



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

## FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

Frecuencia de infección de *Borrelia burgdorferi* en garrapatas recolectadas sobre perros provenientes de los estados de Chihuahua, Nuevo León, Yucatán y Campeche.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**LICENCIADA EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA**

P R E S E N T A:

ANA LAURA EUSEBIO RAFAEL

ASESORES:

M. EN C. JUAN PABLO MARTÍNEZ LABAT

DRA. EN C. MARÍA GUADALUPE GORDILLO PÉREZ

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis.**

Frecuencia de infección de *Borrelia burgdorferi* en garrapatas recolectadas sobre perros provenientes de los estados de Chihuahua, Nuevo León, Yucatán y Campeche.

Que presenta la pasante: **Ana Laura Eusebio Rafael**

Con número de cuenta: **309138929** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 19 de Enero de 2018.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	M. en C. Juan Pablo Martínez Labat	
<b>VOCAL</b>	M. V.Z. Gabriela Fuentes Cervantes	
<b>SECRETARIO</b>	M. en C. Raquel María del Refugio Tapia Romero	
<b>1er. SUPLENTE</b>	M. en C. Socorro Sandra Martínez Robles	
<b>2do. SUPLENTE</b>	Dr. Jorge Luis de la Rosa Arana	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

Dedico el presente trabajo a mi madre porque en mis años maravillosos, cuando acudía a la escuela primaria y el tiempo me quedaba corto, ella me llevaba en taxi; de no haber sido así tal vez hoy no estaría donde estoy ahora. Ese gesto fue, es y será una muestra de amor incondicional.

A mi padre por trabajar día a día bajo el ardiente sol para que yo pudiera estudiar, por no pedirme las boletas de calificaciones pero sí hacerme la pregunta “¿cómo vas en la escuela?”, ya fuera primaria o universidad, y yo poder responder gustosamente “voy bien” con una sonrisa en la cara.

A mis sobrinos por mirarme en la senda que voy, por tomarme como ejemplo y hacerme querer ser una mejor persona.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM por permitir mi desarrollo personal y académico.

A las personas que creyeron en mí y también a aquellas que deseaban mi fracaso.

*De la vida no quiero mucho.  
Quiero apenas saber que intenté lo que quise,  
tuve lo que pude,  
amé lo que valía la pena  
y perdí apenas lo que nunca fue mío.*

*-Pablo Neruda*

## **AGRADECIMIENTOS.**

Por la vida que se me otorgó y la oportunidad de elegir la profesión que me apasiona.

Agradezco a mi familia por no premiarme por las buenas calificaciones que obtuve en su mayoría porque así aprendí a no hacer las cosas del mejor modo posible para obtener una recompensa sino a hacerlas bien porque así deben estar hechas.

Gracias, Carlos, por comprender que el camino de la ciencia es difícil, extenuante y a veces demasiado agobiante. Por quedarte aunque yo no estuviera y por tocar mi corazón y permanecer de tal modo que nadie más nunca ha hecho y/o estado. Por enseñarme que el talento es opacado por el esfuerzo y perseverancia y por permitirme ser quien soy sin ataduras ni máscaras.

Doy gracias a mis amigos, los que se fueron y los que aún están conmigo, en especial a Erika por apoyarme y creer en mí aun cuando ni siquiera yo lo hacía y por ser mi ejemplo en el mundo lleno de adversidades; y a Monse por mostrarme que uno puede hacer las cosas aunque todos estén en tu contra y por llevarme aquella tarde de marzo a entrenar con el equipo de tocho, por no dejarme correr sola, por enseñarme que tengo la fuerza física y mental y por traer a mi vida un deporte que disfruto demasiado y que me ha enseñado a crecer como persona.

A mis coaches por confiar en mis habilidades y hacerme descubrir que puedo hacerlo aunque todo esté en contra mía.

Agradezco profundamente a mis profesores de todos los grados y materias por guiarme en el camino del saber, por alimentar mi hambre de sabiduría y poner en mí una semilla de conocimientos.

Gracias a la doctora María Guadalupe Gordillo Pérez por poner agua a esa semilla que hay en mi alma y que ahora se encuentra brotando. Del mismo modo al maestro Juan Pablo Martínez Labat por mostrarme el fascinante mundo de la parasitología.

