.19	La esperanza	Muñeca	Hembra	15 años	Garrapatas	Positivo	1/256
Me.C.20	La esperanza	Lupe	Hembra	3 años	Garrapatas	Negativo	
Me.C.21	La esperanza	Juny	Hembra	%	Garrapatas	Negativo	
Me.C.22	La esperanza	Globy	Hembra	2 años	Garrapatas	Positivo	1/256

- Las fotografías que se muestran a continuación son algunas de los resultados positivos de la prueba de inmunofluorescencia indirecta que se empleó en los caninos de la vereda la esperanza en La Mesa-Cundinamarca.

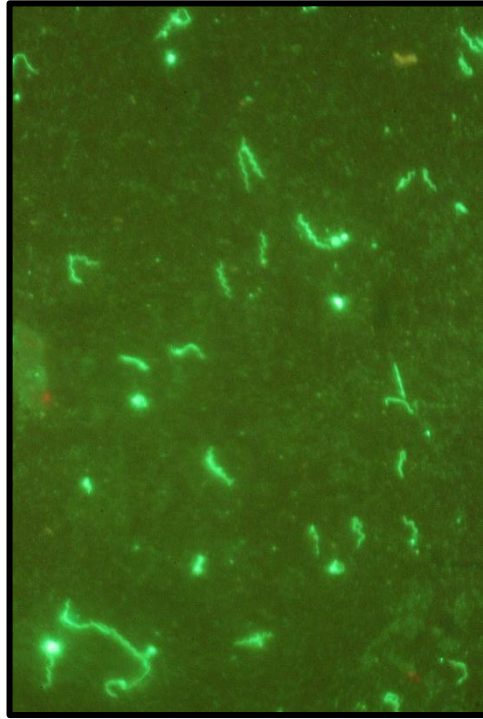


Figura 21: Resultado Positivo de IFI contra *Borrelia burgdorferi* en canino de vereda la esperanza en La Mesa- Cundinamarca /Quijano, Ramirez

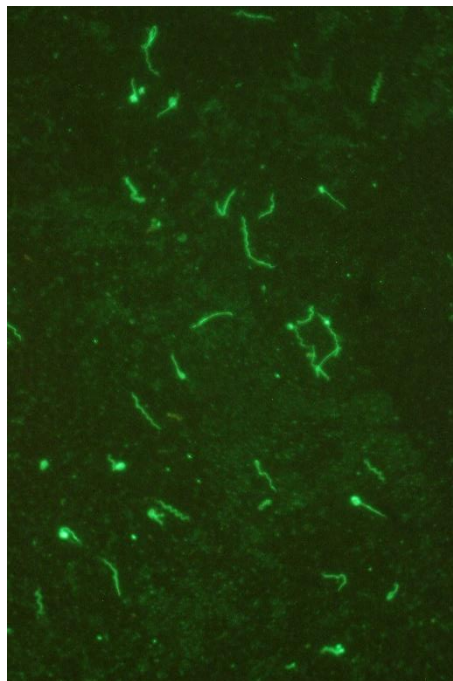


Figura 22: Resultado Positivo de IFI contra *Borrelia burgdorferi* en canino de vereda la esperanza en La Mesa- Cundinamarca/Quijano, Ramirez

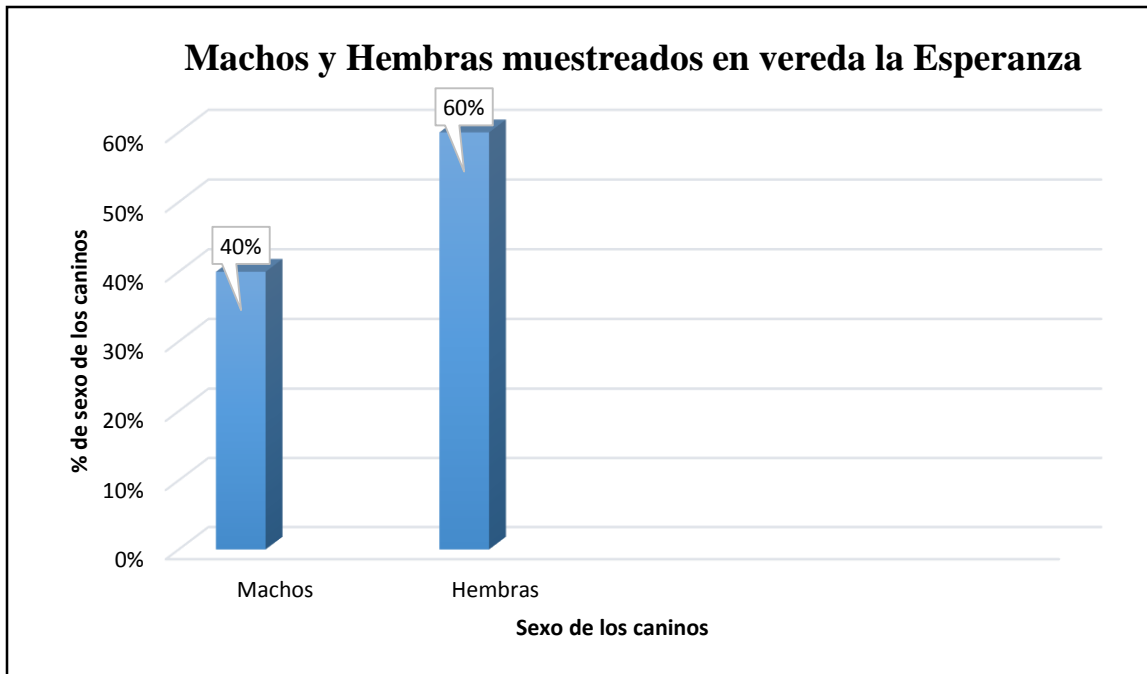


Figura 23: Resultado de clasificación sexual de los caninos de Vereda la Esperanza

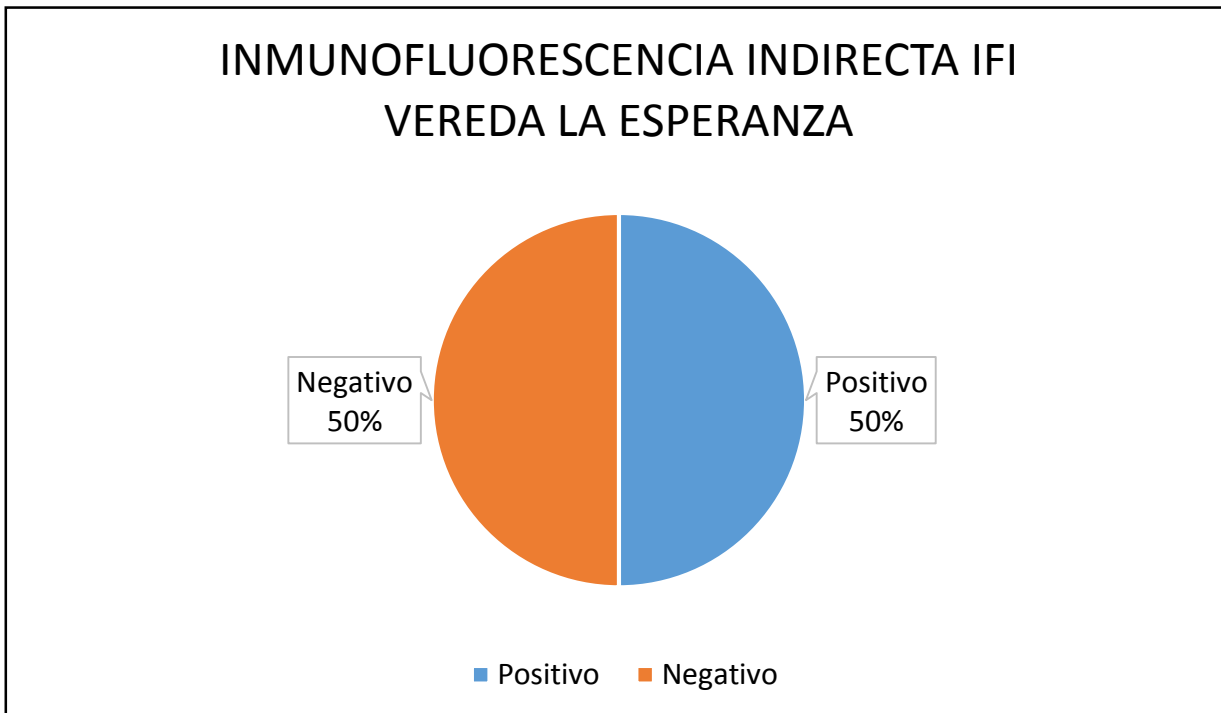


Figura 24: Resultado de Positividad de Inmunofluorescencia indirecta en Vereda la Esperanza

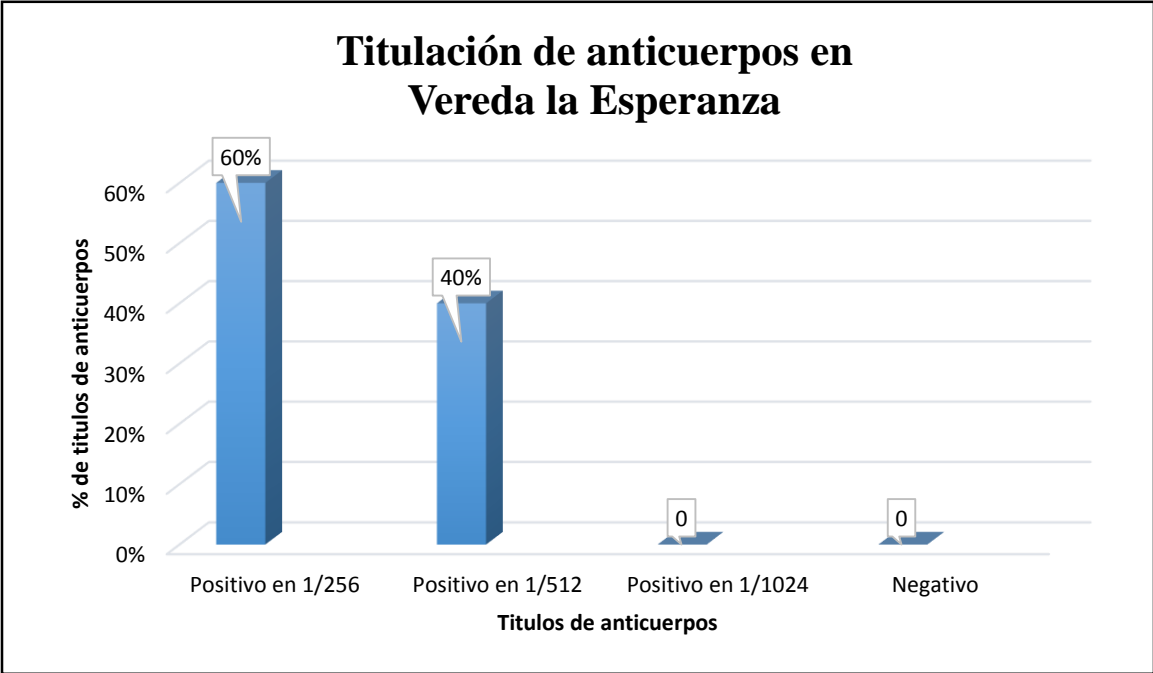


Figura 25: Resultado de Titulación IFI en vereda la Esperanza

En la siguiente tabla encontramos los datos de los caninos muestreados de la vereda las ceibas de la mesa y se observa que en los resultados obtenidos de las titulaciones de la prueba IFI, el 45.5% de las muestras dieron positivas

Tabla 9: Datos y resultados de IFI de caninos muestreados en vereda las ceibas en La mesa-Cundinamarca

CODIGO	VEREDA	NOMBRE DE LA MASCOTA	SEXO	EDAD	ANTECEDENTES	RESULTADO	TITULO
Me.C.23	Las ceibas	Terry	Hembra	4 años	Garrapatas	Negativo	
Me.C.24	Las ceibas	Paca	Hembra	6 años	Garrapatas	Positivo	1/1024
Me.C.25	Las ceibas	Estrella	Macho	8 años	Garrapatas	Negativo	
Me.C.26	Las ceibas	Diamante	Macho	6 años	Garrapatas	Negativo	
Me.C.27	Las ceibas	Rufo	Macho	1 año	Garrapatas	Positivo	1/512
Me.C.28	Las ceibas	Bruno	Macho	4 años	Garrapatas	Positivo	1/1024
Me.C.29	Las ceibas	Luna	Hembra	16 meses	Garrapatas	Negativo	
Me.C.30	Las ceibas	Bruno	Macho	3 años	Garrapatas	Positivo	1/256
Me.C.31	Las ceibas	Kiara	Macho	1 año	Garrapatas	Positivo	1/1024
Me.C.32	Las ceibas	Motas	Macho	4 años	Garrapatas	Negativo	
Me.C.33	Las ceibas	Milo	Macho	5 años	Garrapatas	Negativo	

La fotografía que se muestran a continuación son algunas de los resultados positivos de la prueba de inmunofluorescencia indirecta que se empleó en los caninos de la vereda las ceibas en La Mesa-Cundinamarca.

