



*Detección de anticuerpo tipo IgG contra Borrelia burgdorferi en bovinos del municipio de Silvania Cundinamarca y los municipios de Guavatá y San Vicente de Chucurí Santander.*

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS SE LA SALUD**  
**PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO**  
**TRABAJO DE GRADO**  
**BOGOTÁ D.C 2018**



*Detección de anticuerpo tipo IgG contra Borrelia burgdorferi en bovinos del municipio de Sylvania Cundinamarca y los municipios de Guavatá y San Vicente de Chucurí Santander.*

**DENISSE DANIELA RÍOS SUAREZ**

**BLANYFER JHOLANY RODRÍGUEZ PEÑA**

**ASESORA**

**LUCÍA CONSTANZA CORRALES. MSc.**

**DOCENTE FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO**

**TRABAJO DE GRADO**

**BOGOTÁ D.C 2018**

## **DEDICATORIA**

*Gracias Dios por permitirme cada día luchar por mis sueños y acompañarme en cada paso de mi vida.*

*A mis padres, Ferney y Blanca Lilia, que con amor, esfuerzo, apoyo y dedicación me han ayudado a llegar a donde estoy, todo lo que soy es gracias a ellos.*

*A mi hermano Stanly Rodríguez siempre presentes, mi apoyo constante, mi ejemplo a seguir.*

*A mis padrinos y primos Susana, Saúl, Andrea y Steven, por ser mi segunda familia y acompañarme en el día a día de mi carrera, siempre con cariño y una voz de aliento para continuar.*

*A mis abuelos, tíos y demás familiares*

*A mis amigos Lina, Evelyn, Stiven y Daniela que hicieron que cada día en la universidad fuera más agradable con nuestras ocurrencias*

*A mis dos fieles amigas Sombra y Hada*

*Gracias por todo*

***Blanyfer Jholany Rodríguez Peña***

## **DEDICATORIA**

*A Dios primeramente por estar siempre presente con nosotros y que gracias a él puede culminar  
mi carrera.*

*A mis amados padres Nelson y Claudia que me apoyaron en todo este arduo proceso, por su  
apoyo incondicional, su amor, su paciencia y por sus enseñanzas que tienen como propósito  
hacer de mí una mejor persona.*

*A mis queridos hermanos por sus palabras de aliento, quienes de una u otra manera me  
ayudaron en todo lo requerido para culminación de este trabajo.*

*Y a todos mis amigos y compañeros de carrea con los que compartí estos últimos 5 años de mi  
vida, gracias por el apoyo.*

***Denisse Daniela Ríos Suarez***

## **AGRADECIMIENTOS**

- A la MSc. Lucía Constanza Corrales Ramírez, por abrirnos las puertas y brindarnos la posibilidad de realizar este trabajo, tenernos paciencia y guiarnos de la mejor manera sin ella la realización de este proyecto no hubiera sido posible.
- Al profesor William Méndez, por su apoyo, incondicionalidad sin duda alguna el proceso fue más fácil gracias a su ayuda.
- A los propietarios de las fincas por su disposición y colaboración.

## Contenido

Resumen.....	14
Introducción .....	15
Antecedentes.....	17
2. Objetivos.....	20
2.1 Objetivo general.....	20
2.2    Objetivos específicos .....	20
3. Marco referencial.....	21
3.1 Familia <i>Spirochaetaceae</i> .....	21
3.2 Género <i>Borrelia</i> .....	21
3.3 Especie <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> .....	22
3.3.1 Morfología .....	22
3.3.2 Microbiología.....	23
3.3.2.1 Medio de cultivo BSK II (Barbour-Stonner-Kelly) .....	23
3.3.3 Genética y factores de virulencia .....	24
3.4 Vectores .....	25
3.4.1 Ciclo de vida .....	27
3.5 Reservorios-Hospedero.....	29
3.6 Enfermedad de Lyme .....	30
3.6.1 Borreliosis de Lyme en Bovinos.....	30
3.6.2 Síntomas y estadios de la enfermedad de Lyme .....	32
3.6.4 Respuesta inmune del hospedero .....	34
3.6.5 Métodos de Diagnósticos.....	35
3.6.5.1 Técnica de ELISA.....	37
3.6.5.2 Técnica IFI inmunoensayo de fluorescencia indirecta.....	37
3.6.5.3 Técnica de Inmunoblot.....	37
3.6.6 Tratamiento .....	38
3.6.7 Prevención.....	38
3.7 Epidemiología de <i>Borrelia burgdorferi</i> .....	39
4. Metodología.....	41

4.1 Tipo de investigación.....	41
4.2 Población y muestra.....	41
4.2.1 Criterios de inclusión de la población bovina muestreada.....	42
4.2.2 Municipios seleccionados para el muestreo.....	42
4.3 Muestra.....	45
4.3.1 Toma de muestra de sangre.....	45
4.4.2 Formato de aceptación para la toma de muestra.....	45
4.3.3 Muestreo de vena coccígea.....	45
4.4. Identificación taxonómica de garrapatas mediante clave.....	47
4.5 Procesamiento de las muestras por medio de la técnica IFI.....	48
5. Resultados.....	50
5.1 Resultados serológicos procesados con la técnica de inmunofluorescencia indirecta IFI.....	50
5.2 Resultados clasificación taxonómica de los vectores recolectados.....	57
5.3 Resultado de los frotis de sangre periférica de los bovinos y extendidos de sangre de los vectores. .....	60
Discusión.....	62
Conclusiones.....	66
Sugerencias.....	67
Referencias.....	67
Anexos.....	70

## Imagen

Imagen 1. Ciclo de vida de garrapatas con diferentes hospederos. ....	28
Imagen 2. Ciclo de vida del vector encontrado <i>Rhipicephalus (boophilus) microplus</i> . Garrapata de un sólo huésped; pasa todos sus estadios de vida en un animal. ....	29
Imagen 3. Ubicación geográfica de la población muestreada. ....	46
Imagen 4. Maneo del animal. ....	46
Imagen 5. Posición vertical de la cola y palpación de la vena. ....	46
Imagen 6. Extracción de sangre. ....	47
Imagen 7. Partes del vector. ....	47
Imagen 8. Vector recolectado de los bovinos muestreados clasificado como <i>Rhipicephalus microplus</i> . ....	58
Imagen 9. Partes de la garrapata <i>Rhipicephalus microplus</i> ....	59
Imagen 10. Vectores recolectados A. Garrapatas de Guavatá, B. Garrapatas de Silvania, C. Garrapatas de San Vicente de Chucuri. ....	59

## Tabla

Tabla 1. Ubicación geográfica de la población muestreada. ....	43
Tabla 2. Datos de los bovinos muestreados en Guavatá.....	52
Tabla 3. Datos de los bovinos muestreados en Silvania. ....	52
Tabla 4. Datos de los bovinos muestreados en San Vicente de Chucurí. ....	53
Tabla 5. Porcentaje de los resultados de los sueros bovinos mediante la técnica inmunológica IFI. .....	57
Tabla 6. Observación de la espiroqueta en frotis de sangre de bovinos y extendidos de los vectores encontrados en la población bovina.....	61

## Gráfica

Gráfica 1. Esquema de la metodología utilizada en el estudio .....	44
Gráfica 2 Montaje de las muestras mediante el kit <i>Borrelia burgdorferi</i> IFA IgG antibody. ....	50
Gráfica 3. Controles positivos y muestras (1/256, 1/512, 1/1024) y control negativo de la técnica IFI.....	55
Gráfica 4. Resultados de las muestras con respecto a las diluciones.....	56
Gráfica 5. Resultados de los sueros bovinos mediante la técnica inmunológica IFI.....	56
Gráfica 6. Porcentaje de los sueros bovinos mediante la técnica inmunológica IFI.....	57

## Anexo

Anexo A .....	69
Anexo B .....	70
Anexo C .....	71

## Resumen

La Enfermedad de Lyme es una patología zoonótica multisistémica descrita en humanos, algunos animales de producción, domésticos y silvestres alrededor del mundo, causada por la bacteria *Borrelia burgdorferi*, transmitida por garrapatas de la familia *Ixodidae*, géneros *Ixodes* y *Amblyomma*.

Es una enfermedad emergente que tiene varias presentaciones clínicas, su signo característico es el eritema migratorio, las demás manifestaciones clínicas deben confirmarse con pruebas microbiológicas, inmunológicas o moleculares.

El objetivo del trabajo es, identificar la presencia de *Borrelia burgdorferi* por la técnica IFI en bovinos de tres regiones de Colombia, con temperatura promedio de 20°C, clasificar el vector y observar las espiroquetas en FSP de los bovinos y de las garrapatas.

Para el estudio se tomaron muestras sanguíneas de la vena coccígea de los 58 bovinos seleccionados, de igual forma se realizó FSP y recolección de las garrapatas. Como resultado se obtuvo una alta seropositividad de los animales estudiados, el vector por características morfométricas se clasificó en el género *Rhipicephalus microplus*, de la familia *Ixodidae*, garrapata con mayor incidencia en Colombia y mediante coloraciones especiales se evidenció la presencia de espiroquetas en las muestras de sangre de bovinos y garrapatas.

La importancia de este trabajo radica en que el país no cuenta con estudios de esta índole, lo cual es preocupante ya que se ha demostrado que esta bacteria está implicada en la producción de abortos espontáneos en los bovinos, y se puede transmitir como zoonosis por consumo de leche sin pasteurizar y por exposición a la picadura de su vector.

## Introducción

La enfermedad de Lyme o mejor conocida como borreliosis, es causada por *Borrelia burgdorferi* de la clase *spirochaetes*, es una zoonosis transmitida por garrapatas principalmente del genero *Ixodes*. En la última década la enfermedad de Lyme se ha estudiado más ampliamente, dada su implicación como enfermedad zoonotica re-emergente.

En diferentes lugares del mundo como Europa el cual presenta mayor frecuencia de casos, Países de la Antigua Unión Soviética, Asia y Norte América, se ha descrito esta enfermedad; En Estados Unidos el mayor reporte ocurren en la costa noreste y en los estados norcentrales, con reporte de cerca de 50.000 casos entre 1982 y 1992.

El vector del microorganismo se encuentra también en África y Sur América, pero en estas regiones la enfermedad de Lyme es poco reportada debido a la falta de diagnóstico oportuno y a las bajas condiciones socioeconómicas y tecnológicas para la detección de este tipo de enfermedades, a pesar de la presencia de diversos casos. Brasil, es uno de los países en donde se realizan constantes estudios epidemiológicos dadas la incidencia e implicaciones que conlleva la enfermedad tanto en humanos como en animales. Lamentablemente en Colombia son pocos los estudios que se han realizado y los que se han llevado a cabo solo han llegado a nivel investigativo específicamente en humanos y caninos pues los entes gubernamentales como el Instituto Colombiano Agropecuario y el Instituto Nacional de Salud no han realizado estudios epidemiológicos de este microorganismo, por esta razón se desconoce su importancia epidemiológica.

Esta enfermedad es la protagonista de diferentes cuadros clínicos por lo cual se le da el sobrenombre de la “gran imitadora”, en los humanos puede pasar desapercibida o presentar anormalidad con cuadros reumáticos, neurológicos y cardiacos, sin olvidar el eritema migrans como signo epidérmico más representativo. En los bovinos en su gran mayoría se presenta de manera subclínica, sin embargo, algunos estudios han confirmado la presencia de la espiroqueta en sangre, calostro, leche, líquido sinovial y tejidos fetales, aspectos que le atribuyen importancia en la producción, pues se ha demostrado que *Borrelia* está implicada en los abortos espontáneos y existe la posibilidad de contagio a los humanos por el consumo de leche sin pasteurizar.

Una de las razones que lleva a la realización de esta investigación es la de conocer la presencia del patógeno en bovinos en Colombia y de esta manera contribuir con la salud pública y el campo de la veterinaria, para lo cual se indagará sobre la presencia de este patógeno en bovinos de diferentes regiones del país, mediante la detección de anticuerpos IgG específicos, ya que este microorganismo se ha venido encontrando en varias regiones del planeta y Colombia por ser un país tropical, posee las temperaturas adecuadas para el desarrollo de los artrópodos vectores.

## Antecedentes

La borreliosis de Lyme es una zoonosis transmitida por garrapatas del género *Ixodes* está ampliamente distribuida a nivel mundial y sobre todo en el hemisferio norte especialmente en EEUU y Europa<sup>1</sup>, la primera descripción de esta enfermedad correspondió a *Buchwald* en 1883, quien reportó una lesión atrófica de la piel, a la que posteriormente en 1902, Karl Herxheimer y Kuno Hartmann la llamaran acrodermatitis crónica atrófica (ACA)<sup>2,3</sup>. A principios del siglo XX, Benjamin Lipschutz y Arvid Afzelius hicieron las primeras descripciones del eritema crónico migrans (ECM) en Europa<sup>3</sup>, Benjamin Lipschitz, dermatólogo judío en el año de 1912, trabajando en Viena observó eritema crónico migrans en una mujer de 29 años y posteriormente el 19 de noviembre del 1913 presentó este caso junto con un segundo caso, en la reunión de la Sociedad Dermatológica de Viena.

Arvid Afzelius menciona que ya en el año 1908 había visto casos similares, sin ofrecer evidencia impresa solo hasta el año 1921 donde refiere que las picaduras de garrapatas son una posible causa de la erupción conocida como "eritema migrans"<sup>4</sup>, por este motivo no se puede referir quien fue el primero en mencionar este término. En 1922 Garin y Bujadoux reportaron una paciente picada por garrapata que presentó el eritema y posteriormente desarrolló dolor radicular con parálisis de un brazo y pleocitosis del líquido cefalorraquídeo (LCR)<sup>3</sup>.