Finalmente quiero agradecer a Alejandro Angel por tomar mi mano aquellos días de diciembre y por seguir apreciándome después de varios años de ausencia en los que la persona que solía ser ya no es más. Asimismo por mostrarme que cada día puedo aprender más del mundo que me rodea y que hay cosas que aunque sean creaciones humanas sencillas merecen ser vistas.

Hoy me encuentro parada a la mitad del camino, más grande que ayer pero aún más pequeña que mañana; creciendo de poco en poco, un paso a la vez para llegar a ser en un futuro la mujer que pueda guardar en su bolsillo izquierdo a la mujer que soy ahora.

*La mente es como un paracaídas,*

*sólo funciona si se abre.*

*-Albert Einstein*

El presente trabajo se desarrolló en su totalidad en el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas Emergentes, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias (UIMEIP), Unidad de Alta Especialidad Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) bajo la supervisión de la Doctora en Ciencias María Guadalupe Gordillo Pérez.

Proyecto financiado por FONDO DE INVESTIGACION EN SALUD:

IMSS G13/1192.

## ÍNDICE

Abreviaturas.....	III
Índice de figuras.....	III
Índice de tablas.....	IV
Glosario.....	V
Resumen.....	VII
1 Justificación .....	1
2 Introducción .....	2
2.1 Antecedentes. ....	3
2.2 Agente etiológico: <i>Borrelia burgdorferi</i> .....	4
2.2.1 Características morfológicas.....	8
2.2.2 Mecanismo de infección.....	9
2.3 Epidemiología.....	11
2.3.1 Factores de riesgo en humanos .....	15
2.4 Vector. ....	16
2.4.1 Clasificación de las garrapatas .....	17
2.4.2 Características generales de las garrapatas duras.....	18
2.4.3 Ciclo de vida de la garrapata. ....	25
2.4.4 La garrapata del género <i>Ixodes</i> como vector competente. ....	28
2.5 Transmisión de <i>Borrelia burgdorferi</i> . ....	30
2.5.1 Coinfecciones .....	32
2.6 Manifestaciones clínicas de la enfermedad de Lyme.....	32
2.6.1 Patogenia de la enfermedad de Lyme.....	38
2.7 Diagnóstico.....	40

2.8 Tratamiento .....	42
2.9 Medidas preventivas .....	43
2.10 Otros hospedadores. ....	44
3 Pregunta de investigación.....	45
4 Objetivo general: .....	45
5 Objetivos particulares.....	45
6 Metodología: .....	46
7 Resultados.....	49
8 Discusión .....	58
9 Conclusiones.....	63
10 Perspectivas.....	64
11 Referencias.....	65

## ABREVIATURAS

- \* **ADN:** Ácido desoxirribonucleico.
- \* **CDC:** Centers for Disease Control and Prevention.
- \* **EM:** Eritema migrans.
- \* **EL:** Enfermedad de Lyme
- \* **EUA:** Estados Unidos de América.
- \* **LCR:** Líquido cefalorraquídeo.
- \* **PCR:** Polymerase chain reaction (reacción en cadena de polimerasa).

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de <i>Borrelia burgdorferi</i> .	5
Figura 2. Morfología de <i>Borrelia burgdorferi</i> .	8
Figura 3. Comparación de la distribución geográfica de los casos reportados de Enfermedad de Lyme en EUA en los años 2003 y 2013.	12
Figura 4. Morfología de una garrapata dura hembra.	19
Figura 5. Comparación de la base del capítulo de ixódidos.	20
Figura 6. Algunas características morfológicas para la identificación de <i>Ixodes</i> .	21
Figura 7. <i>Ixodes affinis</i> , vista dorsal y ventral de macho y hembra.	22
Figura 8. Actividad de los estados de vida de <i>Ixodes</i> .	25
Figura 9. Ciclo enzoótico de <i>Borrelia burgdorferi</i> .	26
Figura 10. Ciclo de vida de <i>Ixodes scapularis</i> .	27
Figura 11. Distribución geográfica reportada de las garrapatas <i>Ixodes</i> .	29
Figura 12. Representación de la adquisición y transmisión de un patógeno a través de garrapatas.	31
Figura 13. Paciente con Eritema migrans.	34
Figura 14. Paciente con linfocitoma borrelial.	34
Figura 15. Paciente con parálisis facial.	35
Figura 16. Caso de artritis en rodilla izquierda.	36
Figura 17. Acrodermatitis crónica atrófica.	36
Figura 18. Zonas de recolección de garrapatas sobre perros.	47
Figura 19. Garrapata identificada como <i>Ixodes scapularis</i> (UIMEIP).	48