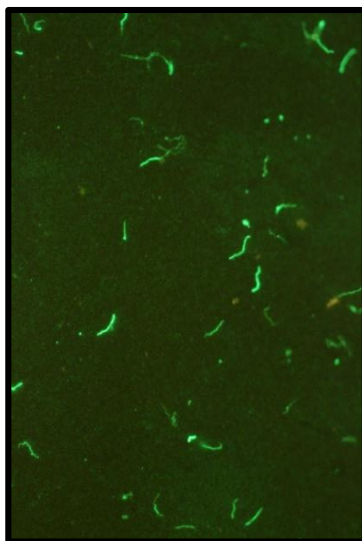


Figura 26: Resultado Positivo de IFI contra *Borrelia burgdorferi* en canino de la vereda Las ceibas en la Mesa-Cundinamarca/Quijano, Ramirez

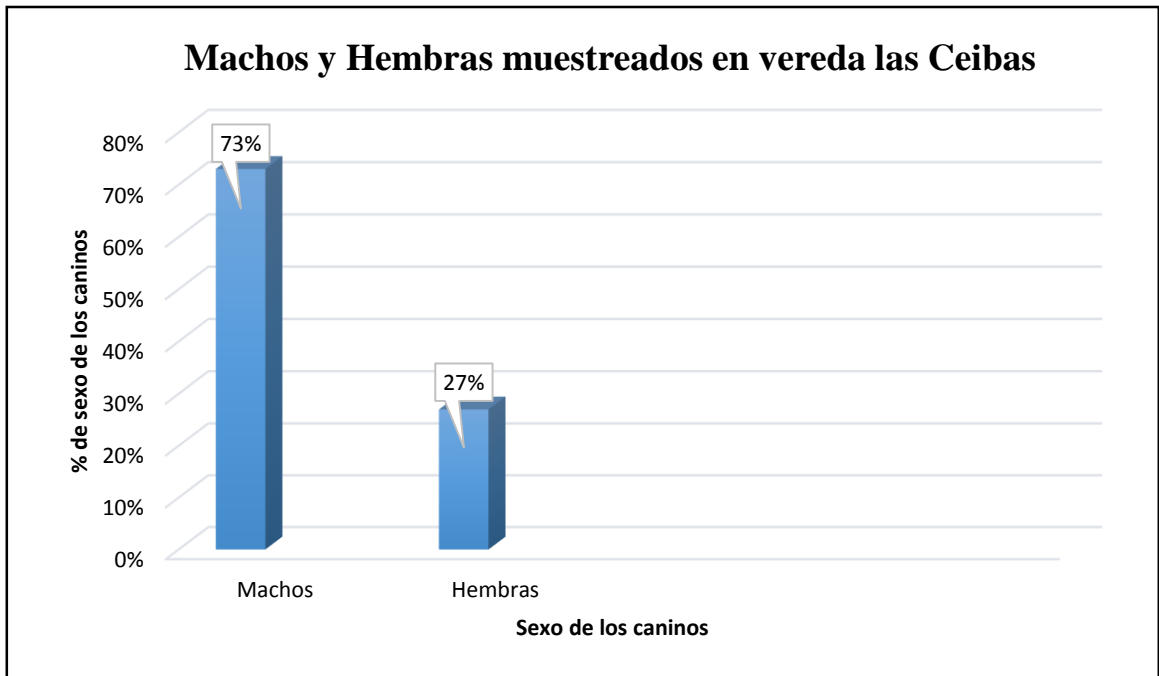


Figura 27: Resultado de clasificación sexual de los caninos de Vereda las Ceibas

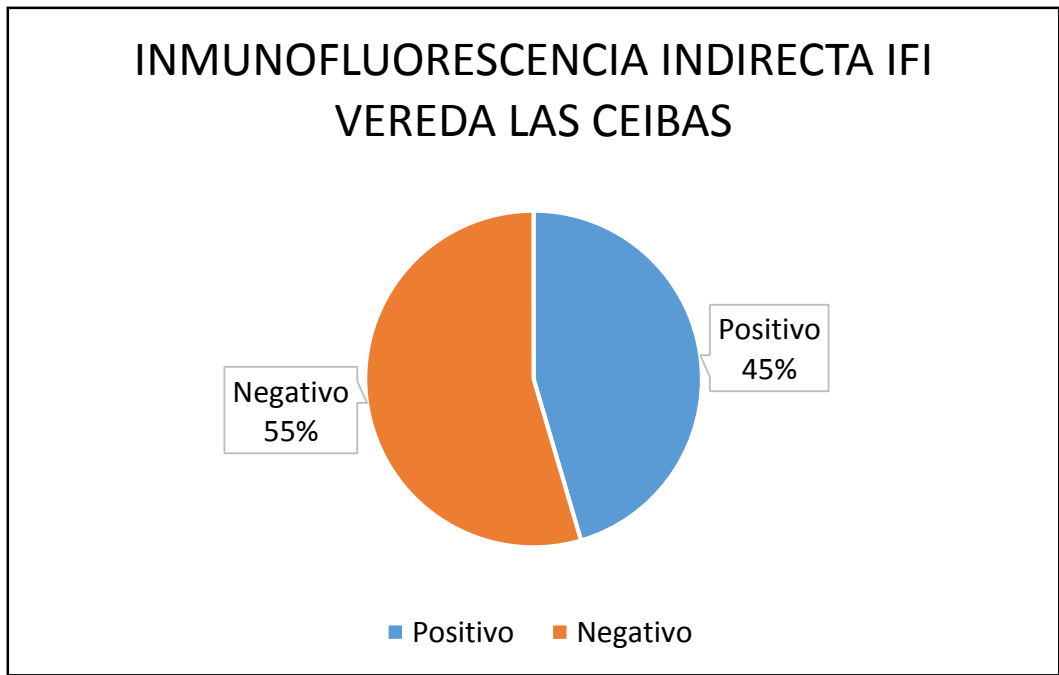


Figura 28: Resultado de Positividad de Inmunofluorescencia indirecta en Vereda las Ceibas

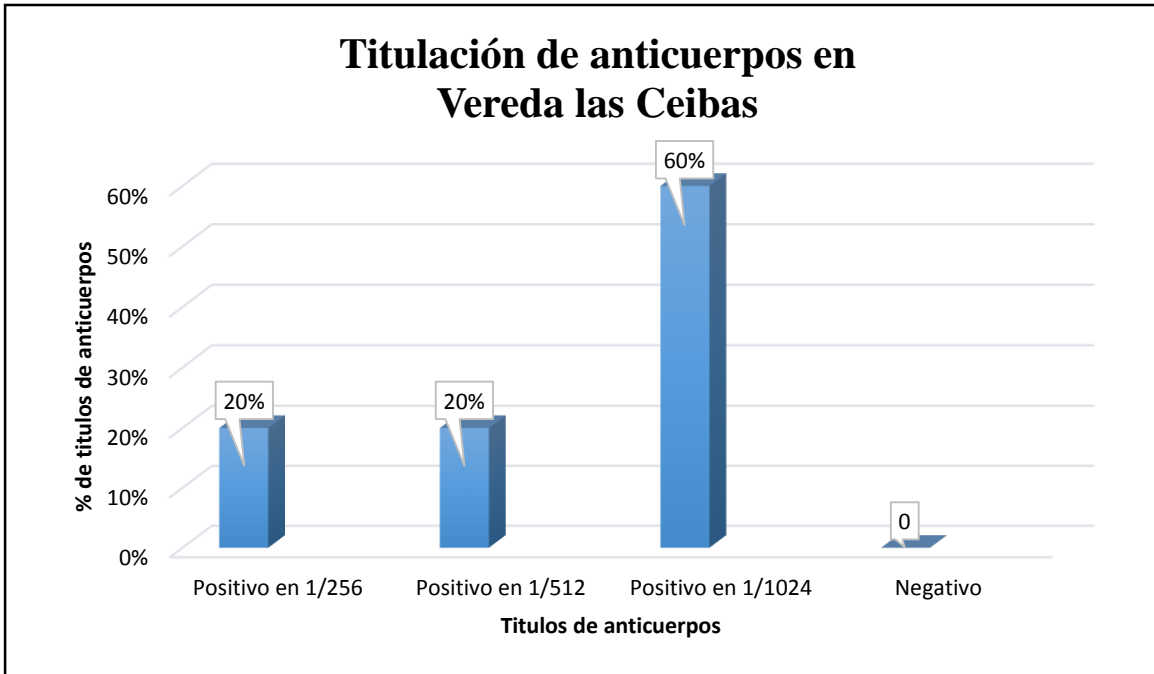


Figura 29: Resultado de Titulación IFI en Vereda las Ceibas



En la siguiente tabla se encuentran los datos de los caninos muestreados en la vereda la mesa con los resultados de las titulaciones de la prueba IFI, 42% de muestras dieron positivas en la prueba

Tabla 10: Datos y resultados de IFI de caninos muestreados en vereda la mesa en La mesa-Cundinamarca

CODIGO	VEREDA	NOMBRE DE LA MASCOTA	SEXO	EDAD	ANTECEDENTES	RESULTADOS	TITULO
Me.C.34	La mesa	Nicky	Macho	2 meses	Garrapatas	Positivo	1/1024
Me.C.35	La mesa	Nana	Hembra	1 año 1/2	Garrapatas	Negativo	
Me.C.36	La mesa	Júpiter	Macho	4 meses	Garrapatas	Negativo	
Me.C.37	La mesa	Scott	Macho	15 años	Garrapatas	Positivo	1/256
Me.C.38	La mesa	Tony	Macho	4 años	Garrapatas	Positivo	1/512
Me.C.39	La mesa	Coco	Macho	2 meses	Garrapatas	Negativo	
Me.C.40	La mesa	Pinky	Macho	8 años	Garrapatas	Negativo	

La fotografía que se muestran a continuación son algunas de los resultados positivos de la prueba de inmunofluorescencia indirecta que se empleó en los caninos de la vereda la mesa en La Mesa-Cundinamarca.

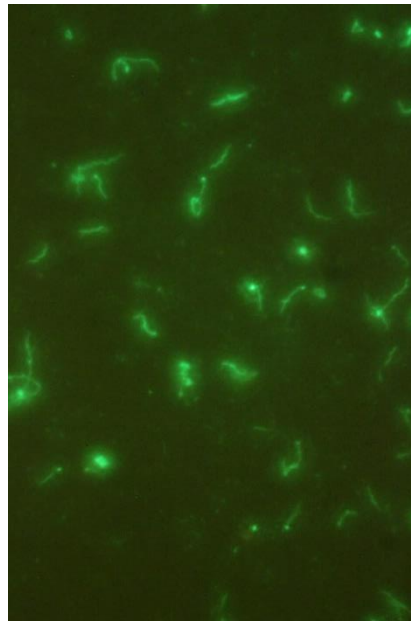


Figura 30: Resultado Positivo de IFI contra *Borrelia burgdorferi* en canino de vereda la mesa en la Mesa-Cundinamarca /Quijano, Ramirez

Del total de los 28 caninos muestreados en las tres veredas del municipio de la Mesa en Cundinamarca, el 46.1% dieron resultado positivo.

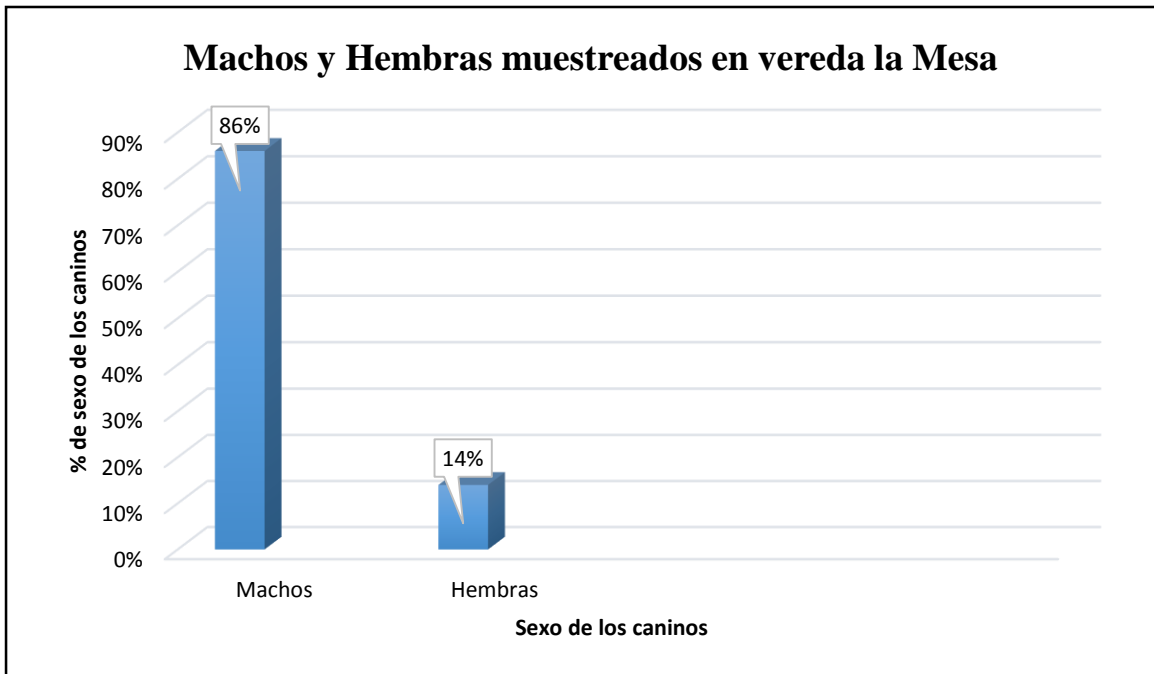


Figura 31: Resultado de clasificación sexual de los caninos de Vereda la Mesa

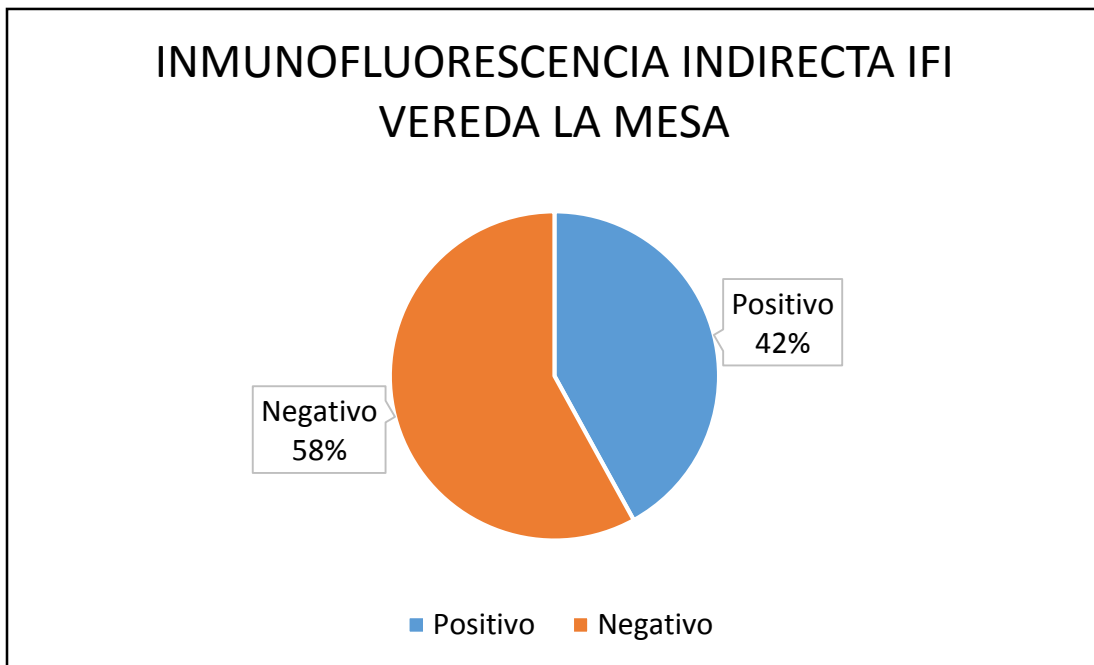


Figura 32: Resultado de Positividad de Inmunofluorescencia indirecta en Vereda la Mesa