Casi 70 años después de que se hicieran las primeras descripciones del ECM, se reconoció la artritis de Lyme, cuando en 1975 se estudiaron un total de 51 pacientes con diagnóstico de artritis reumatoide juvenil residentes de tres comunidades de la ciudad de Connecticut, en EE.UU<sup>3</sup> (Old Lyme, Lyme y East Haddam)<sup>2</sup>, por esta razón se le otorgó el nombre de enfermedad de Lyme en

honor al nombre donde ocurrieron los hechos. Esta epidemia fue estudiada por el epidemiólogo Allen Steere de la Universidad de Yale, que sospechó inicialmente que se debía a una enfermedad desconocida, de origen probablemente viral y transmitida por un artrópodo no identificado, ya que uno de los pacientes, que era ecologista, aportó una garrapata del género *Ixodes dammini*, que lo había picado previamente.<sup>5</sup> Esto llevó a Steere a la descripción completa de la infección y su asociación con un vector<sup>6</sup> y así mostraron que la enfermedad tenía varias fases clínicas, una de las cuales, la dermatológica, había sido descrita a principios de este siglo por científicos europeos, ellos la habían asociado con picaduras de garrapata e inclusive habían hallado espiroquetas en las lesiones de la piel<sup>5</sup>.

En 1982 el entomólogo Willy Burgdorfer obtuvo sangre del tubo digestivo de una garrapata *Ixodes dammini* que fue recolectada de una región de Estados Unidos (Shelter Island, New York)<sup>5</sup>, y observó que se encontraba repleta de espiroquetas que sospechó podrían ser el agente causal de la enfermedad; posteriormente demostró que estas espiroquetas generaban lesiones características, observación que logró experimentando con conejos picados con garrapatas infectadas con las espiroquetas aisladas de sangre y líquido cefalorraquídeo de enfermos de Lyme<sup>5</sup>.

La espiroqueta recibió el nombre de *Borrelia burgdorferi* en honor a su descubridor<sup>2</sup>, ya que en el año de 1983, R.C. Johnson demostró que este microorganismo era una nueva especie de espiroqueta del género *Borrelia*<sup>5</sup>, basándose en las características ultraestructurales y el análisis del ADN<sup>2</sup>.

En la actualidad es una de las enfermedades infecciosas más prevalentes transmitida por artrópodos, hasta la fecha se han notificado algunos reportes de casos en países sudamericanos y centroamericanos como Perú, Brasil, Chile, Argentina, Bolivia, Venezuela y México, en Colombia, existen pocos estudios sobre esta enfermedad y de otras enfermedades transmitidas por picaduras de garrapatas y se desconoce su verdadero impacto en la salud pública<sup>1</sup>. Al buscar reportes de casos de la enfermedad de Lyme en Colombia, se encontró el reporte de un caso en el año de 1994, siendo este el primer caso de enfermedad de Lyme diagnosticado en el país, donde la paciente presentó eritema migratorio crónico y una prueba serológica específica positiva<sup>7</sup>.

Los estudios que se han realizado en Colombia han sido a poblaciones de caninos, ya que las poblaciones caninas son susceptibles a la mayor parte de los patógenos transmitidos por las garrapatas que infectan los mamíferos, incluyendo los seres humanos, por lo que los perros son grandes reservorios y centinelas adecuados para las enfermedades infecciosas y zoonóticas<sup>8</sup>; otros reservorios que se encuentran para esta bacteria son los bovinos y equinos, ya que en la literatura se encontró que se han realizado estudios en países de Sur América en estas especies, generándonos interés sobre otros tipos de reservorios que se pueden encontrar en nuestro país, específicamente en bovinos de diferentes departamentos de Colombia.

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo general

Identificar anticuerpos tipo IgG contra *Borrelia burgdorferi* en población bovina susceptible de tres regiones del país.

### 2.2 Objetivos específicos

- Determinar la población bovina susceptible de presentar infección por *Borrelia burgdorferi*.
- Determinar la presencia de anticuerpos tipo IgG contra *Borrelia burgdorferi* por medio de la técnica IFI inmunoensayo de fluorescencia indirecta.
- Identificar y clasificar el vector en la población muestreada.
- Identificar estructuras compatibles con la morfología de la espiroqueta *Borrelia burgdorferi*, en FSP de los bovinos en estudio y en extendidos de los vectores.
- Relacionar los resultados con la presencia del vector en los bovinos muestreados.

### 3. Marco referencial

#### 3.1 Familia *Spirochaetaceae*

El orden *Spirochaetales* incluye a las familias *Spirochaetaceae* y *Leptospiraceae*. La familia *Spirochaetaceae* comprende los géneros *Treponema* y *Borrelia*,<sup>9</sup> que contienen especies patógenas para el hombre<sup>9</sup>.

#### 3.2 Género *Borrelia*

Las bacterias del género *Borrelia* son parásitos obligados, ya que no se conocen formas de vida libre<sup>18</sup>. Las especies de este género son microaerófilas, móviles y se transmiten por medio de un vector artrópodo, característica fundamental que las distingue de las otras espiroquetas como *Treponema* y *Leptospira*<sup>9</sup>, existen alrededor de 37 especies pertenecientes al género *Borrelia*, que en su mayoría son parásitos sanguíneos de los animales y del hombre, en estrecha relación de simbiosis con las garrapatas. Estas bacterias son destruidas por encima de 50 °C en varios minutos, tampoco sobreviven en ambientes hipertónicos o hipotónicos, son sensibles a la desecación, los desinfectantes comunes como la lejía y los detergentes<sup>18</sup>.

Las *Borrelias* patógenas conocidas producen 5 enfermedades distintas en los animales y el hombre:

- 1) Fiebre recurrente humana, ocasionada por el grupo de bacterias pertenecientes a *Borrelia recurrentis* sensu lato.
- 2) Borreliosis aviar, causada por una única especie, *Borrelia anserina*.

- 3) Borreliosis bovina, causada por *Borrelia theileri*.
- 4) Aborto epizootico bovino, enfermedad que afecta a bovinos y cérvidos producida por *Borrelia coriaceae*.
- 5) Enfermedad de Lyme, causada por bacterias patógenas pertenecientes al complejo *Borrelia burgdorferi* sensu lato<sup>14</sup>.

### **3.3 Especie *Borrelia burgdorferi* sensu lato**

Esta especie es la causante de la enfermedad de Lyme, incluye al menos a 12 genespecies alrededor del mundo<sup>14</sup>, la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* se encuentra distribuida a nivel mundial, algunas son de vida libre, otras colonizan una gran variedad de organismos vivos, sólo algunas son patógenas y se encuentran de forma natural en el tracto gastrointestinal (rumen, ciego, colon) de animales y humanos<sup>16</sup>.

#### **3.3.1 Morfología**

Es una bacteria gramnegativa, helicoidal, microaerófila, móvil, carece de lipopolisacáridos, y posee abundantes lipoproteínas de superficie<sup>3</sup>, presentan una pared celular no rígida<sup>12</sup>; Las espiroquetas pertenecientes al complejo *B. burgdorferi* se distinguen morfológicamente de los demás géneros de esta familia por ser de mayor tamaño, poseer mayor número de flagelos periplasmáticos, de 15 a 20, estos últimos responsables de su activa movilidad de rotación en contra de las manecillas del reloj, y también por presentar menor número de espirales, están constituidas por un cilindro protoplasmático rodeado por la membrana celular, es la más larga de las borrelias, (20 a 30 micras) y la más delgada (0,2 a 0,3 micras)<sup>12,13,14</sup>, su grosor hace que sea muy difícil

visualizarla con o sin tinción mediante la microscopía convencional <sup>18</sup>.

### **3.3.2 Microbiología**

Al género *Borrelia* pertenecen microorganismos difíciles de cultivar y de aislar, que no proliferan fuera de hospedadores vertebrados e invertebrados<sup>16</sup>, la especie *B. burgdorferi* crece a una temperatura de 30-35°C en un complejo medio de cultivo líquido nombrado BSK II (Barbour-Stonner-Kelly), el cultivo de este microorganismo se realiza de modo preferente en medios líquidos complejos muy enriquecidos con aminoácidos, vitaminas, sales inorgánicas, N-acetilglucosamina, albúmina sérica y suero de conejo, ya que en medios sólidos la bacteria desarrolla colonias no superficiales, invertidas en el agar<sup>17</sup>, tiene un crecimiento lento y se divide por fisión binaria en 12 a 24 horas<sup>4</sup>, esta bacteria posee superóxido dismutasa y ausencia de peroxidasa y catalasa, utiliza la glucosa como principal fuente de energía de la cual obtiene como producto final el ácido láctico<sup>17</sup>.

#### **3.3.2.1 Medio de cultivo BSK II (Barbour-Stonner-Kelly)**

Es una modificación del medio Kelly el cual se desarrolló en primera medida para el crecimiento de espiroquetas causantes de la fiebre recurrente, Al medio modificado se le asignó el nombre de Barbour-Stonner-Kelly (BSK), para el cultivo de *B. burgdorferi* de pacientes con borreliosis de Lyme,<sup>10</sup>este medio contiene N- acetilglucosamina, extracto de levadura, aminoácidos, vitaminas, nucleótidos y albumina de suero de bovino y de conejo<sup>10</sup>, entre otros componentes, con un pH de 7.6 y difiere de su medio original (BSK ) por que no contiene glutamina<sup>15</sup>.

### 3.3.3 Genética y factores de virulencia

Esta espiroqueta posee un genoma relativamente complejo el cual pudo ser secuenciado en su totalidad hasta el año 2010, siendo uno de los más complejos dentro de los procariotes<sup>14</sup>, en sus genes no se ubican alelos para la síntesis de factores de virulencia como las toxinas que sí poseen otras bacterias<sup>19</sup>. El genoma de *B. burgdorferi* contiene al menos 132 genes que codifican para lipoproteínas, donde las proteínas de membrana externa (Osp's) son predominantemente inmunogénicas, de estas lipoproteínas se han caracterizado dos (OspA y OspC) y tienen una participación importante en la sobrevivencia de la espiroqueta en diversos hospedadores y/o en la transmisión de ésta a través de la mordida de garrapata<sup>14</sup>.

Entre los factores de virulencia se encuentra la flagelina proteína estructural del flagelo, la cual es uno de los antígenos más importantes del género *Borrelia*, también se encuentran otras proteínas como las de choque térmico, las proteínas de membrana y otras proteínas con función aún desconocida<sup>18</sup>.

Durante su vida, *Borrelia* debe adaptarse a ambientes muy diferentes, ser capaz de sobrevivir en el intestino de la garrapata, pasar a través de las glándulas salivales de esta y penetrar el torrente sanguíneo del huésped, evadiendo la respuesta inmunológica para diseminarse al tejido blanco<sup>3</sup>, por esta razón la virulencia es vital para su supervivencia, además forman biopelículas sobre la membrana protoplásmica que evitan la fagocitosis<sup>19</sup>,

Otro factor de virulencia que poseen las *Borrelias* es su capacidad de transmisión genética de alelos por medio de plásmidos, ya que en varios estudios se ha demostrado la infección conjunta de al menos 2 especies de *Borrelia* en la misma garrapata, generalmente se encuentran juntas la *B.*

*burgdorferi* y la *B.afzelii*, compartiendo múltiples loci durante su relación y aumentando su virulencia<sup>19</sup>.

Como se dijo anteriormente la especie *Borrelia* no produce potentes toxinas, pero causa infección migrando a través de los tejidos, diseminándose por la sangre, adhiriéndose a las células del huésped y evadiendo el sistema inmune<sup>18</sup>.

### 3.4 Vectores

Un vector es todo artrópodo hematófago que asegura la transmisión de un patógeno de forma biológica<sup>16</sup>. Las garrapatas pertenecen al orden *Acarina*, estos artrópodos se caracterizan por llevar una vida estrictamente parasita, a lo largo de ella realizan tres mudas las cuales son larva, ninfa, y adulto. Se distinguen dos grandes grupos, las llamadas garrapatas blandas y las duras, las primeras corresponden a la familia *Argasidae*, son artrópodos que se encuentran principalmente en aves y reptiles, Las garrapatas duras que pertenecen a la familia *Ixodidae*, en la que se incluyen la mayor parte de las especies de interés en medicina humana y animal<sup>16</sup>; los géneros que pertenecen a esta familia se encuentran principalmente en entornos abiertos y son activos durante las estaciones cálidas. Hay 13 géneros conocidos de garrapatas duras, a saber: *Ixodes*, *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Boophilus*, *Rhipicephalus*, *Aponnoma*, *Margaropus*, *Nosomma*, *Rhipicentor*, *Cosmiomma* y *Anomalohimalaya*<sup>22</sup>.

La borreliosis de Lyme se transmite por garrapatas duras las cuales son las principales transmisoras de enfermedades; estas enfermedades como la de Lyme son actualmente más frecuentes que en décadas pasadas; este aumento en la frecuencia se debe, a diferentes factores, entre ellos el cambio climático, el cual ha favorecido la dispersión de especies de garrapatas

propias de climas templados y tropicales hacia regiones climáticas muy diferentes a las de origen<sup>20</sup>.

De acuerdo con la literatura consultada las garrapatas de la familia *Ixodidae*, género *Ixodes*, son el principal vector de esta espiroqueta, donde las especies *Ixodes scapularis* (garrapata de patas negras) e *Ixodes pacificus* predominan en el este y centro de las regiones de Norteamérica, mientras que *Ixodes persulcatus* e *Ixodes ricinus* se encuentran principalmente en Europa, Asia y África<sup>3,18</sup>, otros géneros de garrapatas, tales como *Amblioma americanus*, y *Dermacenter variabilis* han sido reportados como vectores potenciales de la *Borrelia burgdorferi*<sup>4</sup>.