Figura 20. Electroforesis en gel de agarosa del gen <i>OspA</i> de <i>B.burgdorferi</i> .	51
Figura 21. Electroforesis en gel de agarosa del gen <i>fla</i> de <i>Borrelia burgdorferi</i> .	51
Figura 22. Electroforesis en gel de agarosa para evaluar la integridad del ADN.	52
Figura 23. Alineamiento de la secuencia del gen <i>OspA</i> amplificado del DNA garrapata de la garrapata <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .	56
Figura 24. Alineamiento de la secuencia del gene <i>OspA</i> amplificado del DNA de garrapata <i>Ixodes affinis</i> .	57

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N. 1 <i>Borrelia burgdorferi sensu stricto</i> y genopecies de <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> más comunes, distribución geográfica, vectores potenciales y reservorios principales.	7
Tabla N. 2 . Incidencia de enfermedad de Lyme por cada 100 000 habitantes de acuerdo a la zona de residencia.	13
Tabla N. 3 Clasificación taxonómica de las garrapatas.	17
Tabla N. 4. Resultados. Frecuencia de infección de <i>Borrelia burgdorferi</i> en garrapatas de 4 estados de la República Mexicana.	53
Tabla N. 5. Resultados de PCR por género de garrapatas de acuerdo a las localidades de Campeche.	54
Tabla N. 6. Resultados. PCR realizada en sangre periférica obtenida de los perros parasitados.	55

## GLOSARIO

- \* **Escudo:** Placa dorsal muy esclerotizada, de posición posterior al gnatosoma en las garrapatas duras. Cubre casi por completo la superficie dorsal del idiosoma del macho, y aproximadamente la mitad de la superficie en la hembra poco repleta.
- \* **Festones:** Áreas quitinizadas rectangulares uniformes, separadas por surcos, que se localizan en el borde posterior del idiosoma de muchos géneros de garrapatas duras, tanto en machos como en hembras. Según el género varían en número de 7 a 11.
- \* **Genotipo:** Constitución genética completa de un individuo o grupo
- \* **Gnatosoma:** Porción anterior y móvil de las garrapatas duras que incluye la base del gnatosoma, palpos, hipostoma y quelíceros
- \* **Hipostoma:** Estructura que forma parte del gnatosoma, localizado ventralmente y en el que se asientan los dientes. puede ser en forma de mazo o de punta de flecha.
- \* **Hospedador:** Organismo que provee de nutrientes y/o albergue a otro organismo en diversas asociaciones biológicas.
- \* **Hospedador accidental:** Es un hospedador que no se haya involucrado habitualmente en el ciclo natural de una parasitosis.
- \* **Orificio anal:** Abertura por la cual se desechan los productos finales de la digestión. Se sitúa ventralmente sobre la línea media y posterior al último par de patas de las garrapatas.
- \* **Orificio genital:** Abertura externa de los órganos sexuales, presentes sólo en el estadio adulto de machos y hembras, ausente en el estadio ninfal y larvario. En los machos de la familia Ixodidae tiene forma de ranura, y en las hembras de la misma familia su forma generalmente es de "U".
- \* **Ornamentos:** Dibujos o estructuras que se localizan sobre la superficie del escudo o tegumento.

- \* **Placas adanales:** Estructuras quitinosas y alargadas, situadas en porción posterior y ventral del idiosoma a los lados del orificio anal.
- \* **Parásito:** organismo que vive en o sobre un hospedador, adquiere de él sus nutrientes durante una parte o toda su vida. Causa daño de diferente grado.
- \* **Palpos:** Estructuras que forman parte del gnatosoma. Están en número par y articulados. Se localizan a los lados del hipostoma y quelíceros.
- \* **Placa estigmal o estigma:** Órganos respiratorios en número par. Localizados a los lados en la superficie del cuerpo de las garrapatas y atrás del último par de coxas en los ixódidos. Están presentes en los estados ninfa y adulto. Su forma puede ser oval, redonda o en forma de coma.
- \* **Quelíceros:** Estructuras pares de situación dorsal al hipostoma. Sirven para cortar la piel del hospedador y como órganos de fijación.
- \* **Surco anal:** Se presenta en toda la familia ixodidae. Situado posterior al ano a excepción del género *Ixodes* en el que es preanal.
- \* **Tegumento:** La cubierta más externa, llamada también cutícula, del cuerpo de las garrapatas.
- \* **Vector:** Generalmente un artrópodo que transfiere un agente infeccioso de un hospedador a otro.
- \* **Vector competente:** vector que tiene la capacidad de albergar y transmitir patógenos a un hospedador.
- \* **Vector potencial:** vector que puede albergar un agente patógeno pero no se ha comprobado que tenga la capacidad de transmitirlo a un hospedador.