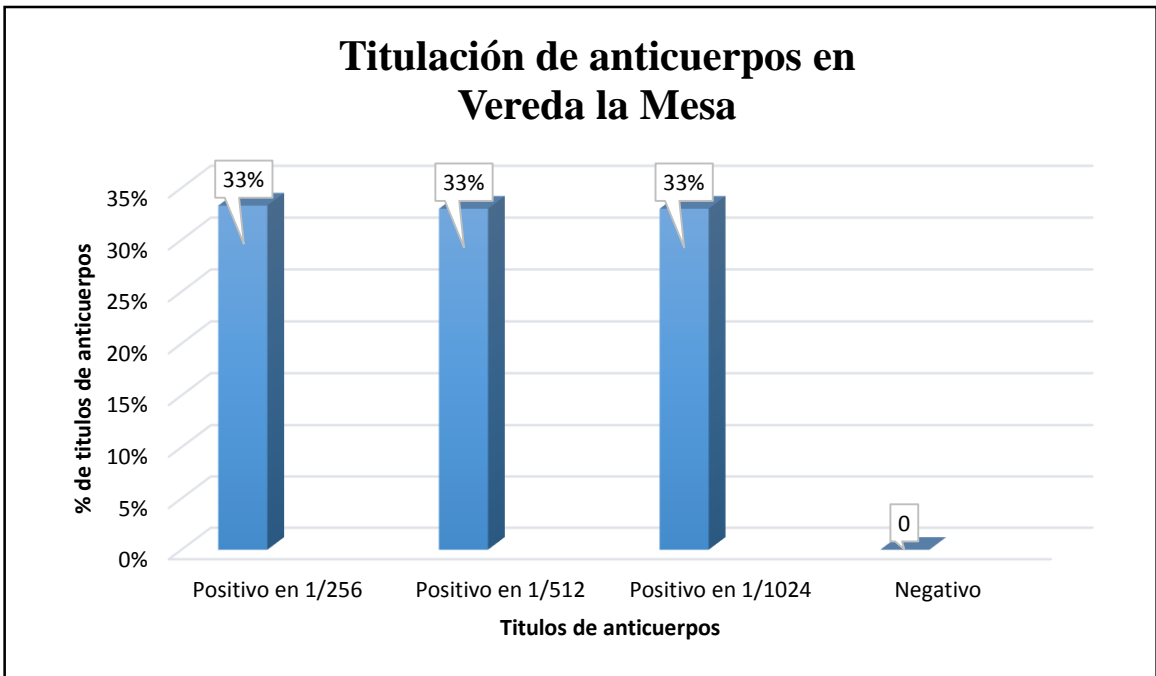


Figura 33: Resultado de Titulación IFI en Vereda la Mesa

## RESULTADOS OBTENIDOS EN LA POBLACIÓN CANINA DE CHÍA CUNDINAMARCA

En esta tabla encontramos los datos de los caninos muestreados en Chía Cundinamarca con los resultados de las titulaciones de la prueba IFI, 94% de muestras dieron positivas en la prueba

Tabla 11: Datos y resultados de IFI de caninos muestreados en Chía-Cundinamarca

CÓDIGO	LUGAR	NOMBRE DE LA MASCOTA	SEXO	EDAD	ANTECEDENTES	RESULTADO	TITULO
Ch.C.41	Chía	Lobita	Hembra	4 años	Garrapatas	Positivo	1/256
Ch.C.42	Chía	Arequipe	Macho	5 años	Garrapatas	Positivo	1/512
Ch.C.43	Chía	Nata	Hembra	6 años	Garrapatas	Positivo	1/1024
Ch.C.44	Chía	Julieta	Hembra	2 años	Garrapatas	Positivo	1/256
Ch.C.45	Chía	Zeus	Macho	3 años	Garrapatas	Positivo	1/256
Ch.C.46	Chía	Pilo	Macho	4 años	Garrapatas	Positivo	1/512
Ch.C.47	Chía	Jacinto	Macho	4 años	Garrapatas	Positivo	1/256
Ch.C.48	Chía	Cumbia	Hembra	5 años	Garrapatas	Positivo	1/256
Ch.C.49	Chía	Póker	Macho	6 años	Garrapatas	Positivo	1/256
Ch.C.50	Chía	Randa	Hembra	7 años	Garrapatas	Positivo	1/256
Ch.C.51	Chía	Boom	Macho	8 años	Garrapatas	Positivo	1/256
Ch.C.52	Chía	Capochin	Macho	4 años	Garrapatas	Negativo	
Ch.C.53	Chía	Mono	Macho	3 años	Garrapatas	Positivo	1/512
Ch.C.54	Chía	Negra	Hembra	6 años	Garrapatas	Positivo	1/512
Ch.C.55	Chía	Romeo	Macho	7 años	Garrapatas	Positivo	1/512
Ch.C.56	Chía	Rolo	Macho	7 años	Garrapatas	Positivo	1/256
Ch.C.57	Chía	Romeo	Macho	5 años	Garrapatas	Positivo	1/512
Ch.C.58	Chía	Sion	Macho	3 años	Garrapatas	Positivo	1/256

Las fotografías que se muestran a continuación son algunas de los resultados positivos de la prueba de inmunofluorescencia indirecta que se empleó en los caninos de Chía-Cundinamarca

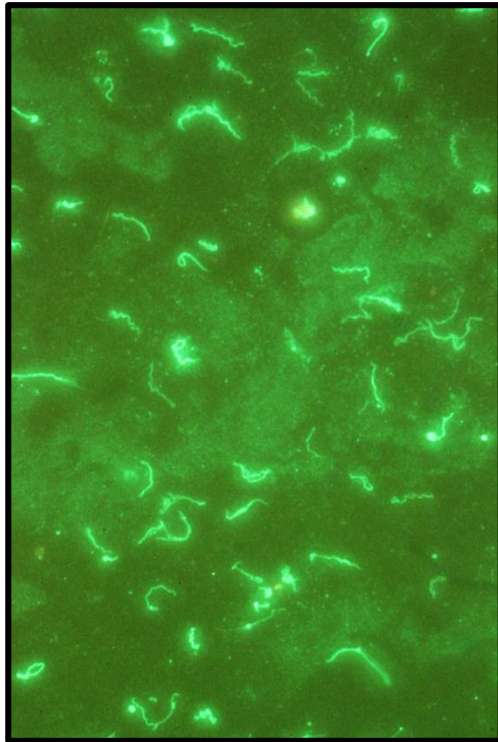


Figura 34: Resultado Positivo de IFI contra *Borrelia burgdorferi* en canino de Chía-Cundinamarca /Quijano, Ramirez

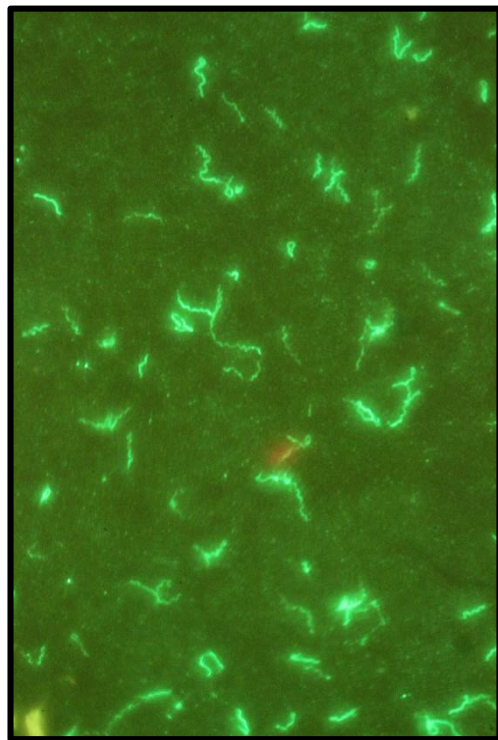


Figura 35: Resultado Positivo de IFI contra *Borrelia burgdorferi* en canino de Chía-Cundinamarca/Quijano, Ramirez

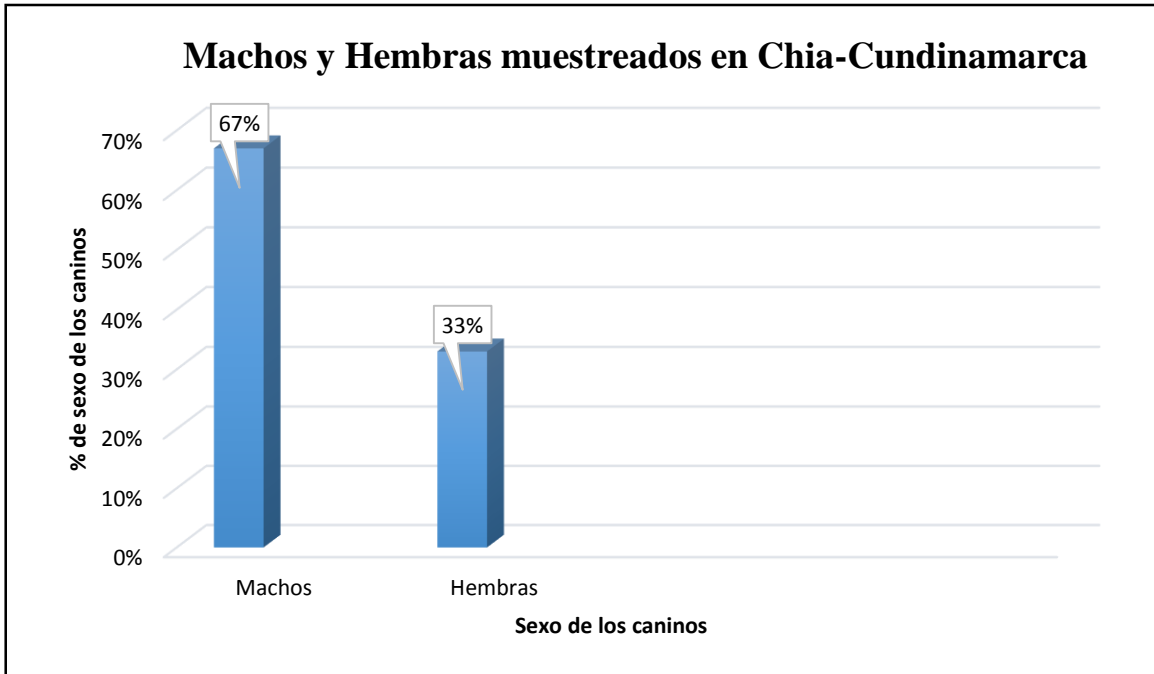


Figura 36: Resultado de clasificación sexual de los caninos de Chía- Cundinamarca

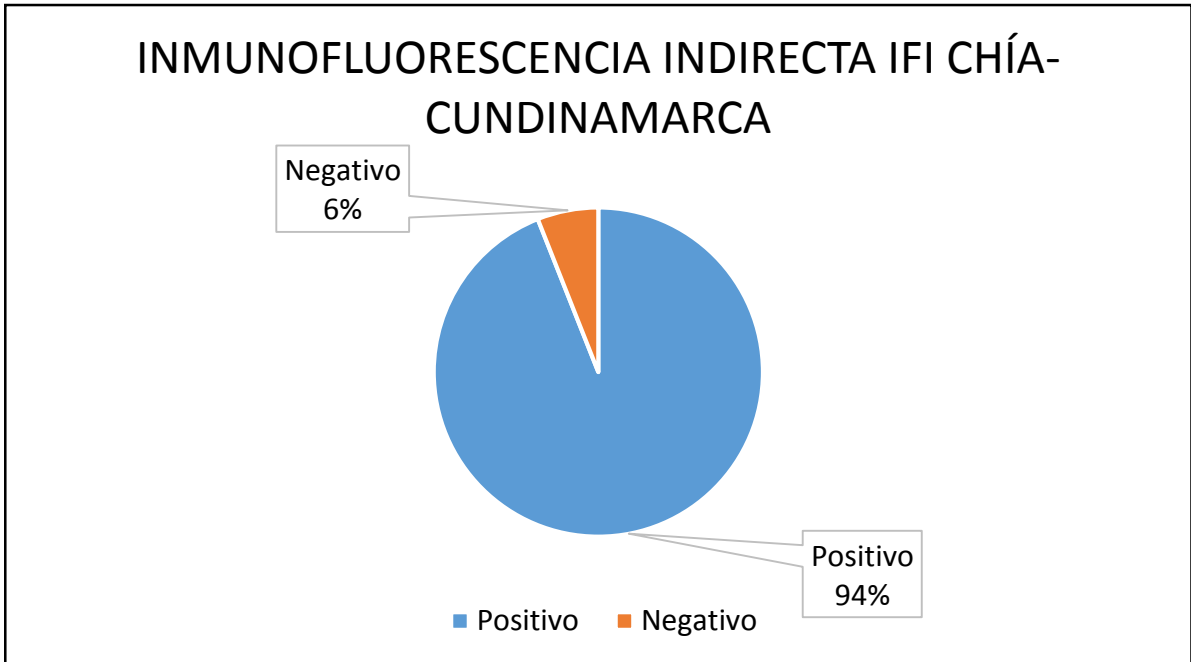


Figura 37: Resultado de Positividad de Inmunofluorescencia indirecta en Chía-Cundinamarca