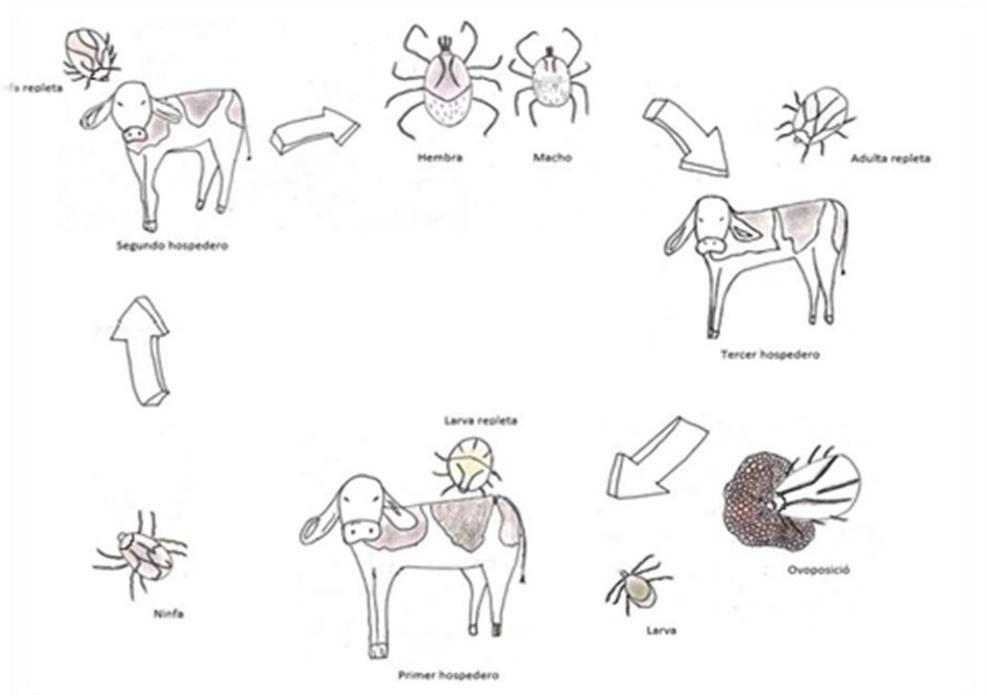
En Europa, además de garrapatas fueron encontrados infectados con *Borrelia* mosquitos, tábanos, moscas de la familia *Stomoxys*, pulgas y piojos, pero no hay estudios que confirmen su competencia como vectores, siendo sólo consideradas como especies “carriers”, o sea, capaces de una transmisión transestadial de *Borrelia* pero no a un hospedador y tienen una menor importancia en la dinámica de transmisión al humano<sup>4,14</sup>.

Las garrapatas son consideradas como uno de los factores sanitarios más importantes que limitan la ganadería y que afectan el 80 % de la población bovina del mundo, la garrapata *Rhipicephalus microplus* (anteriormente *Boophilus microplus*) es la garrapata que tiene un mayor impacto económico en México, Centroamérica, Suramérica y Australia, *R. microplus* es la especie con mayor incidencia en Colombia y Venezuela<sup>21</sup>. Los problemas que genera en la ganadería Colombiana la presencia de este artrópodo, son principalmente el daño en las pieles, la disminución de la producción de carne y leche, la transmisión de enfermedades zoonóticas, los costos en el control y tratamientos de las enfermedades y problemas en la reproducción de los animales.

### 3.4.1 Ciclo de vida

*Ixodes* es un parásito no permanente, es atraído por el movimiento, la temperatura y el dióxido de carbono, su ciclo vital consta de los estadios de larva, ninfa y garrapata adulta, siendo viable de dos a tres años con un rango de dos a seis<sup>17</sup>. La actividad de las garrapatas ocurre en el periodo estacional y depende, entre otros factores, de la temperatura ambiental; el ciclo de vida inicia con la eclosión del huevo ovipositado por la garrapata hembra grávida en un sitio húmedo y protegido, del cual emerge la larva, después de una semana busca un hospedador del cual alimentarse, para encontrar su hospedero la larva utiliza sus órganos sensoriales los cuales se estimulan por olores, dióxido de carbono, luz, corrientes de aire, humedad y calor que indican la presencia del hospedador, puede encontrarse en la zona de la vegetación donde la humedad es relativamente más alta a la espera de su hospedero, luego de alimentarse cae al suelo para realizar la muda a ninfa, esto ocurre de cinco días a varias semanas, dependiendo de la temperatura y la humedad; en el estado adulto se presenta la diferenciación sexual de las garrapatas<sup>21</sup>.

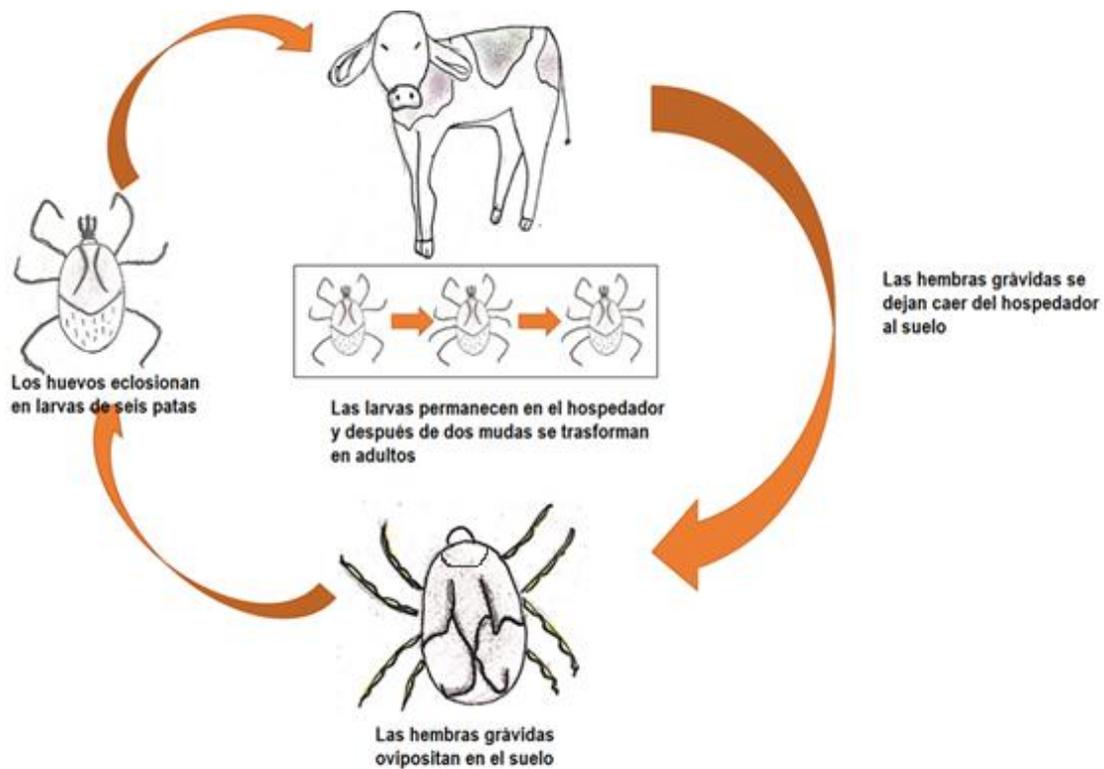
Su hábitat natural son las zonas boscosas y de matorral, hierba o arboleda, donde permanece la mayor parte del tiempo. Todas las garrapatas son hidrófilas, precisando para su ciclo vital un clima templado y con cierto grado de humedad para mantener su balance hídrico estable debido a su susceptibilidad a la sequedad ambiental, sobre todo en las fases de desarrollo<sup>17</sup>.



**Imagen 1. Ciclo de vida de garrapatas con diferentes hospederos.**

**Ilustrado por. Daniela Ríos Suarez**

Existen garrapatas de un sólo huésped pasa todos sus estadios de vida en un animal, como es el caso de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* que a diferencia del género *Ixodes* el cual en su ciclo de vida necesita diferentes hospederos para realizar sus mudas, siendo un vector de tres hospederos, los estados inmaduros de *Ixodes* se fijan en aves y reptiles, mientras que los adultos prefieren mamíferos como bovinos, ovinos y caprinos, a diferencia de *R. microplus* es una garrapata de un sólo huésped; pasa todos sus estadios de vida en un animal<sup>23</sup>, en este caso en el bovino, los huevos hacen eclosión en el medio ambiente y las larvas se arrastran por el pasto u otras plantas para encontrar un huésped<sup>23</sup>.



**Imagen 2. Ciclo de vida del vector encontrado *Rhipicephalus (boophilus) microplus*. Garrapata de un sólo huésped; pasa todos sus estadios de vida en un animal.**

**Ilustrado por. Daniela Ríos Suarez**

### 3.5 Reservorios-Hospedero

Se define al hospedador-reservorio competente de este agente infeccioso como aquella especie animal capaz de conservar al patógeno y servir de fuente de infección a los vectores (garrapatas) siendo la principal vía de infección<sup>14</sup>, entre sus reservorios encontramos pequeños roedores, como el ratón de patas blancas (*Peromyscus leucopus*) o el ratón de campo (*Apodemus*

*agrarius*)<sup>17</sup>, siendo el reservorio más importante; también se encuentran varios insectívoros, como las musarañas y los erizos, también están implicados, los ungulados (ciervos, ovejas, vacas y cabras) que alimentan a un gran número de garrapatas y las aves, como los faisanes y los mirlos, son reservorios competentes importantes<sup>18</sup>, el hombre entra a formar parte de este ciclo de manera accidental, siendo hospedero no reservorio, al igual que los bovinos, sufriendo la infección por *Borrelia burgdorferi*, una vez que esta bacteria es inoculada en los distintos estadios de las garrapatas durante su alimentación<sup>16</sup>.

Los animales domésticos como los caninos, los equinos y bovinos, se comportan como agentes transportadores de vectores (garrapatas) haciendo que la población cercana se convierta en una población de riesgo por estar en contacto con el vector, cabe recordar que los perros son grandes reservorios y centinelas adecuados para las enfermedades infecciosas y zoonóticas<sup>8</sup>, como lo puede ser la enfermedad de Lyme.

### **3.6 Enfermedad de Lyme**

La enfermedad de Lyme es producida por *Borrelia burgdorferi sensu lato*, la cual tiene manifestaciones multisistémicas que puede simular o parecerse a otras patologías de comienzo agudo, en donde se presentan las manifestaciones dérmicas y luego tiene una evolución subaguda o crónica, posteriormente provoca una respuesta inmunológica anormal donde las más representativas son reumáticas, neurológicas y cardíacas<sup>9,11,12</sup>.

#### **3.6.1 Borreliosis de Lyme en Bovinos**

Poco se conoce del curso natural en estas especies, el parasitismo por *Ixodes* es común en

el ganado, sobre todo el de las formas adultas, es probable que la *Borrelia burgdorferi* muera rápidamente por deshidratación; sin embargo, el contacto directo con las mucosas o lesiones de la piel pueden ser los factores que favorecen la infección. Según estudios se ha encontrado la presencia de la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* en la sangre, calostro, leche, líquido sinovial y tejidos fetales procedentes de abortos del ganado infectado. Estudios experimentales recientes demuestran la supervivencia de la *Borrelia burgdorferi* en la leche refrigerada durante largos períodos de tiempo<sup>4</sup>, siendo considerada esta como una vía de infección para los humanos recordando que esta bacteria causa la enfermedad de Lyme, una enfermedad zoonótica la cual afecta a los humanos.<sup>20,9</sup>

Las principales manifestaciones clínicas reportadas en los bovinos son: fiebre, cojera, rash eritematoso, pérdida crónica de peso, disminución de la producción de leche, abortos espontáneos y muertes fetales frecuentes<sup>4</sup>, son pocos los estudios sobre el comportamiento de esta espiroqueta en bovinos, limitando así su diagnóstico y posibles efectos secundarios los cuales pueden estar siendo confundidos con sintomatología de otros microorganismos.

La evolución de esta enfermedad es bastante larga y a menudo se da la resolución antes de llegar a los síntomas crónicos.<sup>20</sup>

La enfermedad causa hipertermia, astenia y anorexia asociada con la pérdida crónica de peso. La sintomatología evoluciona de manera similar a como lo hace en humanos, inicia con un pico de hipertermia la cual indica la diseminación de la bacteria en el cuerpo, que es asociada a la caída de la producción, seguido de signos articulares, que marcan los síntomas crónicos en los bovinos, los cuales van acompañados de fatiga y anorexia.<sup>20,9</sup>

Los signos afectan con mayor frecuencia a las articulaciones grandes, se presenta dolor, hinchazón y la articulación está caliente, éstos pueden durar varias semanas sin ser tratados. Las lesiones afectadas están con abundante líquido sinovial, grueso de color rojo a ámbar y se evidencian los ganglios linfáticos hinchados y edematosos. Se presenta daño en el cartílago específicamente destrucción del colágeno, lo que ocasiona artritis recurrente, esto puede conllevar a la incapacidad para el bovino.<sup>20</sup>

Es una enfermedad polisistémica, en la que se puede observar edema tumoral en las partes distales de las extremidades específicamente en los espacios interdigitales, también se puede presentar miocarditis y neumonía intersticial.<sup>20</sup>

Los signos cutáneos no son de gran ayuda como en los humanos, en ocasiones se puede presentar atrofia del tejido subcutáneo. En estudios recientes se evidenció eritema y edema en la ubre con lesiones costrosas al final de los pezones, los signos desaparecen 2 a 3 semanas, dejando cicatrices negras.<sup>20,9</sup>

Se ha demostrado la transmisión transplacentaria y calostrada. No se han descrito aun los signos clínicos de la neuroborreliosis en el ganado. La infección con *Borrelia burgdorferi* se evidencia por títulos elevados de anticuerpos en suero, leche y líquido sinovial.

### **3.6.2 Síntomas y estadios de la enfermedad de Lyme**

La borreliosis de Lyme cuenta con tres principales estadios clínicos, el primero en presentarse es la infección localizada, que se considera el síntoma de aparición temprana y es de

importancia; otro considerado el más representativo es una lesión cutánea llamada eritema migrans la cual se extiende de forma lenta y centrífuga en el sitio de la picadura de la garrapata y al mismo tiempo se presentan síntomas gripales inespecíficos como fatiga, dolor de cabeza y artralgias<sup>9, 12</sup>; el rash es una lesión anular, eritematosa y homogénea que puede exhibir un aclaramiento central parcial en el transcurso clínico de la enfermedad. Las áreas comúnmente afectadas son los muslos, ingle, nalgas y axilas<sup>9, 12</sup>.