## RESUMEN

La borreliosis de Lyme es la enfermedad más común en Norte América transmitida por la mordedura de garrapatas *Ixodes* infectadas con *Borrelia burgdorferi*. El diagnóstico es difícil debido al cuadro clínico que presenta. **Objetivo:** Determinar la frecuencia de infección de *Borrelia burgdorferi* en garrapatas recolectadas sobre perros provenientes de los estados de Chihuahua, Nuevo León, Yucatán y Campeche utilizando PCR. **Material y Métodos:** Estudio trasversal descriptivo. Se incluyeron 283 garrapatas identificadas con claves taxonómicas, se extrajo DNA utilizando el kit comercial QIAamp tissue kit Qiagen®, se realizó PCR amplificando los genes *OspA* (Outer Surface Protein A) y *fla* (flagelina) de *Borrelia burgdorferi*. Se secuenciaron dos muestras positivas (*Ixodes*). **Resultados:** La frecuencia global de positividad a *Borrelia burgdorferi* fue de 18.86% (15/283). Particularmente en Chihuahua se encontraron 4 garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* positivas a *Borrelia burgdorferi* de 28 garrapatas colectadas; en Nuevo León se encontraron 4 *Rhipicephalus sanguineus* y 1 *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* positivas de 143 garrapatas colectadas. En Campeche se detectaron 1 *Ixodes affinis* y 1 *Ixodes* spp positivas de 18 garrapatas; en Yucatán se encontraron 4 *Rhipicephalus sanguineus* positivas de 94 colectadas. Las dos muestras secuenciadas mostraron una homología del 99% a la geno especie de *B. burgdorferi sensu stricto*. **Conclusiones:** Se confirma a *Borrelia burgdorferi* en un ciclo peridoméstico. *R. sanguineus* se pueden considerar vector potencial. La presencia de *Borrelia burgdorferi* en garrapatas sugiere que la población tiene alto riesgo de adquirir la enfermedad de Lyme. En estudios futuros se sugiere 1) analizar la capacidad de los vectores potenciales para transmitir la espiroqueta hacia el hospedador; 2) detectar mutaciones presentes en ADN de *B. burgdorferi* obtenidas de garrapatas mediante secuenciación, y 3) coleccionar más muestras para calcular la frecuencia de infección en éstas zonas.

## **1 Justificación.**

La enfermedad de Lyme (EL), al ser emergente en México, es poco conocida; la información que brindan las autoridades sanitarias es escasa, incluso la norma regulatoria en torno a las enfermedades transmitidas por vectores no la incluye como una enfermedad existente en México. Se ha encontrado que en Estados Unidos de América (EUA) y Europa más del 90% de las infecciones transmitidas por garrapatas se tratan de enfermedad de Lyme (Gordillo & Solórzano, 2011).

La complejidad de *Borrelia burgdorferi* y el poco conocimiento de la enfermedad convierten a este padecimiento en un problema importante de salud. El cuadro clínico es muy variado y fácil de confundir por lo que el diagnóstico puede ser errado en la mayoría de las ocasiones y por ende el tratamiento que se da al paciente no es el adecuado, favoreciendo la evolución de la enfermedad a la forma crónica.

Si bien, la enfermedad no es mortal, es incapacitante y afecta en gran medida la calidad de vida de los pacientes.

Si a esto agregamos la cercanía geográfica entre México y EUA, la presencia del vector en nuestro país y la migración de aves parasitadas e infectadas provenientes de Canadá y EUA, aumenta el riesgo de infección ya que el agente etiológico podría diseminarse en mayor medida y afectar a los hospedadores de todo tipo, incluyendo al humano.