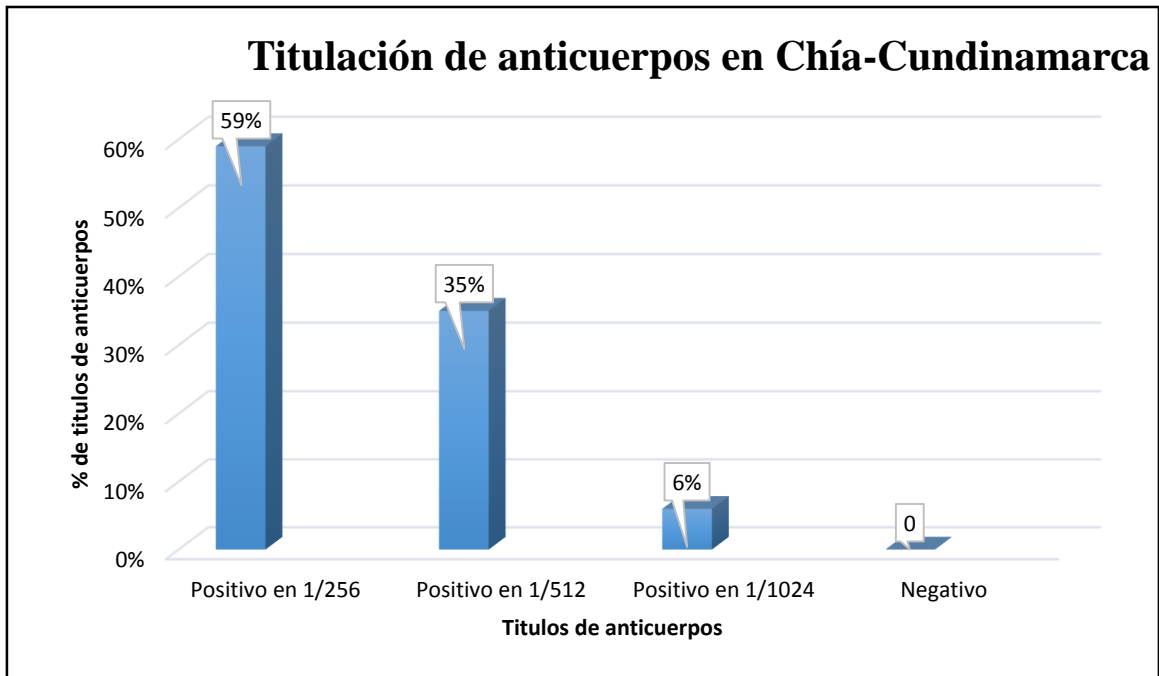


Figura 38: Resultado de Titulación IFI en Chía-Cundinamarca

**Resultados generales.**

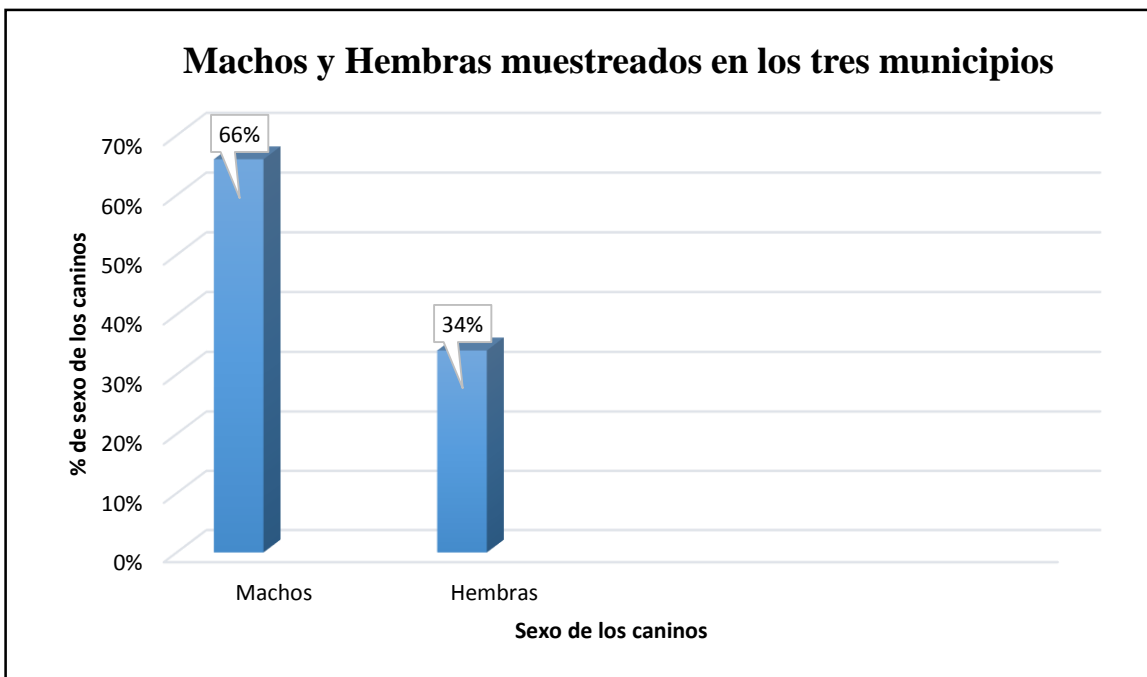


Figura 39: Resultado de clasificación sexual de los caninos en los tres municipios

En la siguiente figura se evidencia que el 69% de las muestras de los caninos muestreados en las tres poblaciones dieron positivas para la prueba de IFI contra *Borrelia burgdorferi*, confirmando que los caninos presentan anticuerpos IgG, frente a la espiroqueta.

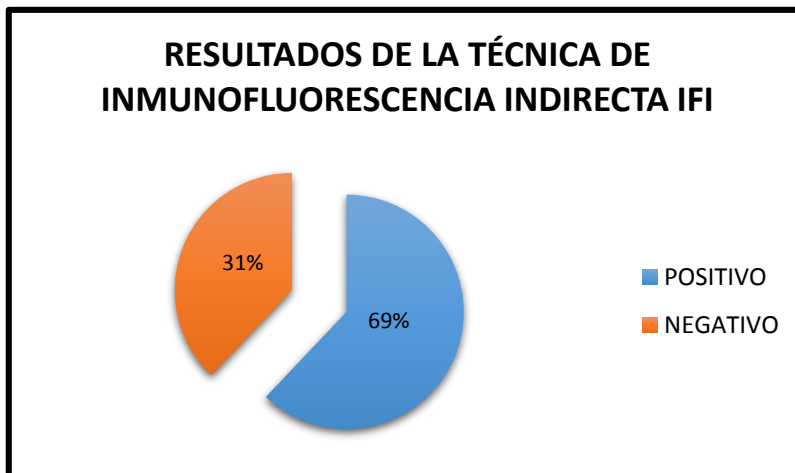


Figura 40: Resultado de IFI en población total de los tres municipios muestreados en porcentaje

En la siguiente gráfica se observa que de las tres diluciones que se realizaron en la prueba inmunoserológica, la dilución de 1/256 fue la que obtuvo el mayor número en las muestras positivas.

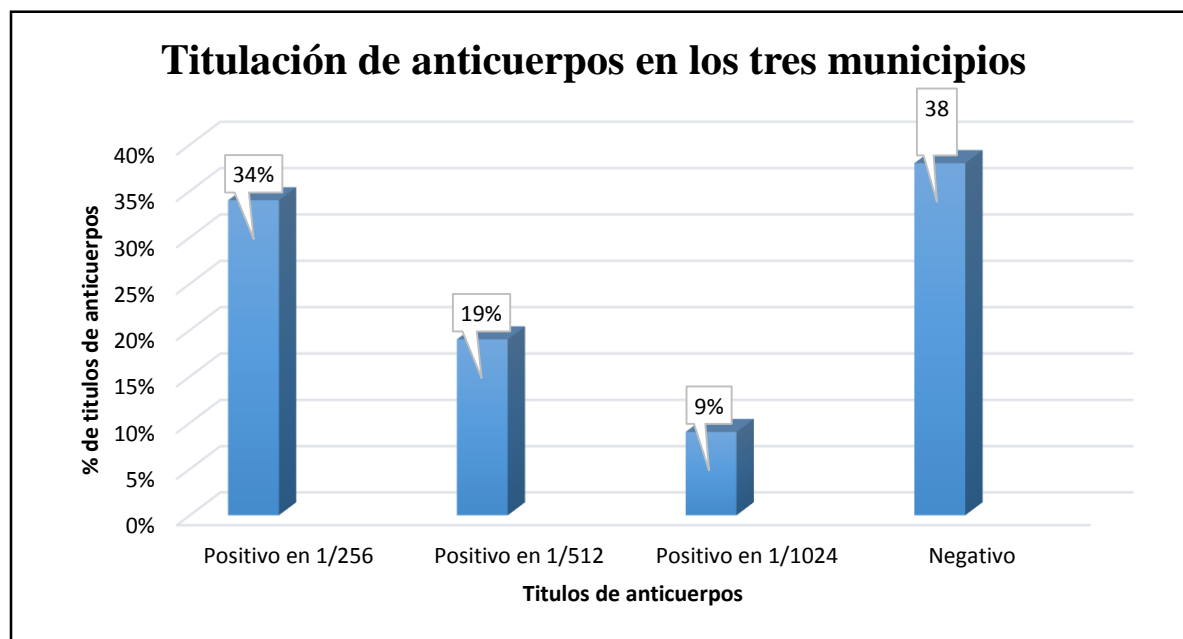


Figura 41: Resultado de IFI de las diluciones realizadas



### 4.3 EL RESULTADO DE LA BUSQUEDA DE ESPIROQUETAS EN LOS FSP DE LOS CANINOS

- **Resultados de extendido de sangre periférico de caninos de Honda-Tolima**

En las siguientes imágenes se observa la presencia de la espiroqueta en los extendidos de sangre periférica con la coloración de Wright de los caninos muestreados en la población de Honda-Tolima.

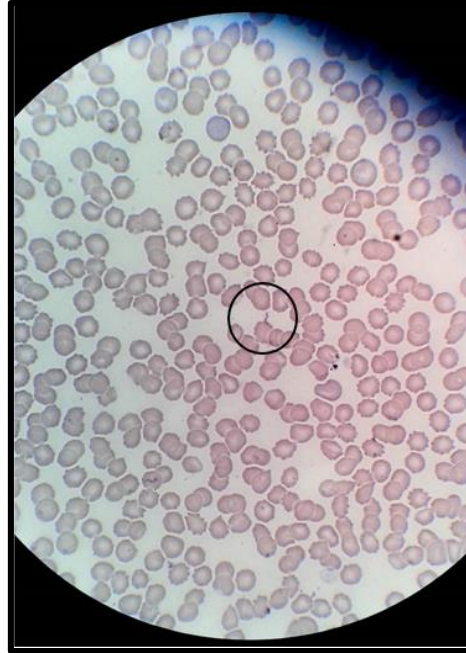


Figura 42: Espiroqueta en extendido de sangre periférico de canino muestreado en Honda-Tolima/Quijano, Ramirez



Figura 43: Recorte de Figura 42/Quijano, Ramirez

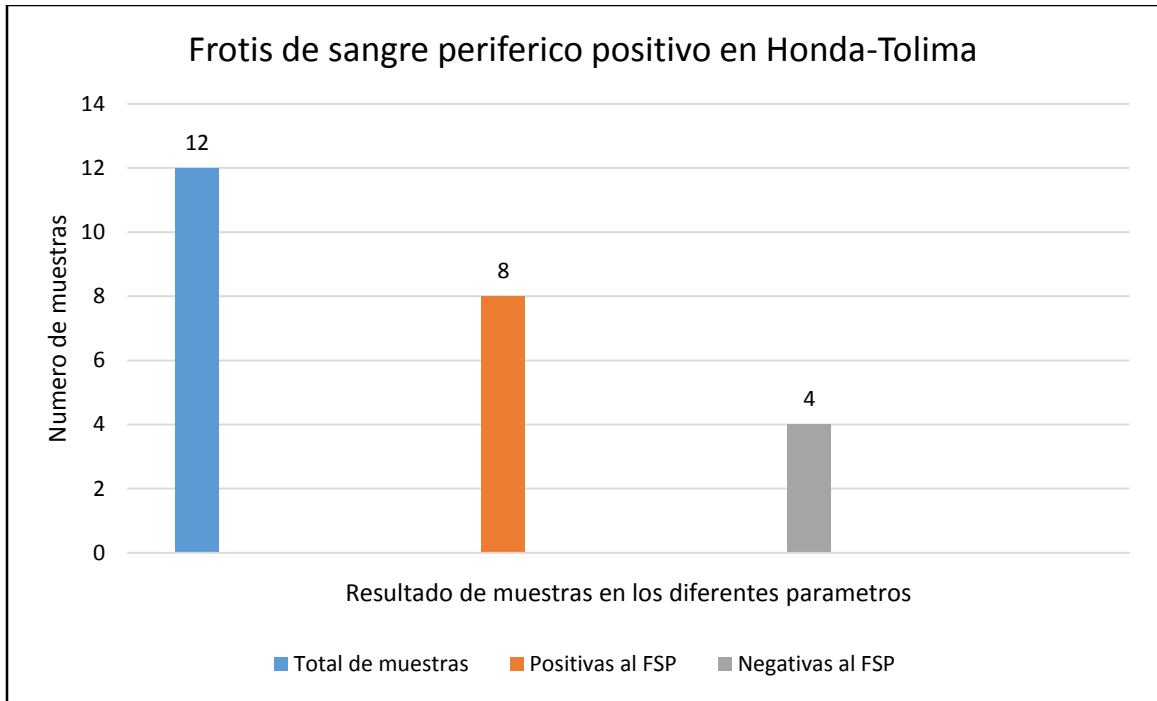


Figura 44: Resultado de FSP positivo en Honda-Tolima

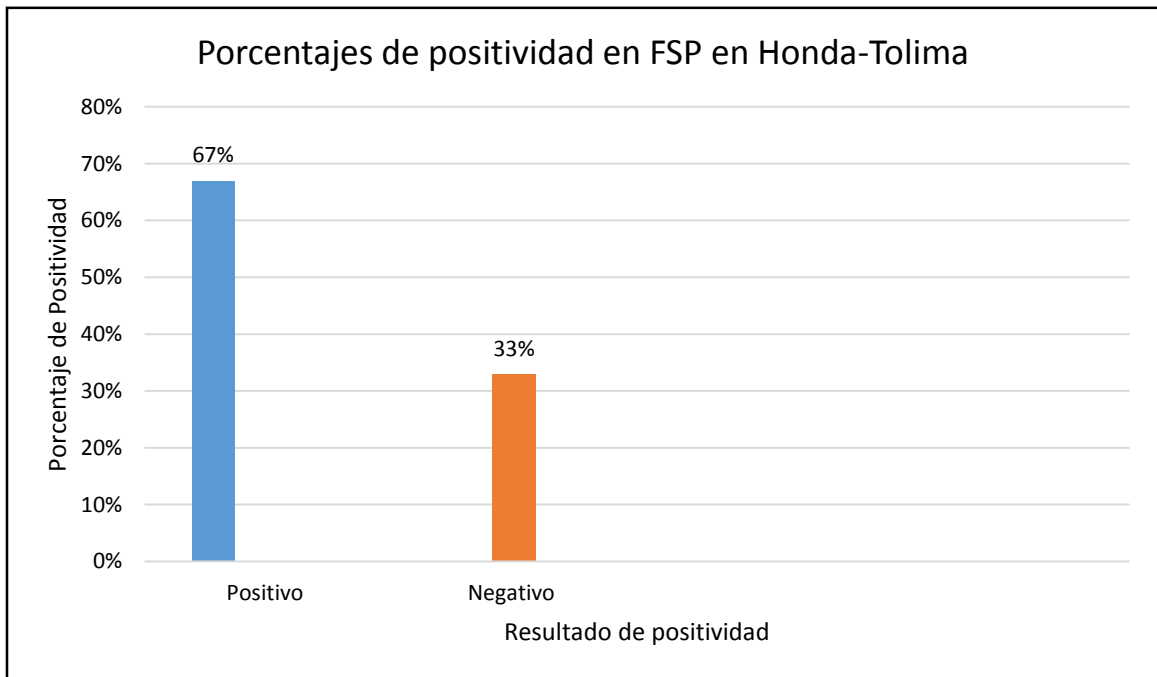


Figura 45: Porcentaje de Positividad de FSP en Honda-Tolima

- **Resultados de extendido de sangre periférico de caninos de la Mesa-Cundinamarca**

En las siguientes imágenes se observa la presencia de la espiroqueta en los extendidos de sangre periférica de los caninos muestreados con la coloración de Wright de la población de La Mesa-Cundinamarca



Figura 46: Espiroqueta en extendido de sangre periférico de canino muestreado en la Mesa- Cundinamarca/Quijano, Ramirez