La infección diseminada se evidencia por la aparición de lesiones secundarias anulares o múltiples eritemas migrans en la piel<sup>3</sup>, *Borrelia burgdorferi* provoca la aparición de alteraciones inflamatorias que comienzan en la piel, algunos pacientes desarrollan anomalías neurológicas (entre el 8 y el 63 % de los casos) o cardíacas. La enfermedad de Lyme tiene una presentación poliartritis migratoria<sup>9, 11</sup>. Los síntomas nerviosos más frecuentes es la meningitis linfocítica con neuritis craneal o radiculoneuritis<sup>9</sup>, y su presentación cardíaca más frecuente es el bloqueo fluctuante de diverso grado auriculoventricular de comienzo agudo, el cual suele ser agudo de resolución de días o semanas y puede llegar a ser irreversible, asociándose en algunas ocasiones con miocarditis o pancarditis<sup>9</sup>. Además, es infrecuente que esta etapa evolucione de forma asintomática, puesto que las manifestaciones del linfocitoma se dan en lóbulos de la oreja o pezones, la cual se presenta como infección diseminada no tardía, o manifestaciones como acrodermatitis crónica atrófica, lesiones cutáneas semejantes a escleroderma localizado, artritis crónica, encefalomiелitis crónica, entre otras<sup>9</sup>.

Así mismo, su último estadio es la infección persistente, la cual se presenta meses después del comienzo de la enfermedad, el 60% de los pacientes no tratados presentan ataques intermitentes

de artritis, resaltando que se presenta más que todo en las articulaciones grandes como rodillas y cadera. Otros de los síntomas que se pueden presentar es la acrodermatitis crónica atrofiante, síntomas neurológicos como polirradiculoneuropatía o polirradiculopatía axonal sensoriomotora crónica<sup>9,12</sup>.

Es así, que la presencia de artritis en la enfermedad de Lyme es uno de los dos síndromes que se pueden presentar después de sus tres estadios, por lo general de forma intermitente y de menor proporción crónica, apareciendo en la mitad de los pacientes no tratados<sup>12</sup>.

Los síntomas artríticos de la enfermedad de Lyme corresponden a la aparición de episodios de inflamación articulares en una o más articulaciones, que puede tener una duración de meses e incluso años después del tratamiento correcto con antibióticos<sup>9, 12</sup>, el síndrome post enfermedad de Lyme es otro síntoma que se puede presentar, expresando en un porcentaje mínimo de pacientes, donde se desarrolla dolores musculoesqueléticos incapacitantes, síntomas neurocognitivos o fatiga durante meses o años después de su tratamiento<sup>12</sup>.

### **3.6.4 Respuesta inmune del hospedero**

La respuesta inmune se ha estudiado mucho (principalmente en humanos), pero todavía hay muchas áreas a las que no se han llegado, especialmente con respecto a las formas nerviosas o la transición a la cronicidad. Se argumenta que la patogenia podría ser el resultado de mecanismos autoinmunes, lo que explicaría la resistencia a ciertos antibióticos. Por otro lado, las coinfecciones pueden agravar las lesiones y prolongar la enfermedad.<sup>24</sup>

La enfermedad de Lyme se caracteriza por reacciones inflamatorias altamente desarrolladas proporcional al número de espiroquetas involucradas. Estudios han demostrado que *Borrelia*

*burgdorferi* parece controlar la secreción de un gran número de citoquinas que participan en la respuesta inmune, en particular, TNF alfa, el IFN-g, interleucinas (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12). *Borrelia burgdorferi* provoca la agregación de monocitos y la síntesis de citoquinas inducidas por las lipoproteínas de superficie de *Borrelia burgdorferi* de unión con el receptor TLR2, lo que desencadena la translocación nuclear de NF- $\chi$ B. Esta respuesta inflamatoria es potenciada por CD-14. Estas citoquinas permiten la activación de las células endoteliales, macrófagos, neutrófilos y células B IL-8 atrae y activa las células, lo que contribuye a los tejidos de la inflamación y el daño de acogida<sup>24</sup>. Las citocinas, por otro lado, no tienen un efecto tóxico sobre *Borrelia burgdorferi* y no modifican la expresión de proteínas de superficie.<sup>24</sup>

### **3.6.5 Métodos de Diagnósticos**

Las manifestaciones clínicas como el eritema migrans, es el método más empleado para el diagnóstico de borreliosis de Lyme, pero para su confirmación se emplean métodos microbiológicos, como los cultivos pero este presenta problemas por su sensibilidad muy baja esto se debe al bajo número de microorganismos encontrados en las muestras, los medios líquidos más empleados para aislamiento de *Borrelia burgdorferi* son derivados del medio de Kelly original, las versiones más actualizadas son BSK (Barbour-Stoener-Kelly II), BSK-H y MKP (Kelly Medium Preac-Mursic).<sup>20,6</sup>

En los exámenes sanguíneos se puede encontrar un aumento en la velocidad de sedimentación y a su vez un aumento en la tasa de glóbulos blancos.<sup>20</sup> En el análisis de líquido cefalorraquídeo en los casos de neuroborreliosis aguda se puede encontrar pleocitosis moderada con niveles elevados de proteínas, por el contrario de neuroborreliosis crónica donde el análisis de

LCR es normal.<sup>20</sup>

Por otra parte, encontramos la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) que puede ser un método diagnóstico para otras patologías, pero no lo es para la enfermedad de Lyme por la falta de estandarización de los métodos, lo que lleva a que los resultados sean difíciles de implementar en el diagnóstico y la limitación más importante de esta técnica se debe al pequeño número de espiroquetas que se encuentran en tejidos infectados. Por otro lado, la PCR tiene buena sensibilidad en los casos de líquido sinovial en los pacientes con artritis, pero no se recomienda la utilización de esta técnica con muestras como orina o sangre.

También se emplea como método diagnóstico la detección de anticuerpos, el cual incluye un cribado mediante métodos con una buena sensibilidad y que se confirman mediante inmunoblot.<sup>6</sup>

Ya que esta es una enfermedad de difícil diagnóstico, de acuerdo a diferentes artículos se encontró que el protocolo establecido para el diagnóstico de *Borrelia burgdorferi* es:

1. La aplicación de pruebas IFI y ELISA que demuestren la presencia de anticuerpos contra *Borrelia*.
2. Prueba confirmatoria Western-blot o inmunoblot.
3. En caso de estar disponible, se puede realizar una prueba de PCR<sup>29</sup>.

Por otro lado existen técnicas como la PCR en sangre u orina para la detección de ADN de *B. burgdorferi*, la determinación del antígeno de Lyme en orina, la tinción inmunofluorescente

para formas deficientes de la pared celular de *B. burgdorferi*, las pruebas de transformación de linfocitos (LTT) y la determinación de la disminución de la respuesta de linfocitos CD57, las cuales no han sido aprobadas por ninguna agencia o sociedad científica como válidas para el diagnóstico<sup>30</sup>.

### **3.6.5.1 Técnica de ELISA**

Entre los métodos de detección de anticuerpos se encuentra la ELISA que es la prueba más implementada especialmente en pruebas a gran escala, la prueba de ELISA tiene que poseer ciertas características como es las utilización de un extracto antigénico purificado o enriquecido de la bacteria. Es importante tener en cuenta la heterogeneidad de la bacteria a la hora de elegir la mejor prueba que se realizará en la zona de estudio, por ello se recomienda la combinación de antígenos derivados de dos o más cepas.<sup>20</sup>

### **3.6.5.2 Técnica IFI inmunoensayo de fluorescencia indirecta.**

La inmunofluorescencia indirecta (IFI) es utilizada, en ésta los preparados están expuestos a criterios de positividad variable, la cual se establece con los controles, su especificidad es bastante buena y es una técnica económica. Se fundamenta en el reconocimiento del complejo antígeno-anticuerpo por un conjugado anti-anticuerpo marcado con un fluorocromo.<sup>20,6</sup>

### **3.6.5.3 Técnica de Inmunoblot**

El inmunoblot es la técnica que se emplea para la confirmación del diagnóstico en los casos donde ELISA o IFI no son concluyentes. La técnica consiste en la separación de proteínas

específicas de *Borrelia burgdorferi*, en electroforesis en gel de poliacrilamida, separando de este modo los antígenos de acuerdo con su tamaño. El gel se transfiere luego a una membrana de nitrocelulosa y se coloca en presencia del suero a analizar, los anticuerpos anti-globulina se usan para marcar los complejos antígeno-anticuerpo, las bandas resultantes son específicas para *Borrelia burgdorferi*.<sup>20,6</sup>

### **3.6.6 Tratamiento**

Para los bovinos no se encuentra un tratamiento para la enfermedad de Lyme, lo que se sugiere es usar medicamentos para la prevención de garrapatas, que es el principal vector de esta espiroqueta. Para los humanos existe tratamiento y vacunas, los antibióticos empleados con mayor frecuencia en la borreliosis de Lyme son la doxiciclina (primera elección) y amoxicilina durante 14-21 días<sup>9</sup>

### **3.6.7 Prevención**

La prevención y control de la borreliosis de Lyme resulta muy difícil por varias razones: el vector tiene una amplia difusión en el mundo, durante su ciclo de vida pasa una parte en la tierra o sobre la hierba aguardando la llegada de un huésped, la duración de su vida puede ser entre 2 y 7 años, transita alternativamente por 3 huéspedes diferentes, algunos de los cuales pueden trasladarlo a grandes distancias y su picadura puede pasar inadvertida; además, el agente causal es resistente y adaptable a diferentes medios con un largo tiempo de supervivencia, produciendo un cuadro clínico proteiforme<sup>5</sup>. Realizar un control químico del vector es un método costoso por esta razón se recomiendan medidas como la autoprotección como el uso de vestimentas cerradas en las extremidades cuando se encuentra en zona endémicas y educación sanitaria, es importante

inspeccionarse después haber estado en áreas donde se sospecha la presencia del vector y remover las garrapatas lo más pronto posible, los repelentes de insectos son a veces efectivos<sup>6</sup>, la prevención a la población bovina se realiza por medio de baños a las reses con el fin de tener un control de los vectores (garrapatas), según la guía para el manejo de garrapatas del ganado bovino que proporciona el ICA, se pueden realizar controles químicos con organofosforados y carbonatos e inhibidores de la quitina, pero el uso de estos químicos resulta costoso, puede generar desarrollo de resistencia, quedan residuos de pesticidas en carne y leche, generan daños al medio ambiente y representan riesgo para la salud pública, por esta razón no es el mejor medio para la prevención y se deben buscar alternativas no químicas de control, como químicos naturales de plantas, también existen otro tipo de control como el biológico con vacunas.

### **3.7 Epidemiología de *Borrelia burgdorferi***

La enfermedad de Lyme es una zoonosis cosmopolita causada por *Borrelia burgdorferi*, esta enfermedad se ha descrito en Canadá, Europa Central, Escandinavia, Países de la Antigua Unión Soviética, China, Japón y Austria, en 48 estados de Estados Unidos, la gran mayoría de los casos en Estados Unidos ocurren en la costa noreste y en los estados norcentrales, aunque el vector está tanto en África como en Sudamérica, en la cual la enfermedad de Lyme no se reporta Comúnmente<sup>6</sup>.

En 1988 en bovinos infectados se observaron espiroquetas a partir de calostro, pero no en la leche<sup>26</sup>.

De esta infección transmitida por artrópodos, en la década de 1982 a 1992 se reportaron

casi 50.000 casos en Estados Unidos y en 1992 más de 9.600 casos<sup>6</sup>. Se realizó un estudio en 7660 bovinos de Wisconsin donde se encontró una prevalencia del 66%, lo cual se correlaciono con la presencia de *Ixodes scapularis* en el área analizada.

En Europa se han realizado pocos estudios de la enfermedad de Lyme en bovinos, se estima que las mayores tasas de incidencia se alcanzan en Alemania, Austria, Eslovenia, Suecia y Escandinavia<sup>9</sup>. Estudios mostraron una prevalencia serológica del 25% en diferentes regiones de Eslovaquia y en Alemania se encontró una prevalencia del 33% en 66 rebaños estudiados. En Francia para el año de 1988 se reconoció como enfermedad de reporte obligatorio.<sup>16</sup>

En Japón en 1993, en la región de Hokkaido se reconoció como área endémica de borreliosis de Lyme<sup>26</sup>. en 1994, Se demostró la alta frecuencia de reacciones cruzadas entre *B.burgdorferi* y los agentes etiológicos de la fiebre recurrente, reforzando la existencia de la *B. burgdorferi* en América del Sur. En 1995, Fonseca describió altos títulos de anticuerpos contra *B. burgdorferi* en bovinos asintomáticos provenientes del Estado de Río de Janeiro<sup>26</sup>. Para el año de 1997, en Gironde Francia se realizó una investigación con el nombre de “Borrélioze de Lyme dans le cheptel bovin et ovin du département de la Gironde” con el propósito de establecer la seroprevalencia de la enfermedad de Lyme en un hato de ganado y de ovejas en el departamento de Gironda, donde se conocían pocos datos y que dado los factores geográficos como la humedad del suelo favorecía la existencia de garrapatas, era factible encontrarla<sup>25</sup>.

En la actualidad esta enfermedad en una de la más frecuentes transmitida por artrópodos, se ha identificado en países sudamericanos y centroamericanos como Perú, Brasil, Chile, Argentina, Bolivia, Venezuela y México<sup>1</sup>. En Colombia Existen pocos estudios sobre esta

enfermedad y los que hay son en humanos, caninos y equinos, por ello es indispensable realizar estudios en poblaciones susceptibles como los bovinos.

## **4. Metodología**

### **4.1 Tipo de investigación**

La investigación que se realizó es descriptiva experimental ya que permitió identificar la presencia del anticuerpo tipo IgG para *Borrelia burdorgferi* en bovinos por medio de la técnica IFI inmunoensayo de fluorescencia indirecta.