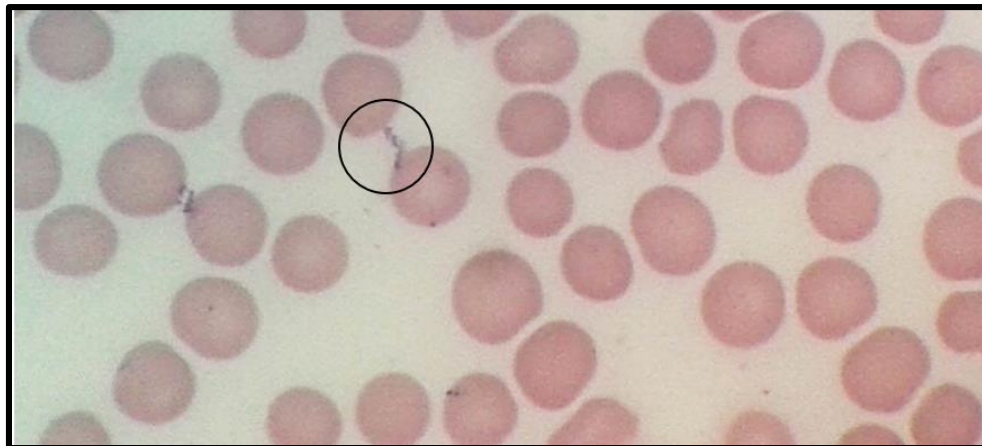


Figura 47: Recorte de Figura 46/Quijano, Ramirez

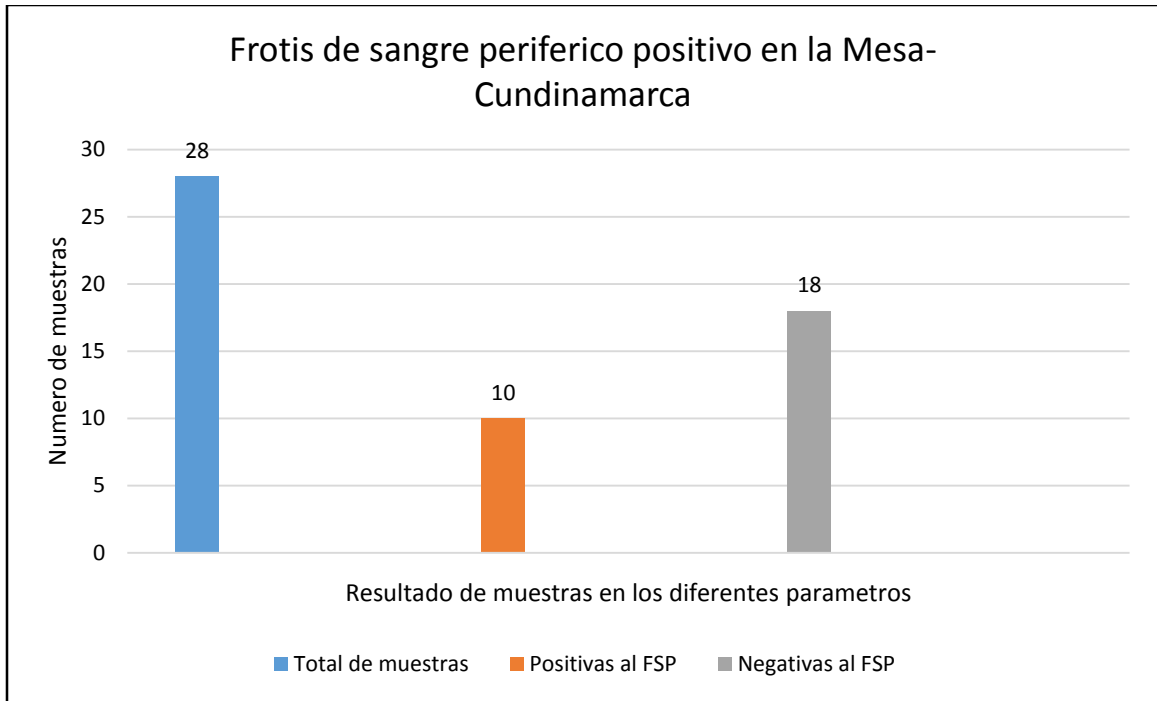


Figura 48: Resultado de FSP positivo en la Mesa-Cundinamarca

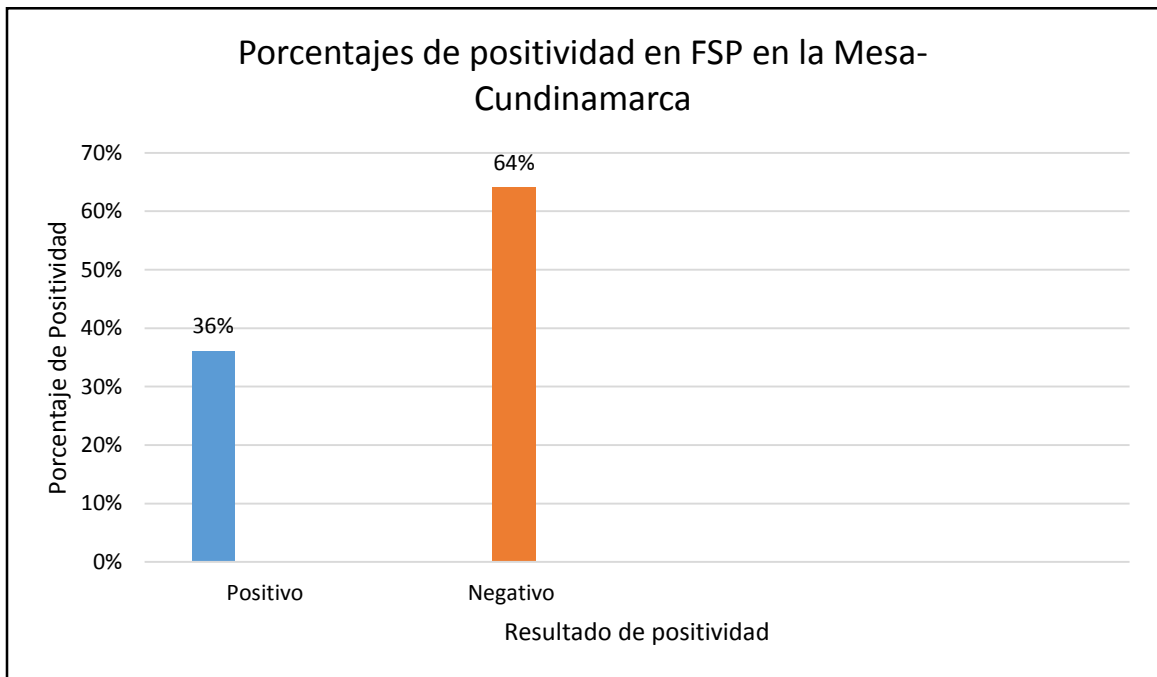


Figura 49: Porcentaje de Positividad de FSP en la Mesa Cundinamarca

- **Resultados de extendido de sangre periférico de caninos de Chía-Cundinamarca**

En la siguiente imagen se observa la presencia de la espiroqueta en los extendidos de sangre periférica de los caninos muestreados con la coloración de Wright de la población de Chía-Cundinamarca.

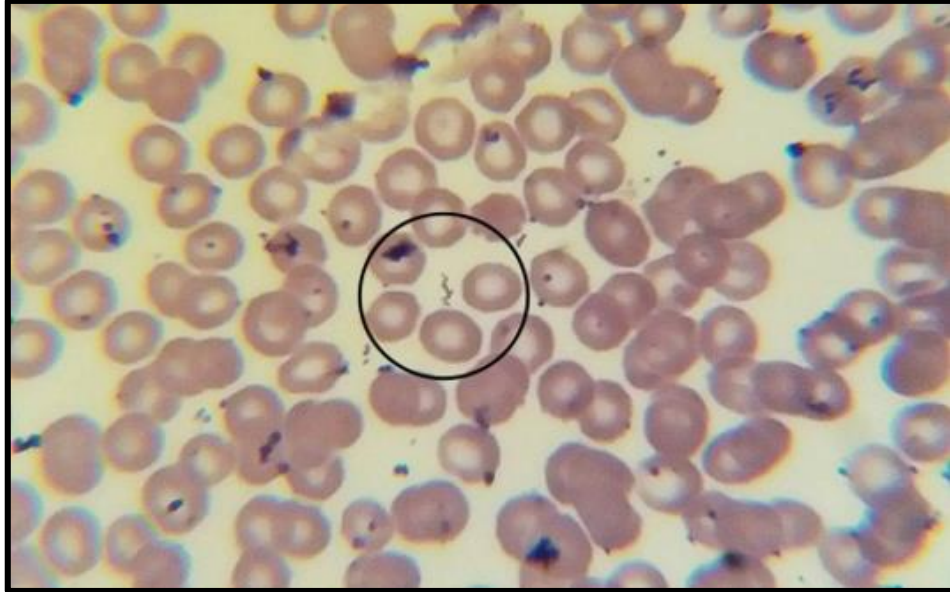


Figura 50: Espiroqueta en extendido de sangre periférico de canino muestreado en Chía-Cundinamarca/Quijano, Ramirez