### **4.2 Población y muestra**

Bovinos de Colombia, del total de la población muestreada se seleccionaron 58 muestras de suero de bovinos machos y hembras entre 6 meses a 10 años de edad de diferentes razas y cruces como Normando, Holstein, Cebú, Brahma rojo y criollo; los bovinos muestreados se criaban con dos propósitos: carne y leche, las fincas donde fueron muestreados estos animales se encuentran en los departamentos de Cundinamarca y Santander y contaban con una población de 20 a 40 bovinos: en Silvania Cundinamarca la finca contaba con 20 bovinos para producción de leche y carne, los cuales fueron muestreados en su totalidad; en Guavatá Santander la totalidad de ganado de la finca San Rafael era de 27 animales utilizados para doble propósito carne y leche, de los cuales se muestrearon 20 bovinos, los siete restantes eran terneros y vacas en preñez, los cuales no se muestrearon por petición de sus propietarios para evitar estresar al animal con la toma de la muestra, y finalmente en la finca ubicada en San Vicente de Chucurí la cual contaba con 40

bovinos utilizados para la ceba y comercialización de carne, se muestrearon 25 bovinos de los cuales se utilizaron 18 muestras. Para la selección de las muestras se tuvo en cuenta, calidad, cantidad y preservación.

#### **4.2.1 Criterios de inclusión de la población bovina muestreada**

Para la selección de la población estudiada se tomaron parámetros de hábitat, fincas no tecnificadas y ganado con presencia de garrapatas, con el fin de aumentar la probabilidad de encontrar la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* causante de la enfermedad de Lyme en los bovinos, pero el principal factor de inclusión para la toma de muestra era que el bovino estuviera infestado por garrapatas.

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

Los municipios de Silvania Cundinamarca, Guavatá y San Vicente de Chucurí Santander, fueron seleccionados para realizar la toma de muestra de los bovinos, por presentar temperatura cálida, lo que favorece la presencia de vectores (garrapatas) ya que este clima es el apropiado para su crecimiento y desarrollo.

El municipio de Silvania, está ubicado en el departamento de Cundinamarca, en la provincia del Sumapaz, a tan solo 40 minutos de la capital Colombiana, sobre la vía Panamericana que de Bogotá conduce al Sur-Occidente del país a departamentos como el Tolima, Huila, Valle del Cauca, entre otros. El clima medio oscila entre 17 y 24 Grados Celsius, con un promedio de 20 Grados Celsius, gran parte de su extensión está dedicada al pastoreo y al cultivo de árboles frutales y cafetales<sup>28</sup>.

Guavatá, se encuentra en el departamento de Santander, también conocido como la Capital de la Guayaba, perteneciente a la provincia de Vélez, ubicado al Oriente del país, a 4 horas de la capital Colombiana, cuenta con una temperatura promedio de 19°C y su economía se basa en la agricultura con cultivos como la guayaba, el maíz, café, caña panelera, yuca, fríjol y frutales. Los principales sistemas de producción son la guayaba como materia prima para la fabricación de bocadillo, la caña de azúcar para la producción panelera, café, yuca y maíz. Dentro de la actividad pecuaria se destacan las especies bovinas de doble propósito, los porcinos y otras de menor importancia como los caprinos y la avícola y finalmente en el mismo departamento encontramos el municipio de San Vicente de Chucurí, ubicado a 2 horas de la capital santandereana, Bucaramanga, este municipio el cual pertenece a la provincia de Mares cuenta con una temperatura promedio que oscila entre los 25 a 30 °C, esta temperatura le permite tener una economía basada en la producción de cacao, aguacate, café, cítricos, ganadería y minería.

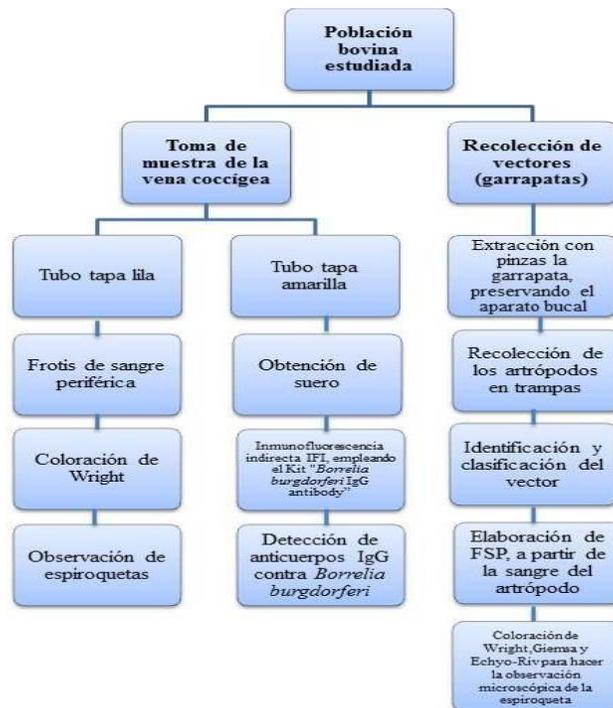
<b>Departamento</b>	<b>Municipio</b>	<b>Ubicación</b>	<b>Condiciones Climáticas</b>	<b>Número de animales muestreados</b>
<b>Cundinamarca</b>	Silvania	4°24'12"N 74°23'17"O	23 °C, 70 % de humedad	20
<b>Santander</b>	Guavatá	5° 57' 34" N 73° 41' 09" W	20 °C, 72 % de humedad	20
<b>Santander</b>	San Vicente de Chucurí	6°52'55"N 73°24'43"O	28 °C, 58 % de humedad	18

**Tabla 1. Ubicación geográfica de la población muestreada.**



Imagen 3. Ubicación geográfica de la población muestreada.

Tomada de: <https://bit.ly/2CK8JIP>



Gráfica 1. Esquema de la metodología utilizada en el estudio

### **4.3 Muestra.**

58 bovinos de tres regiones de Colombia.

#### **4.3.1 Toma de muestra de sangre**

La vena coccígea está ubicada en la cola a nivel del espacio entre las vértebras coccígeas, se realiza la toma de muestra de sangre, se escoge este tipo de toma de muestra ya que es de fácil acceso y tiene un menor riesgo para el animal y el profesional que realiza la venopunción, minimizando accidentes, este procedimiento fue acompañado y orientado por un Médico Veterinario en colaboración con los mayordomos de las diferentes fincas.

Para el análisis de los frotis de sangre periférica se extrajo sangre al vacío en tubo tapa lila con anticoagulante y en tubo seco o tapa roja para la obtención de suero.

#### **4.4.2 Formato de aceptación para la toma de muestra.**

Este formato se realizó para dejar en físico un consentimiento en donde se le explicaba al propietario de los bovinos como sería la toma de muestra de los animales y que se realizaría en el estudio, con el compromiso de compartir y socializar los resultados obtenidos, la firma de estos formatos permitieron llevar a cabo la investigación en sus fincas y hacerlos partícipes de este proyecto.

#### **4.3.3 Muestreo de vena coccígea.**

La persona que realiza la toma de muestra porta las barreras de protección primaria para evitar accidentes durante el procedimiento.

1. Rotular e identificar el tubo.
2. Alistar el bovino en la manga del corral.
3. Sujetar su cabeza a un soporte de la manga con un lazo.



**Imagen 4. Maneo del animal.**

4. Se levanta la cola del animal hasta colocarla en posición vertical y se realiza un lavado con agua en la zona de punción.



**Imagen 5. Posición vertical de la cola y palpación de la vena**

5. Por palpación se localiza la vena que se encuentra en la línea media, en la inserción de los pliegues de la piel de la cola a nivel del espacio entre las vértebras coccígeas.

6. Se desinfecta y seca la zona de punción
7. Toma de muestra por método al vacío o vacutainer.



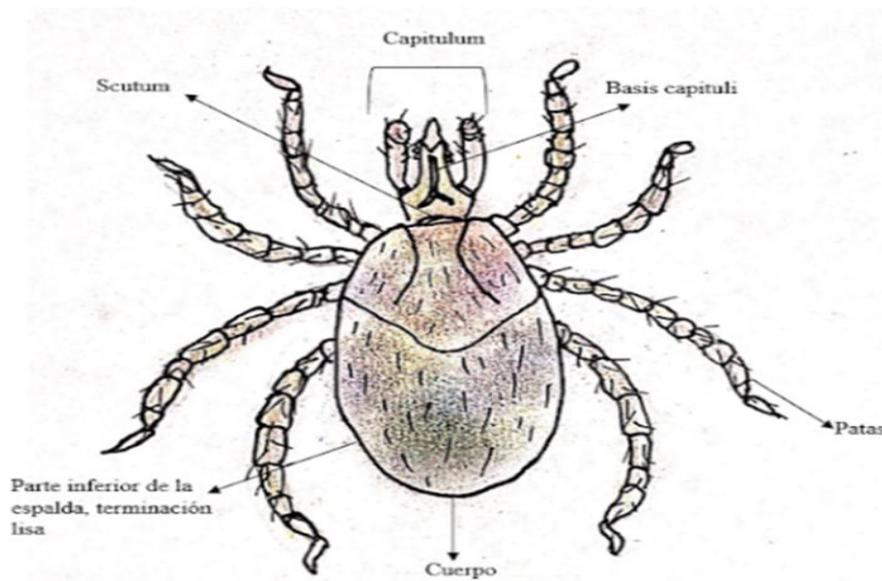
**Imagen 6. Extracción de sangre.**

#### **4.4. Identificación taxonómica de garrapatas mediante clave.**

Los vectores de la enfermedad de Lyme pertenecen al Familia *Ixodidae* (garrapatas duras), al revisar la literatura se encuentra que los géneros más comunes son *Ixodes* y *Amblyomma*, siendo el género *Ixodes* el principal vector de la enfermedad de Lyme a nivel mundial. Los artrópodos se recolectaron en recipientes plásticos y se transportaron a los laboratorios de la universidad proporcionándoles las condiciones de humedad y temperatura adecuadas.

La identificación taxonómica de las garrapatas obtenidas de los bovinos en las tres regiones, se realizó mediante estereoscopio para la visualización de las diferentes partes anatómicas del vector y así lograr seguir paso a paso lo establecido en las claves taxonómicas. Para este objetivo se contó con la ayuda de un experto y las claves obtenidas en la página

<http://www.animaldisease.org> **TIK-Tick Identification Key** la cual brinda ilustraciones fotográficas para realizar la comparación cualitativa con los vectores recolectados de los bovinos de las diferentes fincas.



**Imagen 7. Partes del vector**

**Ilustrado por. Daniela Ríos Suarez**

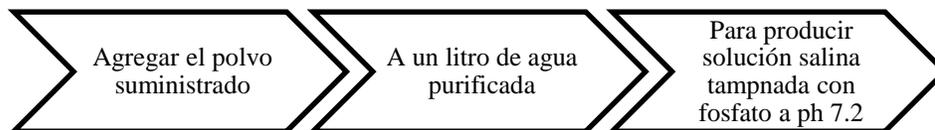
#### **4.5 Procesamiento de las muestras por medio de la técnica IFI**

La detección de anticuerpos tipo IgG para *Borrelia burgdorferi* de los sueros obtenidos de los bovinos muestreados, se realizó utilizando el kit comercial *Borrelia burgdorferi* IFA IgG Antibody Kit de la casa comercial FULLER LABORATORIES por la técnica IFI inmunoensayo de fluorescencia indirecta.

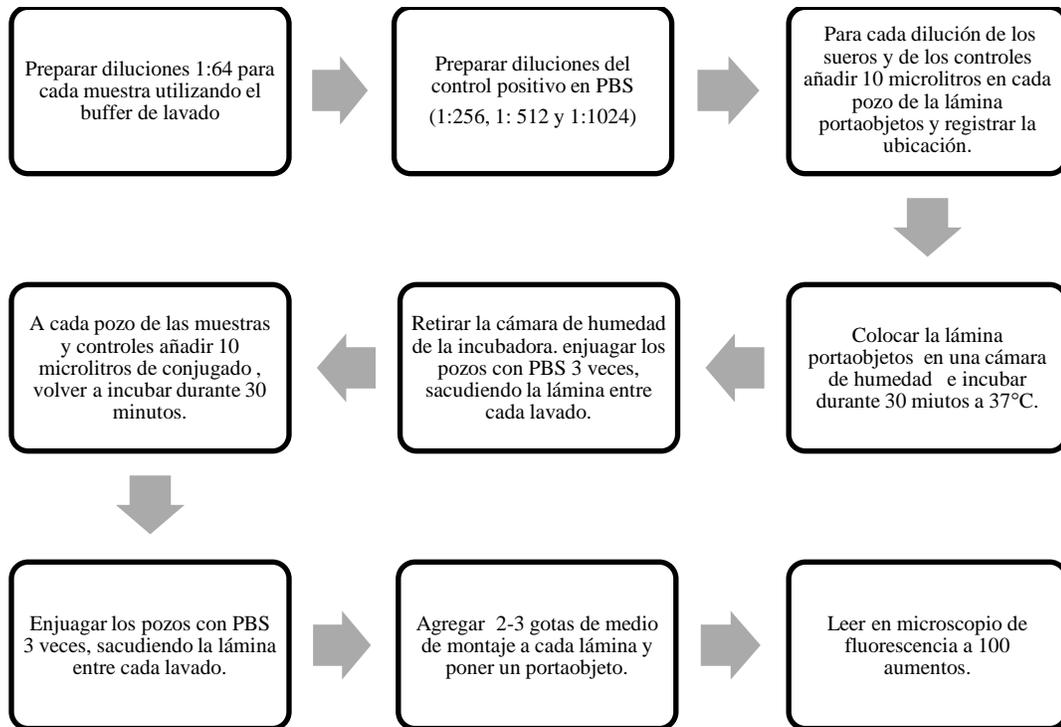
Componentes del *Borrelia burgdorferi* IFA IgG antibody kit

1. Láminas de sustrato  
Laminas enmascaradas de 10 x 12 pocillos que contienen cepas B31 y 297 de *Borrelia burgdorferi* mezcladas, en proporciones iguales.
2. Conjugado  
Contiene antígenos IgG de conejo marcados con DyLight 488 purificado por afinidad con albúmina de suero bovino y contraste de azul de Evans.
3. Control positivo  
Suero reactivo proporcionado a una dilución de cribado 1:64.
4. Control negativo  
Suero no reactivo suministrado con una dilución de tamizado de 1:64.
5. Medio de montaje  
Contiene 50% de glicerol en PBS, Ph 7.2

6. Preparación de buffer de lavado



7. Procedimiento del ensayo



**Gráfica 2 Montaje de las muestras mediante el kit *Borrelia burgdorferi* IFA IgG antibody.**

## 5. Resultados

### 5.1 Resultados serológicos procesados con la técnica de inmunofluorescencia indirecta IFI.

En las tablas número 2, 3 y 4 se encuentran los datos de los 58 bovinos muestreados con sus respectivos códigos y el resultado que se obtuvo de la prueba IFI, donde su porcentaje total de positividad es del 89.65% y el porcentaje de muestras negativas fue de 10,35% de un total de 58 muestras procesadas, estos resultados se obtuvieron cualitativamente mediante la comparación con los controles positivos en las diluciones de 256, 512 y 1024, propuestas en el protocolo de montaje de la prueba.

<b>GUAVATÁ</b>				
<b>Código</b>	<b>Identificación</b>	<b>Resultado</b>	<b>Dilución</b>	<b>Antecedentes</b>
GU.B1	1	Positivo	1024	Quiste Folicular, no preñez, nuches y garrapatas
GU.B2	2	Positivo	512	nuches y garrapatas
GU.B3	5	Positivo	512	nuches y garrapatas
GU.B4	6	Positivo	512	nuches y garrapatas
GU.B5	8	Positivo	256	Enfermedad viral, retraso en el crecimiento, nuches y garrapatas, problemas de coagulación
GU.B6	10	Positivo	512	Nuches y garrapatas
GU.B7	11	Negativo	negativo	Nuches y garrapatas
GU.B8	13	Positivo	256	Nuches y garrapatas
GU.B9	14	Negativo	negativo	Nuches y garrapatas
GU.B10	15	Positivo	512	Nuches y garrapatas
GU.B11	16	Positivo	512	Nuches y garrapatas
GU.B12	17	Positivo	512	Nuches y garrapatas
GU.B13	18	Positivo	1024	Nuches y garrapatas
GU.B14	19	Positivo	512	Nuches y garrapatas
GU.B15	22	Positivo	1024	Nuches y garrapatas
GU.B16	24	Negativo	negativo	Nuches y garrapatas
GU.B17	28	Positivo	512	Nuches y garrapatas
GU.B18	30	Positivo	negativo	Nuches y garrapatas
GU.B19	33	Positivo	512	Nuches y garrapatas
GU.B20	34	Positivo	256	Diarrea y anemia, nuches y garrapatas

**Tabla 2. Datos de los bovinos muestreados en Guavatá**

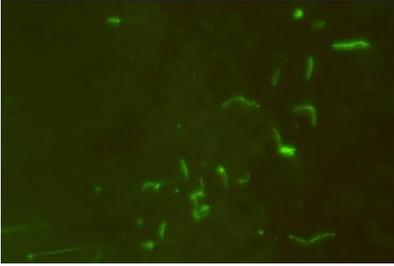
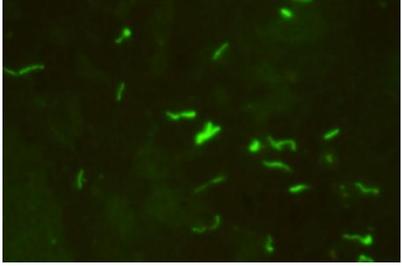
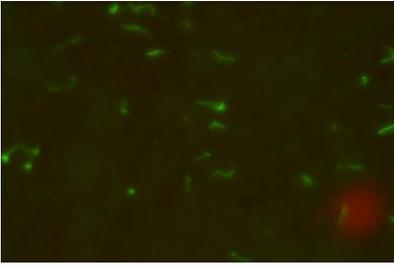
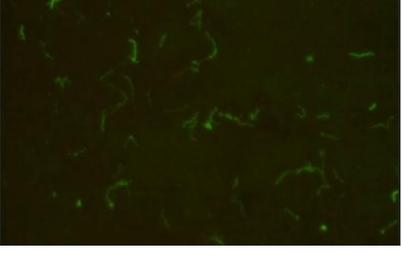
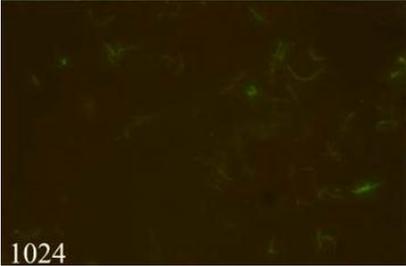
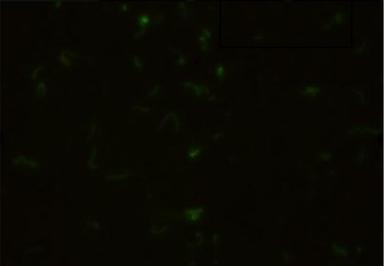
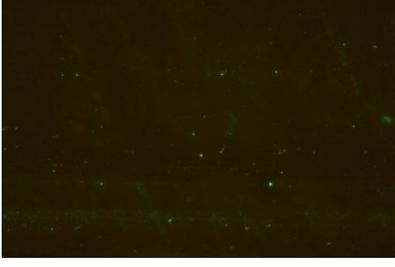
<b>SILVANIA</b>				
<b>Código</b>	<b>Identificación</b>	<b>Resultado</b>	<b>Dilución</b>	<b>Antecedentes</b>
SI.B 21	132	Positivo	512	Heces liquidas y garrapatas
SI.B 22	133	Negativo	negativo	no garrapatas
SI.B 23	134	Positivo	512	hematuria, no garrapatas
SI.B 24	135	Positivo	512	papiloma viral, y garrapatas
SI.B 25	136	Positivo	512	Garrapatas
SI.B 26	137	Positivo	1024	Papiloma viral y garrapatas
SI.B 27	138	Positivo	256	Garrapatas
SI.B 28	139	Positivo	512	Garrapatas
SI.B 29	140	Positivo	256	no garrapatas
SI.B 30	141	Positivo	512	Garrapatas
SI.B 31	142	Positivo	512	Garrapatas
SI.B 32	143	Positivo	1024	No garrapatas
SI.B 33	144	Positivo	1024	No garrapatas
SI.B 34	145	Positivo	512	No garrapatas
SI.B 35	146	Positivo	256	Garrapatas
SI.B 36	444	Positivo	1024	Nuches y garrapatas
SI.B 37	368	Positivo	1024	Nuches y garrapatas
SI.B 38	440	Positivo	256	Nuches y garrapatas
SI.B 39	24	Positivo	256	Garrapatas
SI.B 40	50	Positivo	512	Nuches y garrapatas

**Tabla 3. Datos de los bovinos muestreados en Silvania.**

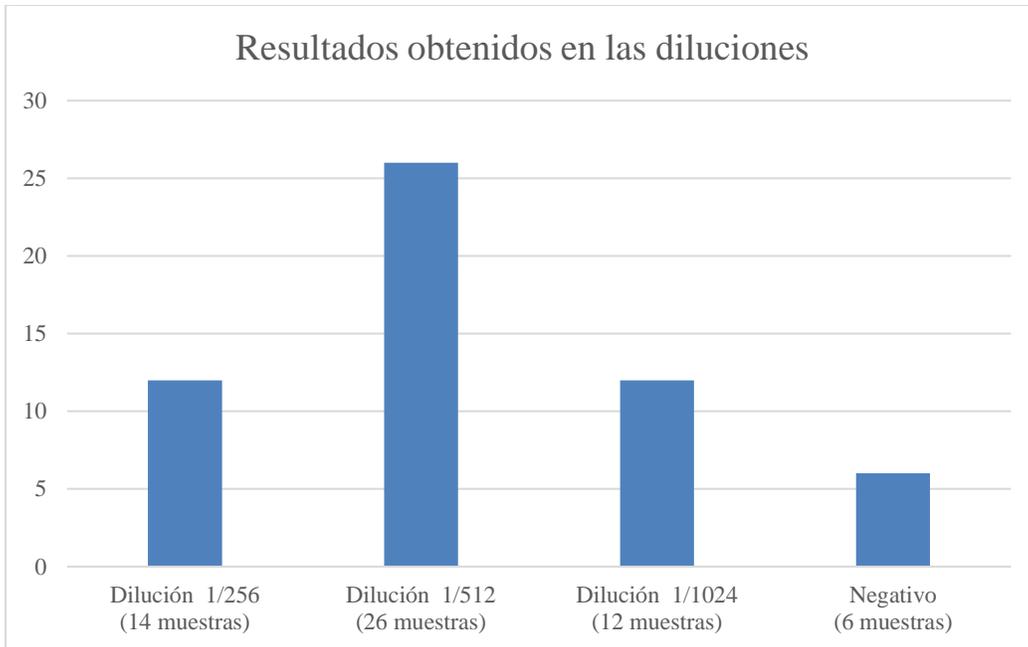
SAN VICENTE DE CHUCURÍ				
Código	identificación	Resultado	Dilución	Antecedentes
SV.B 41	4236	Positivo	256	Nuches y garrapatas
SV.B 42	4230	Positivo	512	Nuches y garrapatas
SV.B 43	4234	Positivo	512	Nuches y garrapatas
SV.B 44	Paloma	Positivo	1024	Nuches y garrapatas
SV.B 45	Damicela	Positivo	512	Nuches y garrapatas
SV.B 46	Hortencia	Negativo	Negativo	Nuches y garrapatas
SV.B 47	La parda	Positivo	256	Nuches y garrapatas
SV.B 48	239-1	Positivo	256	Nuches y garrapatas
SV.B 49	501	Positivo	512	Nuches y garrapatas
SV.B 50	352-4	Positivo	1024	Nuches y garrapatas
SV.B 51	6521	Positivo	256	Nuches y garrapatas
SV.B 52	6643	Positivo	256	Nuches y garrapatas
SV.B 53	Jersey	Positivo	1024	Nuches y garrapatas
SV.B 54	Negra	Positivo	512	Nuches y garrapatas
SV.B 55	Tabarca	Positivo	256	Nuches y garrapatas
SV.B 56	2	Positivo	1024	Nuches y garrapatas
SV.B 57	Pardo	Positivo	512	Nuches y garrapatas
SV.B 58	344	Positivo	256	Nuches y garrapatas

**Tabla 4. Datos de los bovinos muestreados en San Vicente de Chucurí.**

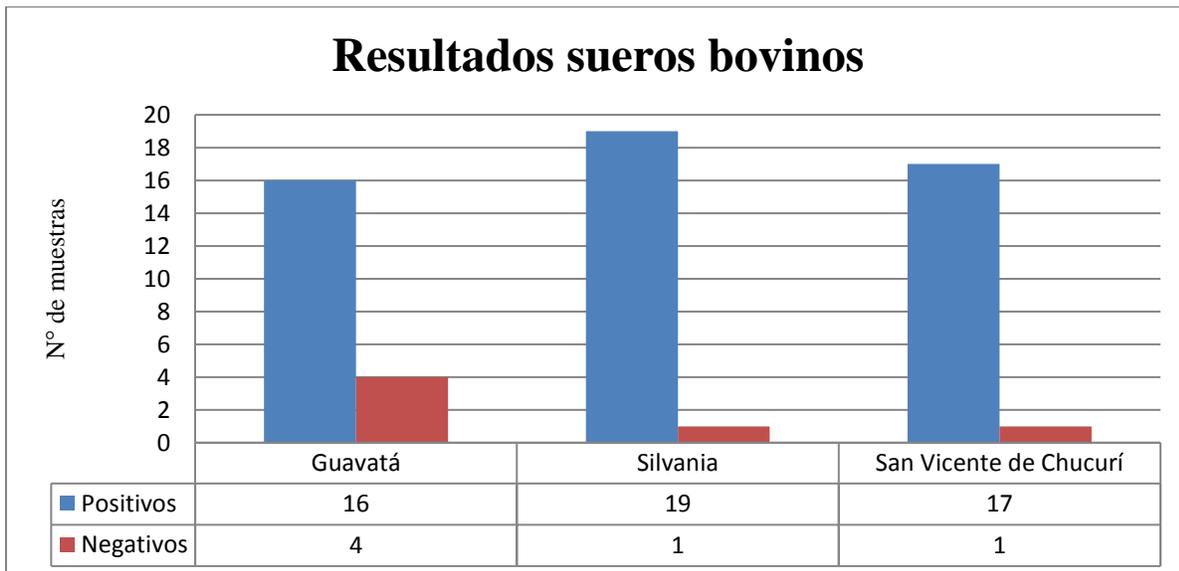
La población de bovinos del estudio pertenece a tres regiones diferentes, las cuales contaban con condiciones climáticas y ambientales muy similares, estos lugares presentaban un clima templado con una temperatura promedio entre los 20 a 25 °C, la cual es ideal para el desarrollo del vector que trasmite la espiroqueta estudiada. Los animales eran utilizados en las fincas para doble propósito (carne y leche), estos bovinos eran de diferentes razas y cruces como Normando, Holstein, Cebú, Brahma rojo y criollo, los mayordomos de las fincas nos indicaron que a los bovinos se les aplicaba Ivermectina cada tres meses la cual es usada como antiparasitario, también que eran vacunados cada seis meses contra la fiebre aftosa y el carbunco y periódicamente eran bañados para evitar la propagación de vectores, los antecedentes de importancia en los últimos tres meses que presentaron los bovinos en los tres lugares estudiados fueron, mastitis, hematuria, presencia de nuches y garrapatas, tripanosomiasis conocida en el común como renguera y diarreas por consumo de aguas estancadas.