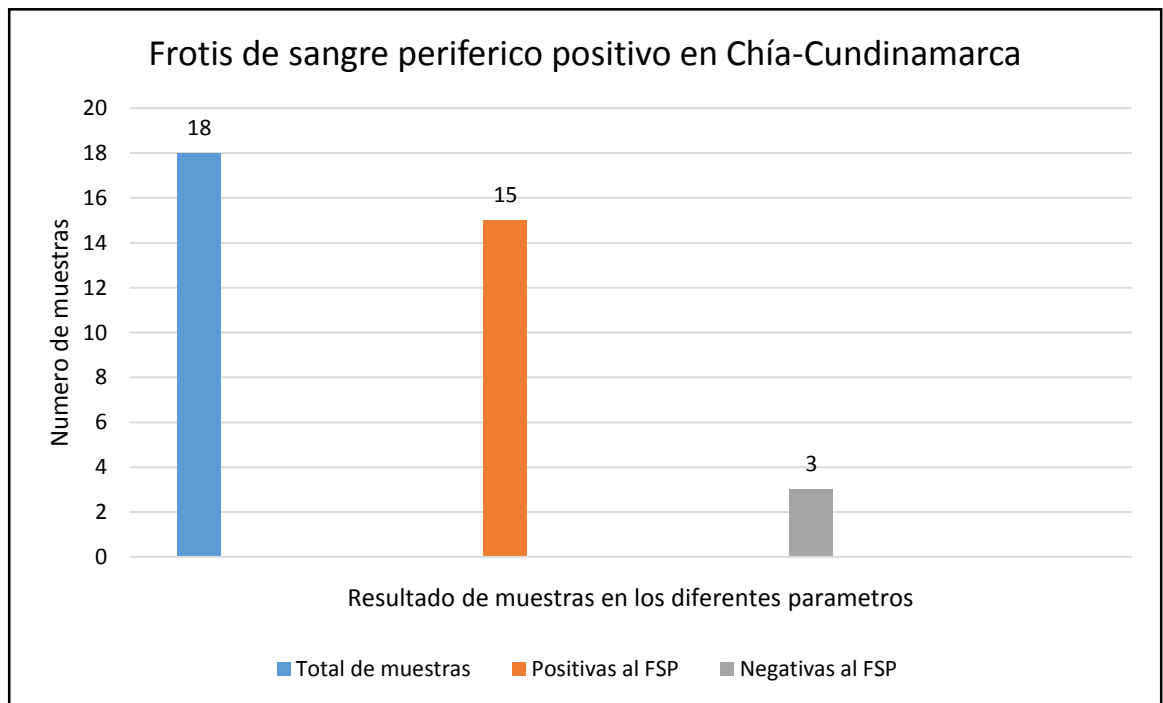


Figura 51: Resultado de FSP positivo en Chía-Cundinamarca

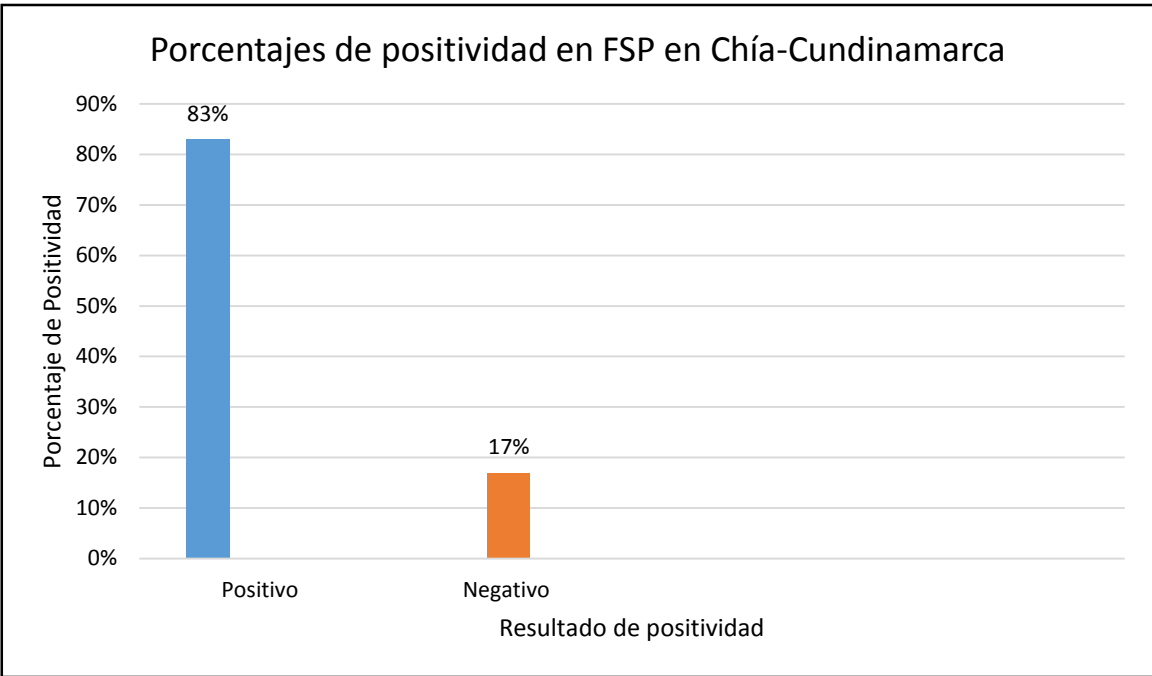


Figura 52: Porcentaje de Positividad en FSP en Chía Cundinamarca

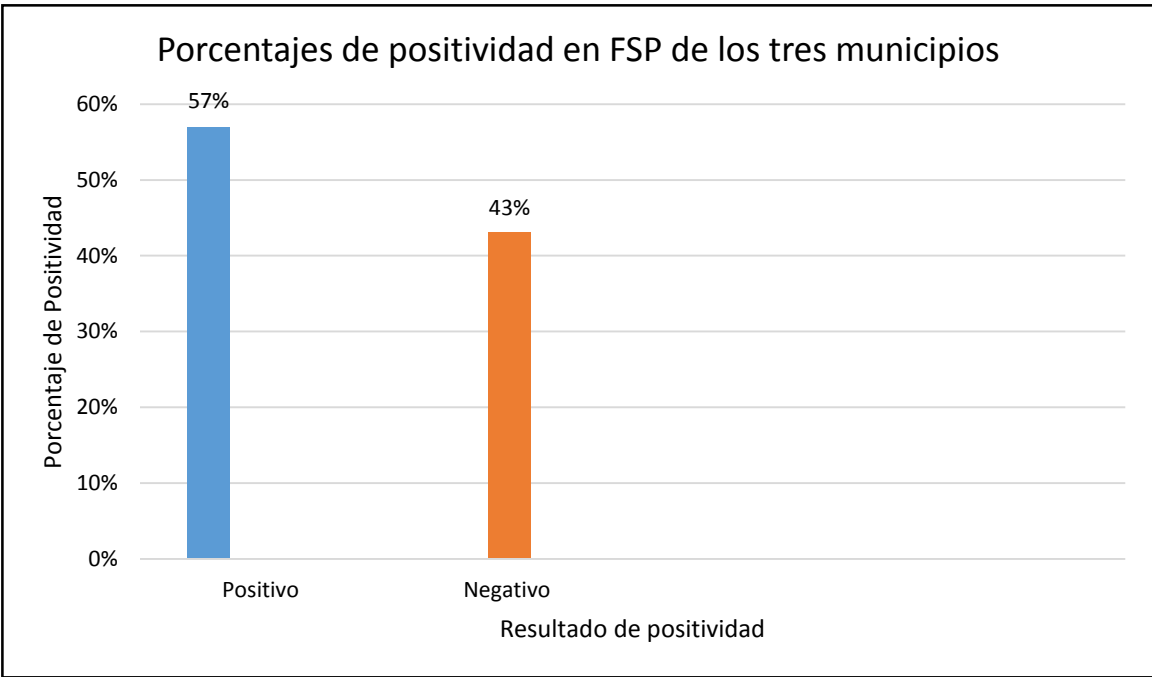
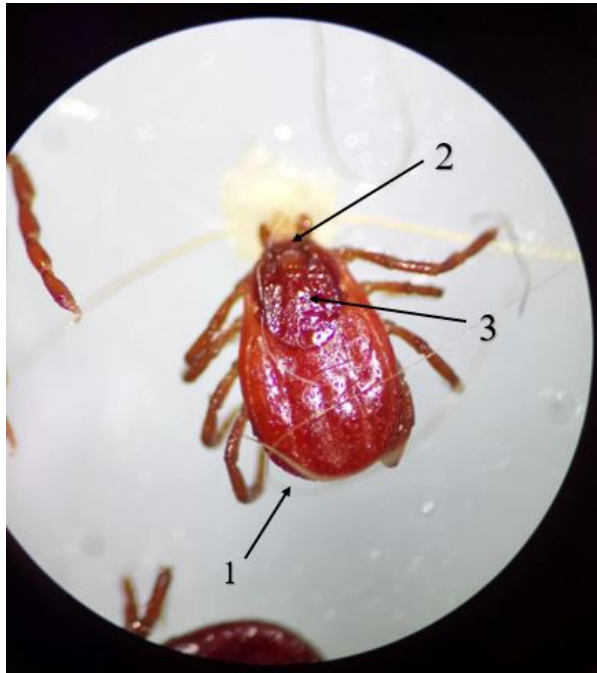


Figura 53: Porcentaje de Positividad de FSP en los tres municipios

#### 4.4 RESULTADO DE LA CLASIFICACIÓN ENTOMOLOGICA 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 siguiente:



1: Festones  
2: Capitulo hexagonal  
3: Escudo dorsal  
incompleto

Clasificación:  
*Rhipicephalus* (Hembra)

Figura 54: Garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Hembra) /Quijano, Ramirez

1: Festones  
2: Capitulo hexagonal  
3: Escudo dorsal  
incompleto

Clasificación:  
*Rhipicephalus* (Hembra)



Figura 55: Garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Hembra) /Quijano, Ramirez



Figura 56: Garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Macho) /Quijano, Ramirez

- 1: Festones
- 2: Capitulo hexagonal
- 3: Escudo dorsal completo

Clasificación: *Rhipicephalus* (Macho)





Figura 57: Grupo de Garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* (Machos) /Quijano, Ramirez

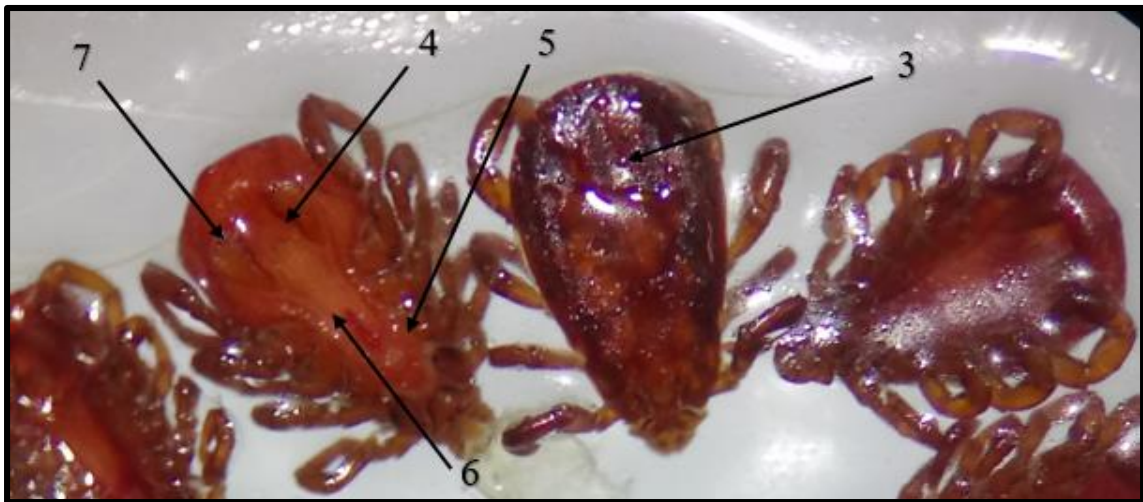


Figura 58: Grupo de Garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* (Machos) /Quijano, Ramirez

- 1: Festones
- 2: Capitulo hexagonal
- 3: Escudo dorsal completo
- 4: Ano
- 5: Orificio genital
- 6: Surco genital
- 7: Placas ventrales

Clasificación: *Rhipicephalus* (Macho)

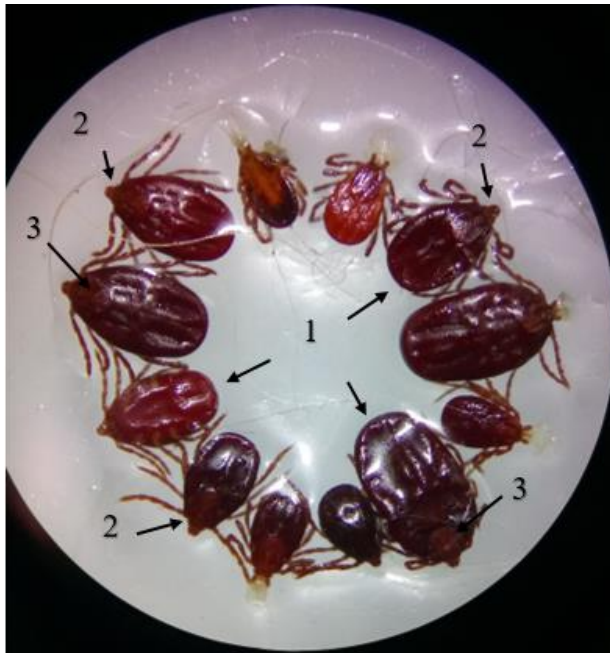


Figura 59: Grupo de Garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* (Hembras pletorizadas y no pletorizadas) /Quijano, Ramirez

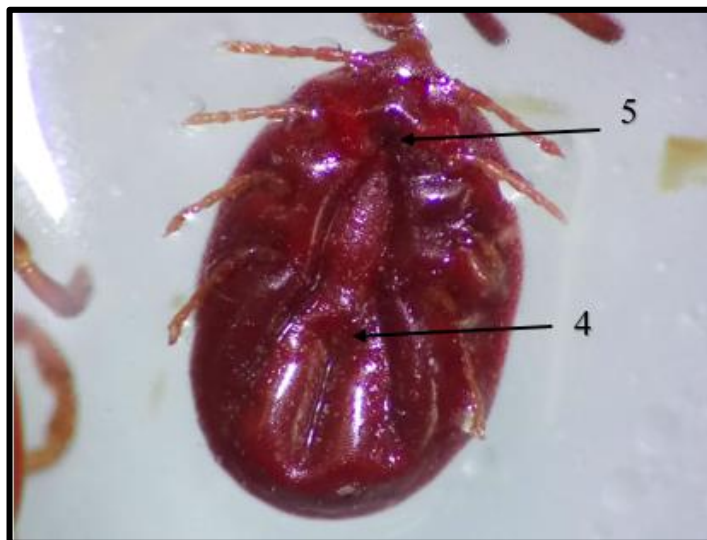


Figura 60: Garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Hembra pletorizada) /Quijano, Ramirez

- 1: Festones
- 2: Capitulo hexagonal
- 3: Escudo dorsal completo
- 4: Ano
- 5: Orificio genital

Clasificación: *Rhipicephalus* (Hembras)

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

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. El tamaño de estos organismos 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.

Tabla 12: Diferenciación sexual en el conteo de garrapatas de los tres municipios

<i>Rhipicephalus</i>	<b>HEMBRAS</b>	<b>MACHOS</b>
<b>TOTAL</b>	32	36

#### 4.4 RESULTADO DE EXTENDIDO DE HEMOLINFA DE LAS GARRAPATAS

En las siguientes imágenes se observa la presencia de la espiroqueta en los extendidos de hemolinfa periférica de las garrapatas obtenidas de los caninos muestreados se les realizo la tinción de Wright.

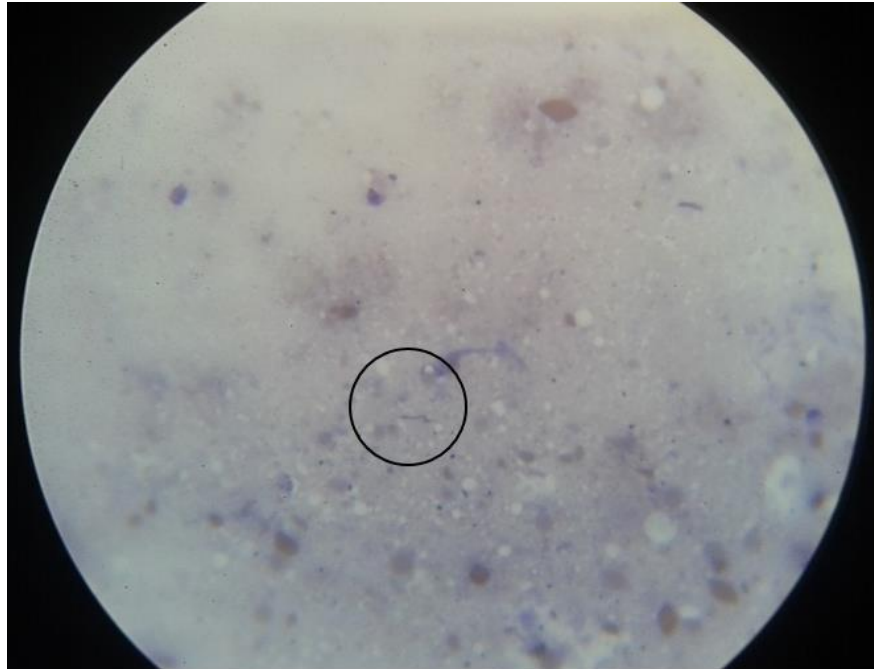


Figura 61: Espiroqueta en extendido de hemolinfa de garrapata Numero 1. /Quijano, Ramirez

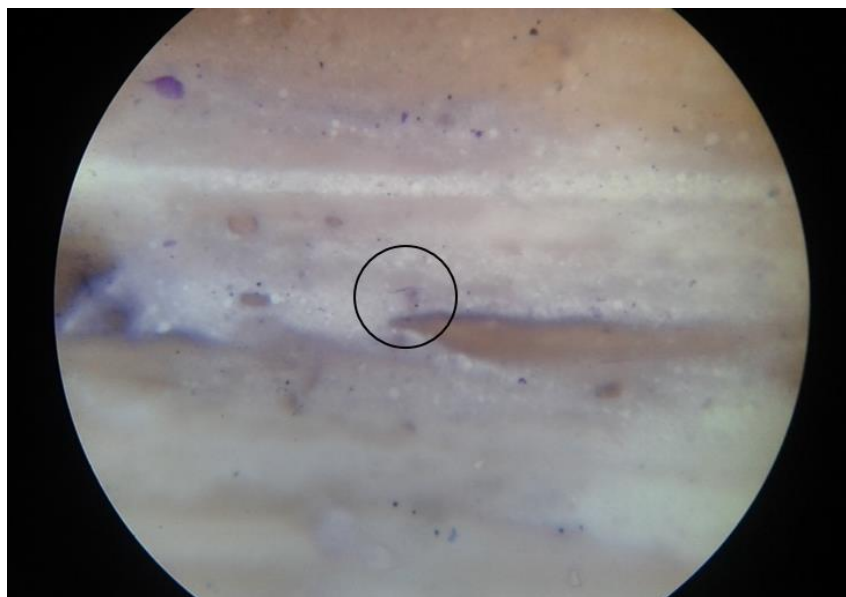


Figura 62: Espiroqueta en extendido de hemolinfa de garrapata Numero 2/ Quijano, Ramirez

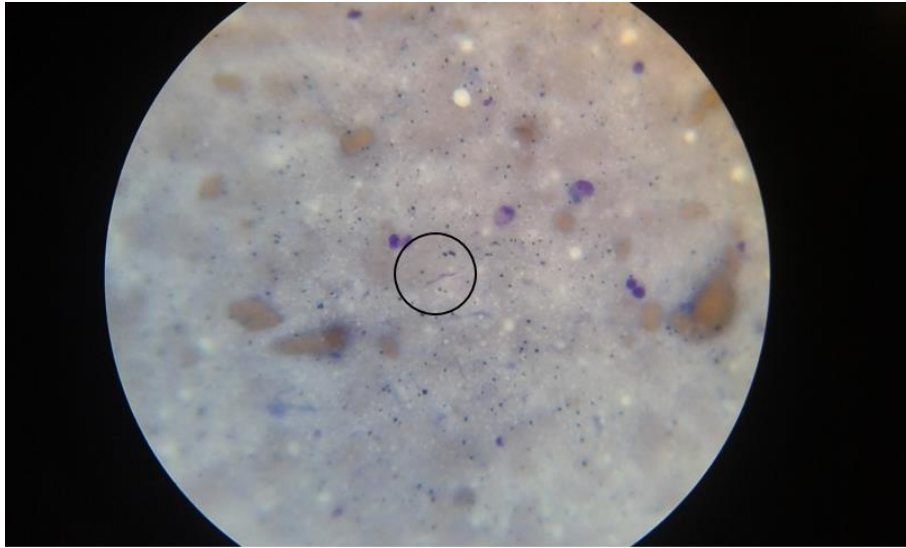


Figura 63: Espiroqueta en extendido de hemolinfa de garrapata Numero 3 /Quijano, Ramirez

## 5. Discusión

Al revisar la literatura relacionada con estudios sobre *Borrelia burgdorferi*, en población canina en nuestro país, No se encontró información existente relacionadas con la detección de este microorganismo, lo que motivó aún más al grupo de investigación a desarrollar este trabajo, ya que representaba contribuir con nuevo conocimiento al describir la presencia de esta bacteria en diferentes territorios del país

En la investigación para la detección de anticuerpos de tipo IgG contra *Borrelia burgdorferi*, se utilizó la metodología de Inmunofluorescencia Indirecta. Esta técnica se caracteriza por emplear antígenos específicos en tejidos para la detección de anticuerpos. 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 que esta bacteria tiene una diversidad antigénica en un porcentaje muy elevado, lo que contribuye a que el sistema inmunológico genere anticuerpos específicos contra ciertos epítopes.