Dilución	Controles IFI	IFI muestras
1/256		GU.B5- Guavatá 
1/512		SV.B 42- Sian Vicente de Chucurí 
1/1024	 1024	SI.B 36- Sylvania 
Negativo		GU.B7-Guavatá 

**Gráfica 3. Controles positivos y muestras (1/256, 1/512, 1/1024) y control negativo de la técnica IFI.**



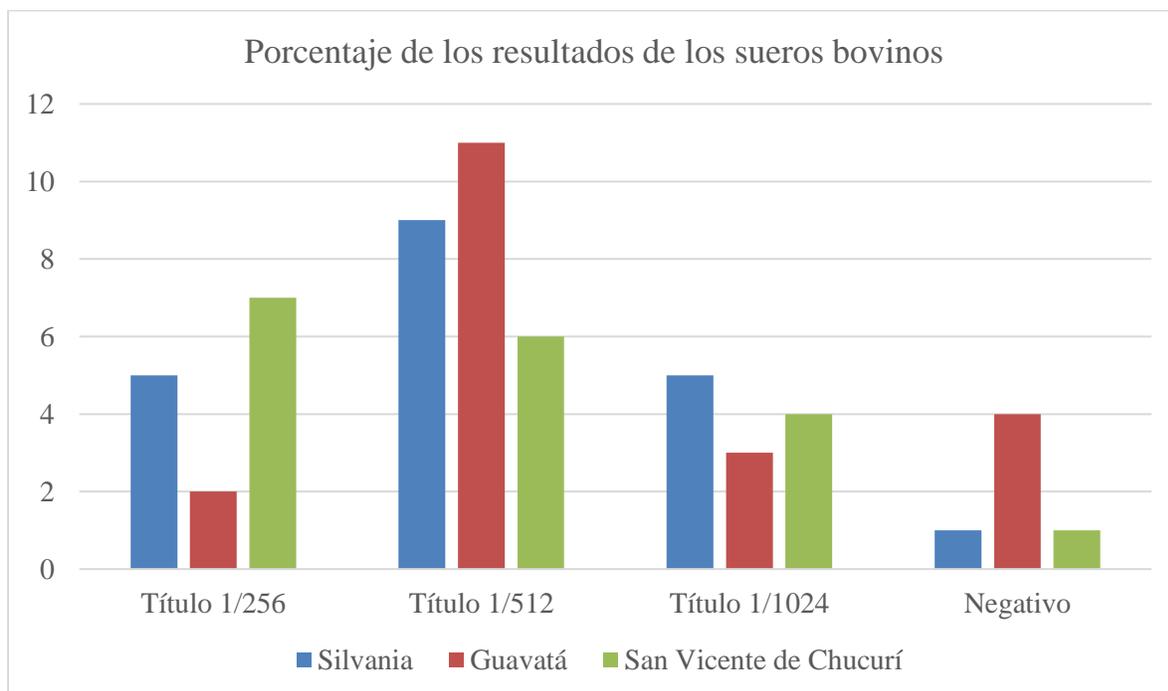
**Gráfica 4. Resultados de las muestras con respecto a las diluciones.**



**Gráfica 5. Resultados de los sueros bovinos mediante la técnica inmunológica IFI.**

Municipio	Título 1/256	Título 1/512	Título 1/1024	Negativo
<b>Silvania</b>	5 (25%)	9 (45%)	5 (25%)	1 (5%)
<b>Guavatá</b>	2 (10%)	11 (55%)	3 (15%)	4 (20%)
<b>San Vicente de Chucurí</b>	7 (38.88%)	6 (33.33%)	4 (22.22%)	1 (5.55%)

**Tabla 5. Porcentaje de los resultados de los sueros bovinos mediante la técnica inmunológica IFI.**



**Gráfica 6. Porcentaje de los sueros bovinos mediante la técnica inmunológica IFI.**

## 5.2 Resultados clasificación taxonómica de los vectores recolectados

Como Resultado de los vectores recolectados se tiene que son *Rhipicephalus microplus* es un miembro de la familia *Ixodidae* (garrapatas duras) que anteriormente se conocía a esta garrapata

como *Boophilus microplus*, pero recientemente *Boophilus* se ha convertido en un subgénero del género *Rhipicephalus*<sup>23</sup>.



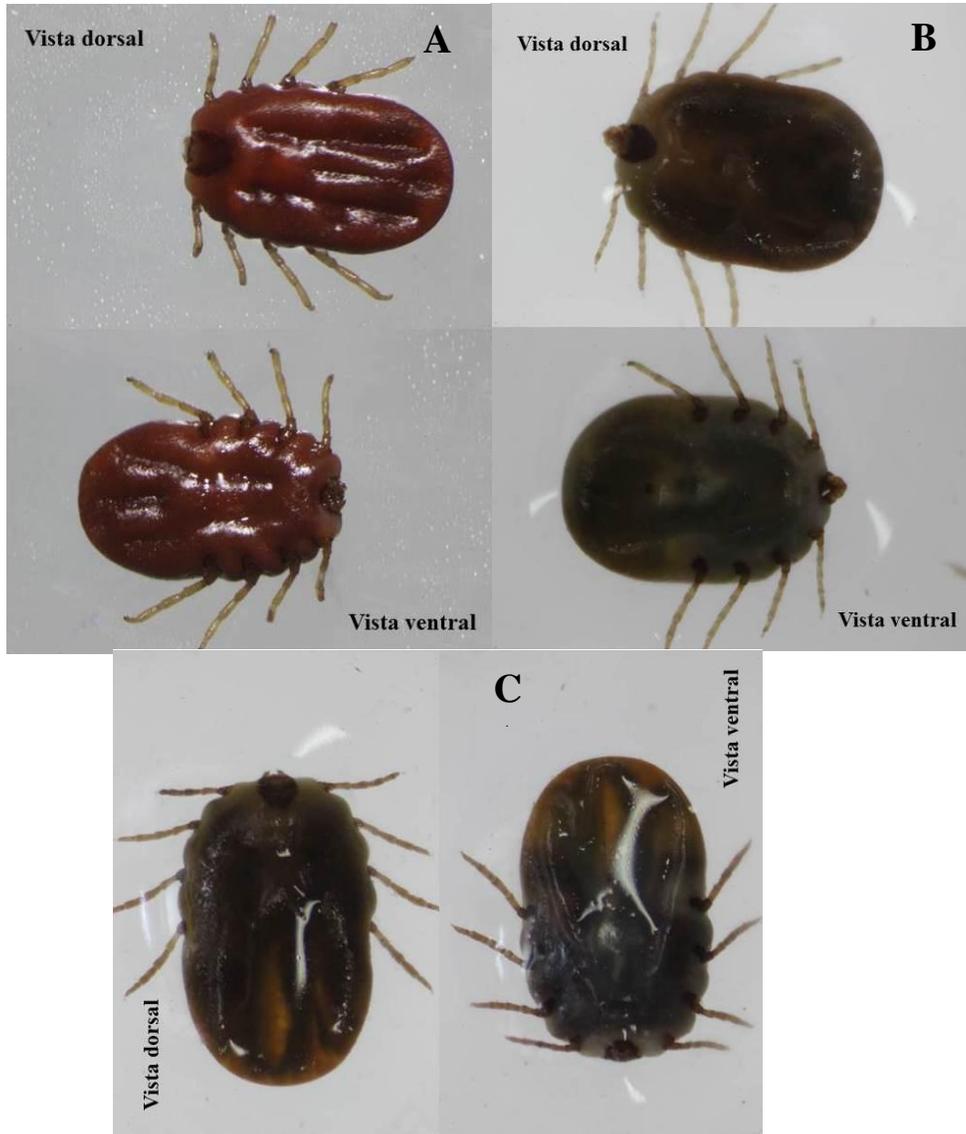
**Imagen 8. Vector recolectado de los bovinos muestreados clasificado como *Rhipicephalus microplus*.**

Los tres grupos de garrapatas encontrados en los bovinos pertenecen a la familia *Ixodidae* o también conocidas como garrapatas duras, dado que poseen **scutum**, que corresponde a una lámina dura en su parte dorsal, lo cual es el principal indicador de esta familia; este **scutum** deja de ser evidenciado en su etapa adulta, los vectores recolectados se encontraban en su mayoría en una etapa de vida adulta ya que presentaban ocho patas y sus genitales eran visibles, el surco anal de estos vectores es poco visible y al observarlos desde la vista dorsal sus ojos están presentes, el **palpi** conocido como la parte de la pieza bucal compuesta de cuatro segmentos, tiende a ser más ancha que larga que es característico del género *Rhipicephalus*, en la parte inferior de la espalda desde la vista dorsal su terminación es lisa no presenta arrugas, lo que marca que es del género *Boophilus*, se tiene como resultados que los vectores recolectados pertenecen a los géneros

*Rhipicephalus* y *Boophilus*<sup>22</sup>, al revisar la literatura se encuentra que *Rhipicephalus microplus* (anteriormente conocida como *Boophilus microplus*) es considerada la garrapata más importante del ganado bovino en Colombia, así como a nivel mundial.



**Imagen 9. Partes de la garrapata *Rhipicephalus microplus*.**

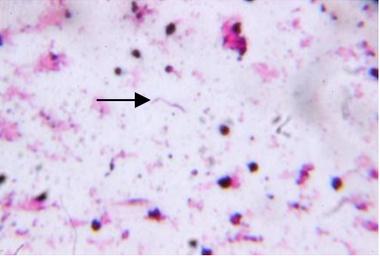
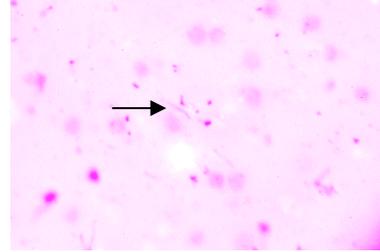
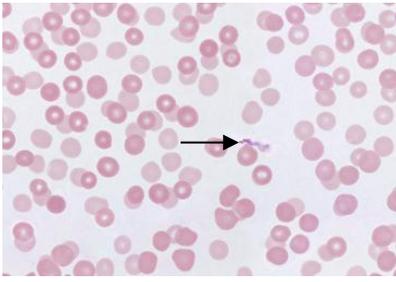
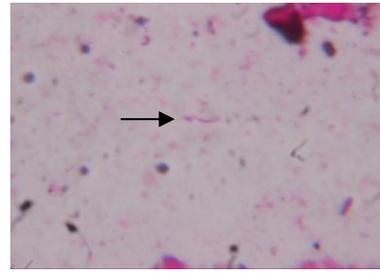


**Imagen 10. Vectores recolectados A. Garrapatas de Guavatá, B. Garrapatas de Sylvania, C. Garrapatas de San Vicente de Chucuri.**

### **5.3 Resultado de los frotis de sangre periférica de los bovinos y extendidos de sangre de los vectores.**

A los FSP de los bovinos se les realizó la coloración de Wright, para observar microscópicamente estructuras similares a la morfología de la espiroqueta estudiada, de igual

forma se realizaron extendidos de la sangre obtenida de los vectores recolectados, las cuales fueron teñidas con colorantes de Wright, Giemsa y Echno-Riv.

Código	FSP de Bovinos	Garrapatas presentes en los bovinos	Extendido de las garrapatas
GU.B5			
SL.B 27			
SV.B 47			

**Tabla 6. Observación de la espiroqueta en frotis de sangre de bovinos y de los vectores encontrados en la población bovina.**

## Discusión

Los propietarios de las fincas que se escogieron para realizar el estudio dieron su consentimiento y colaboraron en el proceso de la toma muestras; la población bovina muestreada corresponde a pequeñas ganaderías con diversidad de razas y no tecnificadas, esta última característica puede generar mayor susceptibilidad a diferentes enfermedades e infestación de ectoparásitos.

La identificación de las poblaciones de bovinos susceptibles, se realizó mediante acercamiento a varias fincas, proceso en el cual se socializó el proyecto con los propietarios, de los cuales aceptaron tres para participar en el estudio, con el compromiso de que se les informara los resultados obtenidos y se tuvieran todos los cuidados al realizar la toma de muestra preservando la salud y bienestar del animal. Las fincas que participaron en el estudio se encuentran en: Sylvania Cundinamarca, cerca de la capital Colombiana, los otros dos lugares Guavatá y San Vicente de Chucurí ubicados en el departamento de Santander, los cuales se encuentran ubicados entre 2, 4 y 8 horas de Bogotá respectivamente. Su ubicación permitió tener tres puntos geográficos con clima similar pero diferentes en topografía, para así observar el comportamiento y adaptación de los vectores.

La prueba inmunológica que se realizó para detectar respuesta la inmunológica contra *Borrelia burgdorferi* se demostró por la presencia de anticuerpos de memoria IgG, el porcentaje total de los resultados positivos fue del 89,6%, la presencia de anticuerpos IgG implica que ha habido contacto entre el bovino y la espiroqueta en algún momento de la vida. En relación con los resultados positivos de acuerdo con la revisión de la literatura, se considera que existe una

verdadera infección desde la dilución 1/64, respaldado por estudios en la prueba inmunológica *Borrelia burgdorferi* IFA IgG Antibody Kit.

La positividad en la dilución 1/512 con un 44,8%, puede estar relacionado con una infección aguda o relativamente reciente, la cual generalmente se acompaña con títulos elevados. Los anticuerpos de clase IgG se desarrollan de la 4<sup>ta</sup> a la 8<sup>va</sup> semana del comienzo de la infección y alcanzan su máximo al cabo de 4 a 6 meses, y permanecen elevados en individuos con infección crónica.<sup>31</sup>

Los resultados positivos en la dilución 1/256, que corresponden al 24.1%, indican que el animal se encuentra en los primeros meses de la infección, donde se está disminuyendo la producción de IgM y aumentando la producción de anticuerpos de memoria; generalmente en esta etapa la infección es subclínica. De otro lado los resultados positivos en la dilución 1/1024, fueron los de menor porcentaje con 20,6%, lo cual equivale a una alta cantidad de anticuerpos de memoria, lo cual denota una infección crónica. Aun cuando se encontró un bajo porcentaje de resultados negativos en los rebaños estudiados, estos animales al convivir con los bovinos infectados, tienen la posibilidad de entrar en contacto con el vector y en pocas semanas o meses podrían encontrarse infectados con este microorganismo.