Adicionalmente el kit que se utilizó en esta investigación (*Borrelia burgdorferi* IFA IgG antibody kit) tiene como propósito final la detección de anticuerpos de tipo IgG, estas proteínas comienzan a aumentar lentamente luego de semanas o meses de iniciada la infección, lo que limita el diagnóstico temprano en el canino.

Un punto a resaltar es que los médicos veterinarios en la exploración general del canino, tuvieron en cuenta la presencia del eritema migrans como signo clínico de una infección generada por artrópodos y si en caso de encontrarlo, se supondría que la infección está en un periodo muy temprano para realizar la prueba por inmunofluorescencia indirecta, ya que la respuesta primaria a nivel inmunológico es la segregación de anticuerpos IgM

La interpretación y la lectura de la inmunoreactividad depende de la concentración de anticuerpos que posea el canino, como dice Agüero-Rosenfeld<sup>24</sup> 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 se obtuvieron resultados positivos en la detección de anticuerpos tipo IgG en el 65% en la población total estudiada (60 canes), discriminados así: en el municipio de Honda Tolima los resultados fueron de un 66.6% de positividad, en La Mesa Cundinamarca fue de un 46.1% y en el municipio de Chía Cundinamarca fueron del 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”<sup>61</sup> pues el genoma de *Borrelia burgdorferi* es uno de los más, si no el más complejo, de cualquier bacteria 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”<sup>62</sup> . 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”<sup>63</sup> en particular, “cp26 es el único plásmido de una sola copia que se sabe 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”<sup>64</sup>, que se requiere para la “transmisión de la garrapata a los vertebrados y su infectividad”<sup>65</sup> otorgándole a este microorganismo una patogenicidad 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), “la variación genética se genera efectivamente durante la infección de los mamíferos por un sistema de recombinación intrigante en el locus vlsE”<sup>66</sup> . Este locus posee 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 “epítopes 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 empleados por *B. burgdorferi* para generar diversidad antigénica son inusuales”<sup>67</sup> . En 1997 con un estudio se hizo un aporte al conocimiento sobre *Borrelia burgdorferi* debido a que “descubrieron el sistema vls (secuencia variable similar a la proteína principal). Este sistema de variación antigénica crea epítomos muy diversos de la membrana externa de la lipoproteína VlsE durante la infección de los mamíferos.”<sup>68</sup>

Es así como en una infección persistente los organismos patógenos requieren estrategias efectivas para defenderse de la respuesta inmune del huésped. Una estrategia común empleada por muchos patógenos para escapar del reconocimiento inmune y su eliminación, es la variación continua de los epítomos 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”<sup>69</sup>. Gracias a todos estos mecanismos que posee, *Borrelia burgdorferi* 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*, mediante el uso de claves para el reconocimiento entomológico de los artrópodos, que fueron recolectados directamente de los caninos muestreados en los tres municipios de Colombia. 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 respuesta, que no es efectiva. Al respecto Norberto Sotelo Cruz y Pedro 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”<sup>70</sup>. De acuerdo con lo anteriormente expuesto se propuso realizar la búsqueda de las espiroquetas en el frotis de sangre periférica de los caninos, lamentablemente este procedimiento tuvo limitaciones ya que, al no estar permanentemente con los caninos, no se pudo tener control de las temperaturas corporales de los animales para que la realización del extendido de sangre periférica coincidiera con el pico febril, por lo cual el porcentaje de observación de las espiroquetas en las muestras fue baja.

Al realizar la lectura de las láminas de FSP (el montaje se realizó por triplicado en cada canino) se logró observar espiroquetas en algunos frotis (Figuras 26 a la 30), de lo cual surgió la pregunta ¿Las espiroquetas observadas en el frotis de sangre periférico corresponden a *Borrelia burgdorferi*? Pregunta que se respondió con el resultado de la prueba de inmunofluorescencia indirecta, de tal forma que al ser positivas indican que los caninos estaban infectados por este microorganismo, 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 vio que los caninos que poseían la espiroqueta en su sangre presentaron títulos de inmunofluorescencia en 1/256 y en 1/512. El título presentado en la medición de IgG, 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 en el canino.

*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 menos frecuente. También hay dolor generalizado muscular, articular y adinamia. Es frecuente la presentación de 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”<sup>71</sup>. 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 en el canino.



Gonzalo Osorio en el artículo “Search for the spirochete *Borrelia burgdorferi* senso lato by polymerase chain reaction in Chilean ticks”<sup>72</sup> 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. Esta afirmación generó la siguiente pregunta, ¿Si *Borrelia burgdorferi* viaja por el artrópodo hasta llegar a las glándulas salivales, la espiroqueta se podría encontrar en la hemolinfa? Para resolver el interrogante y 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 (figuras 38 a la 40) 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 científico a la comunidad colombiana a nivel de la salud pública y específicamente en 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 parasitada con garrapatas a solicitar pruebas de laboratorio cuando se encuentre la ectoparasitosis y los diversos signos específicos como el eritema migratorio. Adicional a lo anterior es posible que este microorganismo con el tiempo genere infecciones de tipo zoonótico y enzoótico que si no se toman medidas correctivas será un problema de salud pública. Esta investigación abre el 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 importante probar otras técnicas de diagnóstico de fácil acceso para los laboratorios y para los pacientes



Figura 64: Circulo confirmatorio para enfermedad de Lyme en caninos.

## 6. CONCLUSIONES

- Se detectaron anticuerpos de tipo IgG por inmunofluorescencia contra *Borrelia burgdorferi* en el 69% del total de la población canina muestreada en los tres municipios que incluyó el estudio.
- Se realizó la clasificación entomológica de los vectores recolectados por sus características morfológicas gracias a la guía ilustrada del libro “Ticks of Domestic Animals in Africa: a Guide to Identification of Species” en donde se descubrió que el vector en los tres municipios de Colombia es *Rhipicephalus sanguineus* que por primera vez en la literatura científica se demuestra este hecho de adaptación del microorganismo a los diferentes entornos climáticos y de artrópodo.
- Se realizó la identificación de la espiroqueta de *Borrelia burgdorferi* en frotis de sangre periférica de los caninos y en la hemolinfa de las garrapatas, lo cual cierra el círculo epidemiológico y permite inferir que este agente infeccioso se encuentra en Colombia afectando a la población canina y por lo tanto esta especie animal es susceptible de sufrir la enfermedad de Lyme.
- El hecho de que el vector sea *Rhipicephalus sanguineus*, una garrapata endofilica, que busca las viviendas donde se encuentran los caninos, representan también un riesgo alto de zoonosis para el humano por picadura de la garrapata, importante a considerar desde el campo de la salud pública.
- Se relacionaron los hallazgos clínicos que poseen los caninos al presentar infección por *Borrelia burgdorferi*

## 6.1 Sugerencias

- Ampliar el estudio realizado en más regiones del país para confirmar que *Borrelia burgdorferi* está infectando a la población canina
- Generar un método diagnóstico de fácil acceso para los laboratorios y pacientes contra infecciones por *Borrelia burgdorferi*
- Realizar un estudio en humanos contra infecciones por *Borrelia burgdorferi*

## 6.2 Bibliografía

- <sup>1</sup> 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>
- <sup>2</sup> 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>
- <sup>3</sup> 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)
- <sup>4</sup> Parry N. Canine borreliosis: epidemiology, pathogenesis, clinical signs, and diagnostics. Companion Animal. [Internet] 2016;21(6): [Consultado 2018 nov 18]. Disponible en: <https://www.magonlinelibrary.com/doi/abs/10.12968/coan.2016.21.6.323>
- <sup>5</sup> McCown M, Monterroso V, Cardona W. Monitoreo de Ehrlichia canis, Anaplasma phagocytophilum, Borrelia burgdorferi, y Dirofilaria immitis en perros de tres ciudades en Colombia. Rev. CES Medicina Veterinaria y Zootecnia. [Internet]. 2015; 10 (2). [Consultado 2018 nov 18]. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/cmvez/v10n2/v10n2a14.pdf>
- <sup>6</sup> Monsalve S, Mattar S, González M. Zoonosis transmitidas por animales silvestres y su impacto en las enfermedades emergentes y reemergentes. Rev.MVZ Cordoba [Internet]. 2009; 14 (2). [Consultado 2018 nov 18]. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-02682009000200014](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682009000200014)
- <sup>7</sup> Tinoco L, Quiroz H, Quintero M, Rentería T, Barreras A, Hori S, López G, Medina G, Haro P, Tamayo A, Moro M, Vinasco J. Prevalencia y factores de riesgo para *Borrelia burgdorferi* en perros atendidos en clínicas veterinarias en Mexicali, B.C., México. [Consultado 2018 nov 26]. Disponible en: [http://www.veterinariosenweb.com/campus/cdv/memorias/material/25\\_BORRELIA.pdf](http://www.veterinariosenweb.com/campus/cdv/memorias/material/25_BORRELIA.pdf)
- <sup>8</sup> Solís A, Rodríguez R, Esteve M, Villegas S. Detección de *Borrelia burgdorferi sensu lato* en perros y sus garrapatas en comunidades rurales de Yucatán, México. Rev. Biol. Trop. [Internet] 2018; 66(1): 428-437. [Consultado 2018 nov 26]. Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/27776>
- <sup>9</sup> González-Domínguez M, Villegas J, Carmona S, Castañeda H. Primer reporte de seroprevalencia de borreliosis canina en una ciudad localizada en una altitud media en la región tropical (Medellín, Colombia). Rev. CES Medicina Veterinaria y Zootecnia. [Internet].

2014; 9 (2). [Consultado 2018 nov 26]. Disponible en:  
<http://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/3184>

- <sup>10</sup>Galaviz L, Pérez K, Treviño Z, Molina Z. Distribution of ixodid ticks on dogs in Nuevo León, Mexico, and their association with *Borrelia burgdorferi* sensu lato Experimental and Applied Acarology, Exp Appl Acarol. [Internet]. 2013; 61: 491-501. [Consultado 2018 nov 26]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10493-013-9707-5>
- <sup>11</sup>Rubio A, Salas E, Gómez G. Presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* y *Anaplasma* sp en canes de la ciudad de Lima Rev. Investig. Vet. Peru. [Internet]. 2011; 22 (3). [Consultado 2018 nov 26]. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S160991172011000300008&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S160991172011000300008&script=sci_arttext)
- <sup>12</sup>García L, Romero H, Quintero M, Renteria M, Serrano A, Valencia G, et al. Seroprevalence of *borrelia burgdorferi* in dogs from a Mexico U.S. border desert region: pilot study. J. anim. vet. adv. [Internet] 2007; 6: 787-789.[Consultado 2018 nov 26] Disponible en:  
<http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javaa/2007/787-789.pdf>
- <sup>13</sup>O'Dwyer L, Soares C, Massard C, Pereira J, Flausino W, Fonseca A. Soroprevalência de *Borrelia burgdorferi* latu sensu associada à presença de carrapatos em cães de áreas rurais do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Ciênc.rural. [Internet]. 2004; 4 (1): 201-205. [Consultado nov 26]. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v34n1/a31v34n1.pdf>
- <sup>14</sup>Duncan A, Correa M, Levine J, Breitschwerdt E. The Dog as a Sentinel for Human Infection: Prevalence of *Borrelia burgdorferi* C6 Antibodies in Dogs from Southeastern and Mid-Atlantic States. AIDS patient care. [Internet]. 2004; 4 (3). [Consultado nov 26]. Disponible en: <http://online.liebertpub.com/doi/pdf/10.1089/vbz.2004.4.221>
- <sup>15</sup>Buitrago F, Toloza R, Mestra A, Jaramillo P. Determinación de anticuerpos para *Borrelia burgdorferi* en perros mediante técnica de Elisa en el área rural del municipio de montería – córdoba. Rev. MVZ Córdoba. [Internet].2003; 8 (1). [Consultado 2018 nov 26]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69380113>
- <sup>16</sup>Salinas J, Ávalos R, Riojas V, Martínez A. Serological Survey of Canine Borreliosis. Rev.latinoam. microbiol. [Internet]. 1999; 41: 1-3. [Consultado 2018 nov 26]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-1999/mi991a.pdf>
- <sup>17</sup>Vázquez J. Seroprevalencia de la infección por *borrelia burgdorferi* y *rickettsia conorii* en población humana y canina de la zona básica de salud de San Andrés del Rabanedo (León, España). Rev. esp. salud pública. [Internet] 1997; 71: 173-180. [Consultado 2018 nov 26]. Disponible en:  
[http://www.msssi.gob.es/biblioPublic/publicaciones/recursos\\_propios/resp/revista\\_cdrom/VOL71/71\\_2\\_173.pdf](http://www.msssi.gob.es/biblioPublic/publicaciones/recursos_propios/resp/revista_cdrom/VOL71/71_2_173.pdf)
- <sup>18</sup>Delgado S, Cármenes P. Seroepidemiological survey for *Borrelia burgdorferi* (Lyme disease) in dogs from northwestern of Spain. Eur. j. epidemiol. [Internet]. 1995; 11: 321-

324. [Consultado 2018 nov 26]. Disponible en:  
<https://link.springer.com/article/10.1007%2F978-94-007-1194-3?LI=true>
- <sup>19</sup> Tinoco L, Quiroz H, Quintero M, Rentería T, Barreras A, Hori S, López G, Medina G, Haro P, Tamayo A, Moro M, Vinasco J. Prevalencia y factores de riesgo para *Borrelia burgdorferi* en perros atendidos en clínicas veterinarias en Mexicali, B.C., México. [Consultado 2019 ene 20]. Disponible en:  
[http://www.veterinariosenweb.com/campus/cdvl/memorias/material/25\\_BORRELIA.pdf](http://www.veterinariosenweb.com/campus/cdvl/memorias/material/25_BORRELIA.pdf)
- <sup>20</sup> 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](https://www.anmm.org.mx/GMM/2014/n1/GMM_150_2014_1_084-095.pdf)
- <sup>21</sup> Corrales L, Ávila S, Estupiñan S. Bacteriología Teoría y Práctica. Bogotá, D.C. EDITORIAL UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA;2013.
- <sup>22</sup> Escudero R, Guerrero A. Enfermedades producidas por *Borrelia*. Enferm.infecc. microbiol. Clin. (Ed.impr.). [Internet] 2005; 23(4):232-240 [Consultado 2019 ene 20]. Disponible en:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X05749478?via%3Dihub>
- <sup>23</sup> Krupta M, Raska M, Belakova J, Horynova M, Novotny R, Weigl E: BIOLOGICAL ASPECTS OF LYME DISEASE SPIROCHETES: UNIQUE BACTERIA OF THE *BORRELIA BURGDORFERI* SPECIES GROUP. Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub [Internet] 2007;151(2):175-86. [Consultado 2019 ene 20]. Disponible en: <http://mefanet.upol.cz/BP/2007/2/175.pdf>
- <sup>24</sup> Agüero-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>
- <sup>25</sup> 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>
- <sup>26</sup> Caride Villaamil 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.
- <sup>27</sup> 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>
- <sup>28</sup> 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>

- <sup>29</sup> Eugene D. Borrelia burgdorferi (Lyme Disease). *Pediatr.rev.* [Internet] 2014; 35 (12): 500-509 [Consultado 2019 ene 22] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5029759/>
- <sup>30</sup> Gern L. TIQUES ET BORRELIOSE DE LYME EN SUISSE OCCIDENTALE. *Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles* [Internet] 2004;127: 5-21 [Consultado 2019 ene 22] Disponible en: [http://doc.rero.ch/record/278783/files/Gern\\_L.-Tiques\\_et\\_borreliose\\_20170214113037-PZ.pdf](http://doc.rero.ch/record/278783/files/Gern_L.-Tiques_et_borreliose_20170214113037-PZ.pdf)
- <sup>31</sup> Tinoco L, Quiroz H, Quintero M, Renteria 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>
- <sup>32</sup> Littman M, Bernhard G, Goldstein R, Labato M, Lappin M, Moore G. ACVIM consensus update on Lyme borreliosis in dogs and cats. *J. anim. vet. adv.* [Internet] 2018; 32: 887-903 [Consultado 2019 ene 22] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5980284/>
- <sup>33</sup> Rojas W, Anaya J, Aristizabal B, Cano Luz, Gomez L, Lopera D. *Inmunología de Rojas*. 16.ed. Medellín-Colombia: Corporación para investigaciones Biológicas- CIB;2012.
- <sup>34</sup> Tizard I. *Inmunología veterinaria*. 10<sup>a</sup> ed. Barcelona-España: Saunders Elsevier. 2019.
- <sup>35</sup> 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>
- <sup>36</sup> 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>
- <sup>37</sup> 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>
- <sup>38</sup> Collado V, Porrás 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>
- <sup>39</sup> Vandeputte J. Introducción a la inmunología y vacunología. [Internet]. [Consultado 2018 feb 10]. Disponible en: <http://www.webveterinaria.com/merial/inmunologia.pdf>



- <sup>40</sup> Castellanos R, Guevara M, Rodríguez R, Vásquez L. Respuestas inmunes innata y adaptativa. *Medisan* [Internet] 2000;4(2):64-74 [Consultado 2018 feb 10]. Disponible en: [http://www.bvs.sld.cu/revistas/san/vol4\\_2\\_00/san10200.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/san/vol4_2_00/san10200.htm)
- <sup>41</sup> Fearon DT, Lockley RM. The instinctive role of innate immunity in the acquired immune response. *Science* [Internet] 1996; 272:50-53 [Consultado 2018 feb 10] Disponible en: <http://science.sciencemag.org/content/272/5258/50.long>
- <sup>42</sup> 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>
- <sup>43</sup> Moroto M, Gutiérrez J. Diagnóstico de laboratorio de la infección por *Borrelia burgdorferi* [Internet]. [Consultado 2019 feb 12]. Disponible en: <http://www.aefa.es/wp-content/uploads/2014/04/Diagnostico-de-laboratorio-de-infeccion-por-borrelia.pdf>
- <sup>44</sup> Smith M, Gettinby G, Granström M, Gray JS, Guy EC, Revie C, et al. The European Union Concerted Action World Wide Web site for Lyme borreliosis. *Zentralblatt bakteriol. mikrobiol. hyg.; 1. Abt. Orig. B; hyg. umwelthyng. krankenh. arbeitshygiene. prev. med.* [Internet] 1998; 287 (3): 266-270 [Consultado 2019 feb 12]. Disponible en: [https://pure.strath.ac.uk/portal/en/publications/the-european-union-concerted-action-world-wide-web-site-for-lyme-borreliosis\(fcd3b0c5-5b63-4ab3-968a-0a012e6a107e\).html](https://pure.strath.ac.uk/portal/en/publications/the-european-union-concerted-action-world-wide-web-site-for-lyme-borreliosis(fcd3b0c5-5b63-4ab3-968a-0a012e6a107e).html)
- <sup>45</sup> Patricia A, Schwan R, Schwan T. A Specific and Sensitive Assay for the Lyme Disease Spirochete *Borrelia burgdorferi* Using the Polymerase Chain Reaction. *Int. j. infect. dis.* [Internet] 1989; 160 (6): 1018-1029 [Consultado 2019 feb 12] Disponible en: <https://www.jstor.org/stable/30126042>
- <sup>46</sup> Lebech A, Clemmensen O, Hansen K. Comparison of In Vitro Culture, Immunohistochemical Staining, and PCR for Detection of *Borrelia burgdorferi* in Tissue from Experimentally Infected Animals. *J. clin. microbiol.* [Internet] 1995; 33 (9): 2328-2333 [Consultado 2019 feb 12] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC228404/>
- <sup>47</sup> Exner M, Lewinski M. Isolation and detection of *Borrelia burgdorferi* DNA from cerebral spinal fluid, synovial fluid, blood, urine, and ticks using the Roche MagNA Pure system and real-time PCR. *Diagn. Microbiol. Infect. dis.* [Internet] 2003; 46: 235-240 [Consultado 2019 feb 12] Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0732889303000804>
- <sup>48</sup> Rosenfeld M, Wang G, Schwartz I, Wormser G. Diagnosis of Lyme Borreliosis. *Clin. microbiol. rev.* [Internet] 2005;18 (3): 484-509 [Consultado 2019 feb 12] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1195970/>

- <sup>49</sup> Craft J, Shimamoto G, Streere A. Antigens of *Borrelia burgdorferi* recognized during Lyme disease. Appearance of a new immunoglobulin M response and expansion of the immunoglobulin G response late in the illness. *J. clin. Invest.* [Internet] 1989; 78 (4): 934-939 [Consultado 2019 feb 12] Disponible en: <https://www.jci.org/articles/view/112683/pdf>
- <sup>50</sup> Escudero R. Diagnóstico de laboratorio de la infección por *Borrelia burgdorferi*. [Doctor en Ciencias Biológicas]. Madrid. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de C.C Biológicas. Departamento de Microbiología; 1993.
- <sup>51</sup> Magnarelli L, Meegan J, Anderson J, Chappell W. Comparison of an Indirect Fluorescent Antibody Test with an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Serological Studies of Lyme Disease. *J. clin. microbiol.* [Internet] 1984;20 (2): 181-184 [Consultado 2019 feb 12] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC271281/>
- <sup>52</sup> Brown S, Hansen S, Langone J. Role of Serology in the Diagnosis of Lyme Disease. *JAMA.* [Internet] 1999; 281 (1): 62-66 [Consultado 2019 feb 12] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10404913>
- <sup>53</sup> Jansson C, Carlsson S, Granlund H, Wahlberg P, Nyman D. Analysis of *Borrelia burgdorferi* IgG antibodies with a combination of IgG ELISA and VlsE C6 peptide ELISA. *Clin. microbiol. infect.* [Internet] 2005; 11 (2) [Consultado 2019 feb 12] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15679490>
- <sup>54</sup> Skinner C, Flores M, Colunga I, Salinas C, Garza M. Enfermedad de Lyme. *Med Univer* [Internet] 2007;9 (34): 24-32 [Consultado 2019 feb 14] Disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/contenido.cgi?IDPUBLICACION=1891>
- <sup>55</sup> González M, Villegas J, Carmona S, Castañeda H. Primer reporte de seroprevalencia de borreliosis canina en una ciudad localizada en una altitud media en la región tropical (Medellín, Colombia). *Ces med. vet. zotec.* [Internet]. 2014; 9 (2). [Consultado 2019 feb 14]. Disponible en: <http://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/3184>
- <sup>56</sup> Tolima Honda SA. [Internet]. Honda: Blogger; c2013. [Consultado 2019 feb 19]. Disponible en: <http://tolimahondasa.blogspot.com/>
- <sup>57</sup> MAPNALL. [Internet]. La mesa: World Vision; c2008. [Consultado 2019 feb 19]. Disponible en: [http://www.mapnall.com/es/Mapa-La-Mesa\\_1115425.html](http://www.mapnall.com/es/Mapa-La-Mesa_1115425.html)
- <sup>58</sup> Chía Cundinamarca. [Internet] Chía: Blogger; c 2010. [Consultado 2019 mar 6]. Disponible en: <https://www.chia-cundinamarca.gov.co/index.php/emisoral4>
- <sup>59</sup> Campuzano G. ¿Cómo obtener un extendido de sangre periférica de óptima calidad? *Medicina & laboratorio* [Internet] 2008; 14 (3): 125-152. [Consultado 2019 mar 7]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2008/myl083-4c.pdf>

- <sup>60</sup> Walker, A. R, Bouattour A, Camicas j, Estrada A, Horak I, Latif A, et al. *Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species*. Atalanta, Houten, The Netherlands. Edinburgh: Bioscience Reports; 2014.
- <sup>61</sup> 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>
- <sup>62</sup> 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>
- <sup>63</sup> 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/>
- <sup>64</sup> 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/>
- <sup>65</sup> 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\\_p ub%3Dpubmed&url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&journalCode=micro](https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.micro.112408.134037?rfr_dat=cr_p ub%3Dpubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&journalCode=micro)
- <sup>66</sup> 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>
- <sup>67</sup> 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>
- <sup>68</sup> 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>

- <sup>69</sup> 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/>
- <sup>70</sup> 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](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462012000200008)
- <sup>71</sup> 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 RIO”. [Tesis de grado para obtención de título de Médico Veterinario Zootecnista] Veracruz: Universidad Veracruzana. Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia; 2012.
- <sup>72</sup> 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](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872001000300006)

## 7. ANEXOS

### 1. FORMATO DE RECOLECCION DE MUESTRA

Numero	Fecha de recolección	Lugar	Nombre de la mascota	Sexo	Raza	Edad	Antecedentes

## CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, \_\_\_\_\_ identificado con número de cedula \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ autorizo a la toma de muestra de sangre de \_\_\_\_\_.

POCEDIMIENTO: Toma de muestra sanguínea

MOTIVO: Investigación para tesis de grado "DETECCION DE ANTICUERPOS TIPO IgG contra *Borrelia burgdorferi*, EN POBLACION CANINA, DE LOS MUNICIPIOS DE HONDATOLIMA, LA MESA Y CHIA-CUNDINAMARCA".

Los resultados de esta prueba serán expuestos en la tesis de grado.

COMPLICACIONES DE LA TOMA DE LA MUESTRA:

- Sangrado del canino en la zona de punción
- Hematoma

DECLARACION

Me han informado y he comprendido satisfactoriamente la naturaleza y propósito de esta información. También se me han aclarado las dudas y se me han informado sobre el procedimiento, así como las posibles complicaciones para la toma de la muestra.

FIRMA \_\_\_\_\_

DOCUEMNTO DE IDENTIDAD \_\_\_\_\_

DECLARACIONES Y FIRMAS

RESPONSABLE \_\_\_\_\_

He informado y asesorado a la paciente sobre el procedimiento.

FIRMA DEL PROFESIONAL RESPONSABLE \_\_\_\_\_

En la fecha \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del año 20\_\_\_\_

Lugar \_\_\_\_\_

## **PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN DE UN FROTIS DE SANGRE PERIFERICO CON TINCION DE WRIGHT**

1. Marcar el portaobjetos con un lápiz apropiado. La identificación debe ser en el extremo grueso (o el esmerilado) del portaobjetos.
2. Colocar el portaobjeto en donde se planea hacer el extendido sobre una superficie plana, si la persona que va a hacer el procedimiento es diestra, con la gota de sangre al lado derecho y si es zurda, con la gota de sangre al lado izquierdo.
3. Colocar una gota de sangre del tubo con anticoagulante EDTA (lila)
4. Con el pulgar y el índice de la mano derecha sujetar el segundo portaobjetos, también conocido como portaobjetos extensor, contra la superficie del primer portaobjeto con un ángulo de 30° a 45°
5. Deslizar el portaobjetos de empuje hacia atrás, hacia la gota de sangre. Permitir que la gota se extienda hasta tres cuartas partes del bisel del portaobjetos de empuje. Procurar que la sangre se extienda hasta los bordes del portaobjetos extensor
6. Empujar rápidamente el portaobjetos extensor hacia delante (lejos de la gota), Este movimiento debe ser suave y continuo hasta el extremo del portaobjetos. El portaobjetos extensor deberá estar limpio y seco, e idealmente deberá ser menos ancho que el primer portaobjetos
7. Permitir que el extendido se seque al aire antes de colorearlo. Se puede abanicar en el aire para que se seque en menos tiempo.

Después de realizar el frotis de sangre periférica se realiza la tinción de Wright. donde a continuación se hace la descripción paso a paso:

8. Colocar el portaobjetos con el extendido de sangre periférica hacia arriba en los soportes de coloración
9. Cubrir el extendido de sangre periférica con colorante de Wright y dejar en reposo por tres minutos
10. Inundar el portaobjetos o la laminilla con solución tampón (Buffer de Giordano) sin dejar derramar el líquido por los bordes de la preparación. Dejar en reposo por cinco (5) minutos.
11. Lavar los portaobjetos con agua corriente por 10 segundos. Con una gasa impregnada con un poco de alcohol se retira el exceso de colorante del revés y los bordes del portaobjetos.

## **PARTICIPACIÓN EN EVETOS**

- En el desarrollo de esta investigación se realizó la participación en dos eventos. Dentro de los cuales se participó en “XVI Encuentro Regional de Semilleros de Investigación (Redcolsi)” que se desarrolló en la Universidad Jorge Tadeo Lozano el 10 y 11 de mayo del 2018.
- También se realizó la participación en “XXI Encuentro Nacional y XV Internacional de Semilleros de Investigación (Redcolsi)” que se desarrolló en la Universidad Cooperativa de Colombia de la ciudad de Pasto- Nariño del 11 al 14 de octubre del 2018