En Colombia no se encuentran estudios sobre la presencia de dicho microorganismo en bovinos, por esta razón en Colombia no hay una descripción de la sintomatología en esta especie animal, sin embargo, en países como Brasil, España y Estados Unidos,<sup>16,26,30</sup> donde es frecuente esta infección, describen como sintomatología en este hospedero: edema de articulaciones,

pérdida de peso, postración y aborto entre otros síntomas y en éstos mismos estudios se ha demostrado que la detección mediante IFI y ELISA indirecta, es satisfactoria para la detección de anticuerpos contra *B. burgdorferi* en bovinos.<sup>13,16,26,30</sup> De acuerdo con la revisión de los antecedentes de los animales muestreados, no se encuentran datos similares a la sintomatología reportada en los estudios mencionados, sin embargo, se observa una alta incidencia de anemia, la cual se relaciona con la presencia de ectoparásitos.

Por otro lado, en países europeos como Francia donde se realizan importantes estudios epidemiológicos, en la búsqueda de determinar el estado serológico del ganado vacuno con relación a la borreliosis de Lyme, emplean técnicas como inmunofluorescencia indirecta, donde no se busca realizar correlación clínica, si no que se estableció como objetivo la prevalencia serológica sin preocuparse por aspectos clínicos ya que esta es una enfermedad endémica en diferentes países de Europa.<sup>24</sup>

El principal vector que transmite la borrelia encontrado en la literatura son las garrapatas duras del género *Ixodes* donde se encuentran las especies *I. scapularis* e *I. ricinus*. En las áreas donde se realizó el presente estudio no se encontró esta especie la cual no es común en Colombia, sin embargo, el vector que se encontró en los diferentes sitios de muestreo fue la garrapata dura pertenecientes al género *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, que es el artrópodo de mayor prevalencia en bovinos de Colombia, se conoce como garrapata común del ganado y se ha registrado que esta especie por los efectos colaterales del calentamiento global, ha prosperado en varias áreas del país con altitudes superiores a las que puede sobrevivir este vector, lo que sugiere

que se adapta a diferentes condiciones geográficas y por lo tanto se ha propagado en diferentes regiones del país, por ejemplo el altiplano Cundiboyacense. Esto genera preocupación, ya que esta región tiene una gran importancia en la ganadería de leche y al llegar este microorganismo que puede generar problemas en la producción, conlleva a pérdidas económicas, y por lo tanto es importante el oportuno control de esta espiroqueta y su vector.

En cuanto a la visualización en microscopía óptica de las espiroquetas, se encuentra que es un método poco productivo para el diagnóstico de esta enfermedad; la detección del microorganismo en sangre presenta dificultad dado que es una bacteria demasiado delgada, lo cual no permite que la estructura de su pared adquiera una tonalidad fuerte con el colorante, dificultando su visualización haciendo que pase desapercibida o se confunda con un artefacto, además, se requiere una alta bacteremia, que garantice un número representativo de las espiroquetas circulantes para su visualización; algo similar sucede en los extendidos de los vectores. Pese a los aspectos antes mencionados en los frotis realizados tanto en sangre de bovinos como de garrapatas, se encontraron estructuras compatibles con la morfología de la espiroqueta, como se muestra en la tabla número 6.

## Conclusiones

1. La técnica de inmunofluorescencia indirecta IFI demostró ser satisfactoria para la detección de anticuerpos de memoria tipo IgG contra *Borrelia burgdorferi* en los bovinos muestreados en las tres regiones de Colombia seleccionadas: Silvania - Cundinamarca, Guavatá y San Vicente de Chucurí en Santander, demostrando así la presencia de este microorganismo en el ganado Colombiano.
2. La alta seropositividad para *Borrelia burgdorferi* en los bovinos estudiados, indica que hubo contacto previo con el microorganismo y desarrollo de la enfermedad.
3. La mayor seropositividad se encontró en los bovinos de la región de Silvania.
4. Se identificó la garrapata de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* como vector de *Borrelia burgdorferi* diferente al vector descrito en la literatura *Ixodes scapularis* e *Ixodes ricinus*,
5. El vector encontrado en los bovinos, corresponde al género y especie de garrapata más prominente en el país y el único que se encontró en los sitios de toma de muestra.
6. Se corroboró que hubo correlación entre los tres factores que indican enfermedad de Lyme propuestos en el estudio: título de anticuerpos, presencia del vector y visualización de la espiroqueta en sangre.
7. La espiroqueta causante de la enfermedad de Lyme, puede traer como consecuencia pérdidas económicas, por las afectaciones que sufren los bovinos como disminución en la producción de leche, generar abortos espontáneos, transmisión a las crías por el consumo de calostro con espiroquetas y muerte de los animales.

8. Los bovinos que presentaron una mayor infestación de garrapatas, obtuvieron títulos más altos para la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* como se observa en la población de bovinos de Guavatá.

## Sugerencias

Se sugiere ampliar la investigación sobre el tema en futuros estudios para profundizar sobre la presencia de la espiroqueta *Borrelia burgdorferi*, en bovinos de otras regiones de Colombia y las implicaciones que puede traer sobre el sector pecuario y la economía que se deriva de ella, así como la afectación que puede generar en los seres humanos esta zoonosis

## Referencias

1. Miranda J, Mattar S, Perdomo K, Palencia L. Seroprevalencia de Borreliosis, o Enfermedad de Lyme, en una Población Rural Expuesta de Córdoba, Colombia. Rev Salud Pública. 2009;11(3):480-9.
2. Kassis V, Kassis E, Thomsen HK, Hospital H. Erythema chronicum migrans : Afzelius and. 1985;13(4):96-7.
3. GarcíaM, Skinner C, JCSA y JOC. Enfermedad de Lyme. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2014;32(SUPPL.1):37-42.
4. Herrera Lorenzo Orestes, Infante Ferrer José, Ramírez Reyes Carlos, Lavastida Hernández Hugo. Enfermedad de Lyme: historia, microbiología, epizootiología y epidemiología. Rev Cubana Hig Epidemiol [Internet]. 2012 Ago [citado 2018 Abr 07] ; 50( 2 ): 231-244. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-30032012000200012&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032012000200012&lng=es) .
5. Batlle Almodovar M del C, Meneses FOD. Borreliosis de Lyme:Acercamiento a una enfermedad infecciosa emergente. Rev Cubana Hig Epidemiol [Internet]. 1997;vol.35(n.2):54. Disponible en: Cuba.
6. Fajardo M, Fajardo L. La enfermedad de Lyme. 1994;19(1):193-8.
7. Zuluaga Á, Botero F, Herrera WL, Robledo J, Cortés A, Lotero MC. Enfermedad de Lyme: un caso comprobado en Colombia. CES Medicina. 2000;14:44-50.

8. Mccown M, Monterroso V, Cardona W. Monitoreo de Ehrlichia canis, Anaplasma phagocytophilum, Borrelia burgdorferi, and Dirofilaria immitis in Dogs From Three Cities in Colombia. Rev CES. 2015;10:224-31.
9. Escudero-Nieto R, Guerrero-Espejo A. Enfermedades producidas por Borrelia. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2005;23(4):232-40.
10. Wang G, Iyer R, Bittker S, Cooper D, Wormser GP, Schwartz I. Assessment of variations in BSK culture medium on infectivity and pathogenicity of Borrelia burgdorferi clinical isolates. Abstr Gen Meet Am Soc Microbiol. 2004;104(11):196
11. García Zamora O, Carballo Vazque M, Benítez Pérez M. Un posible caso de enfermedad de Lyme. villa clara. 2016;:129-132.
12. Rodríguez González I. Actualización acerca de Borrelia burgdorferi sensu lato y enfermedad de Lyme. Revista Cubana de Medicina Tropica. 2013;:149-166.
13. Wang G, Van Dam AP, Schwartz I, Dankert J. Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: taxonomic, epidemiological, and clinical implications. Clin Microbiol Rev. 1999;12:633-53.)
14. LYME C DE. María Pilar Villanueva Caro Valdivia–Chile. CybertesisUachCl [Internet]. 2009; Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2009/fvv718b/doc/fvv718b.pdf>
15. Barbour AG. Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. Yale J Biol Med. 1984;57(4):521-5.
16. Villaamil E, Epidemiología De “Borrelia Burgdorferi S L” (Enfermedad De Lyme) En Un Ecosistema De Pinar De Montaña Supramediterráneo, Veterinaria FDE. Universidad complutense de madrid. 2002.
17. Navarro García AE. Borreliosis de Lyme: estudio de posibles vectores ixódidos y evaluación de métodos de diagnóstico microbiológico. 2005. 204 p.
18. Montes FJO, Dorado JS, Espinar CP, Ezcurra MAM. Infecciones producidas por borrelias : enfermedad de Lyme y fiebre recurrente Keywords : Medicine (Baltimore) [Internet]. 2014;11(51):3009-17. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-5412\(14\)70731-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-5412(14)70731-0)
19. Murillo R. Enfermedad de Lyme : revisión bibliográfica. Acta académica. 2013;52:353-80.
20. , Rodríguez G, Georgina Y, González R, Fernanda A, et al. LA GARRAPATA COMO FACTOR DE PROPAGACIÓN DE LA ENFERMEDAD DEL LYME. 2016;(6833).
21. Polanco Echeverry DN, Ríos Osorio LA. Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras. Corpoica Cienc y Tecnol Agropecu [Internet]. 2016;17(1):81. Disponible en: <http://revista.corpoica.org.co/index.php/revista/article/view/463>
22. [http://www.animaldisease.org/TICK/TIK/tick-key/hardtck\\_adult.htm](http://www.animaldisease.org/TICK/TIK/tick-key/hardtck_adult.htm)
23. Unidos E, Agropecuaria S. Rhipicephalus ( Boophilus ) microplus Recursos en Internet. Cent Foof Secur Public Heal [Internet]. 2007;1-3. Disponible en: [http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/boophilus\\_microplus-es.pdf](http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/boophilus_microplus-es.pdf)
24. Xavier P. LA MALADIE DE LYME CHEZ LES BOVINS ENQUETE SERO-EPIDEMIOLOGIQUE DANS L’EST DE LA FRANCE. LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL; 2004.
25. Cabannes A, Hernandez J, Lucchese F, Appriou M, Tribouley-Duret J. Borréliose de Lyme dans le cheptel bovin et ovin du département de la Gironde. Médecine et Maladies

- Infectieuses. 1997;27(11):878-883.
26. ISHIKAWA M. EPIDEMIOLOGIA DA BORRELIOSE DE LYME EM BOVINOS NAREGIÃO SUDESTE DO BRASIL E PADRONIZAÇÃO DODIAGNÓSTICO SOROLÓGICO. UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO.
  27. Pulido L, Rudas A, Betancourt J, Grant W, Vilchez S. Distribución inusual y potencial de la garrapata común del ganado, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, en zonas tropicales de alta montaña de los Andes colombianos. *Biota Colomb* [Internet]. 2015;10(1):179-207. Disponible en: <http://www.siac.net.co/biota/handle/123456789/274>
  28. Silvania MDE. ALCALDE DOCTOR: WILLIAM MAHECHA SASIPA ORGANIZACIÓN PARA EL DESARROLLO HUMANO Mayo de 2012. 2015;(6). D
  29. Del M, Maroto C, Fernández JG. Diagnóstico de laboratorio de la infección por *Borrelia burgdorferi*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1996;
  30. Portillo A, Santibáñez S, Oteo J. Enfermedad de Lyme. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2014;32:37-42.
  31. Craft J, Fischer D, Shimamoto G, Steere 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. *Journal of Clinical Investigation*. 1986;78(4):934-939.

## **Anexos**

### **Anexo A**

#### **FORMATO DE ACEPTACIÓN PARA LA TOMA DE MUESTRA**

Nombre del propietario\_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

Ubicación\_\_\_\_\_

Nº de animales muestreados\_\_\_\_\_

Se llevará a cabo la toma de muestra sanguínea (tubos tapa lila y amarilla) bovina de la vena coccígea, ya que tiene un buen flujo sanguíneo, de fácil acceso y es indolora para el animal. Este muestreo se realiza con el propósito de identificar el microorganismo *Borrelia burgdorferi* responsable de la enfermedad de Lyme.

La toma de la muestra no presenta riesgos. Para garantizar la seguridad del bovino, se efectuará por personal sanitario capacitado a cargo de un médico veterinario.

Los investigadores a cargo del estudio se comprometen a socializar a los propietarios los resultados que se obtengan.

\_\_\_\_\_

Firma de propietario

\_\_\_\_\_

Responsable de la toma de muestra

## Anexo B

### FORMATO DE ACEPTACIÓN PARA LA TOMA DE MUESTRA

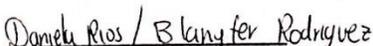
Nombre del Propietario Ferrel Rodriguez Fecha 04-09-2017  
Ubicación Guanatú - Santander  
Nº de animales muestreados 20

Se llevará a cabo la toma de muestra sanguínea (tubos tapa lila y amarilla) bovina de la vena coccígea, ya que tiene un buen flujo sanguíneo, de fácil acceso y es indolora para el animal. Este muestreo se realiza con el propósito de identificar el microorganismo *Borrelia burgdorferi* responsable de la enfermedad de Lyme.

La toma de la muestra no presenta riesgos. Para garantizar la seguridad del bovino, se efectuará por personal sanitario capacitado a cargo de un médico veterinario.

Los investigadores a cargo del estudio se comprometen a socializar a los propietarios los resultados que se obtengan.

  
Firma de propietario

  
Responsable de la toma de muestra

**Anexo C**