Se debe alertar a las autoridades sanitarias para tomar medidas preventivas y concientizar a las personas sobre este problema que está afectando a los habitantes mexicanos ya que se han reportado casos desde 1999 (Gordillo & Solórzano. 2011).

Este trabajo se ha realizado para obtener datos que puedan ayudar a dar un panorama general sobre la presencia de *Borrelia burgdorferi* en garrapatas de México y evaluar el riesgo de exposición que puede tener la población mexicana a infectarse por lo que se busca calcular la frecuencia de infección de *B. burgdorferi* en garrapatas colectadas sobre perros de áreas urbanas de Chihuahua, Nuevo León, un área rural de Yucatán y un área suburbana Campeche.

## **2 Introducción.**

La enfermedad de Lyme (EL), también llamada borreliosis de Lyme, es una afección multisistémica de distribución universal. Es la enfermedad más común que se transmite por la mordedura de garrapatas infectadas con la bacteria *Borrelia burgdorferi* (orden *Spirochaetales*). El vector competente es *Ixodes scapularis* en Norte América. El humano es considerado como un hospedador accidental.

Una vez que la bacteria entra al organismo vertebrado y prolifera, puede diseminarse por vía hematogena si no se da el tratamiento adecuado a tiempo.

El desarrollo de la enfermedad y la patogenicidad están relacionadas con el genotipo de la bacteria, la especie de la garrapata, la respuesta inmune del hospedador, los mecanismos de evasión de la respuesta inmune de la bacteria y las proteínas expresadas por la bacteria al momento de la invasión y diseminación (Petzke & Schwartz, 2015).

Esta enfermedad implica un efecto debilitante en el paciente y el cuadro clínico que presenta es impreciso, afectando piel, corazón, articulaciones y sistema nervioso (Toledo, *et. al.*, 20014).

Ha llegado a sugerirse que la espiroqueta podría encontrarse en tracto genital y por lo tanto transmitirse por contacto directo sin la necesidad del vector (Stricker & Middelveen, 2015). La importancia sanitaria que tiene la enfermedad aumenta ya que se convierte en un padecimiento de curso crónico y con mayor capacidad de diseminación; aunque en otros estudios se ha descartado la posibilidad de transmisión a través de contacto sexual, semen, orina o leche materna. Se han documentado casos esporádicos en los cuales ha habido aborto espontáneo en mujeres infectadas aunque también se ha reportado la presencia de la espiroqueta en placentas de mujeres que no han tenido ninguna complicación en el periodo de gestación (Meal, 2015).

La enfermedad se diagnostica con base en pruebas microbiológicas, serológicas y de biología molecular; asimismo, considerando la historia clínica en donde se debe tomar en cuenta la posibilidad de exposición a garrapatas, los síntomas presentados y hallazgos físicos como el eritema migrans (EM).

Los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) estiman que aproximadamente 300,000 personas de la población estadounidense son diagnosticadas con enfermedad de Lyme por año; sin embargo, los casos presentados se concentran principalmente en el noreste y medio oeste de EUA. En Europa se estima que cerca de 85 000 casos ocurren anualmente (Johnson, Wilcox, Mankoff & Stricker, 2014).

## **2.1 Antecedentes.**

La enfermedad de Lyme (EL) fue descrita por primera vez en 1970 en Old Lyme, Connecticut y se asoció a artritis juvenil. (Schotthoefer & Frost, 2015).

Willy Burgdorfer en colaboración con Alan G. Barbour, Stanley F. Hayes, Jorge L. Benach, Edgar Grunwaldt y Jeffrey P. Davis (1982) lograron aislar

una espiroqueta que había sido identificada en garrapatas *Ixodes* que se encontraban en ciervos, después se supo que esta bacteria era la causante de la EL y se le llamó *Borrelia burgdorferi*.

El humano es un hospedador accidental y se infecta cuando la garrapata se alimenta de él, causando un cuadro clínico inicial inespecífico.

Se ha referido el deceso de 0.6% de la población humana con borreliosis de Lyme en el periodo comprendido entre 1995 a 2013 de un total de 120 000 pacientes (Mead, 2015).

Aunque la enfermedad no es mortal sí resulta ser incapacitante para la mayoría de los pacientes; también se debe considerar que no todos los casos de EL han sido reportados o se han confundido con algún otro padecimiento, por lo que los datos encontrados pueden estar subestimados.

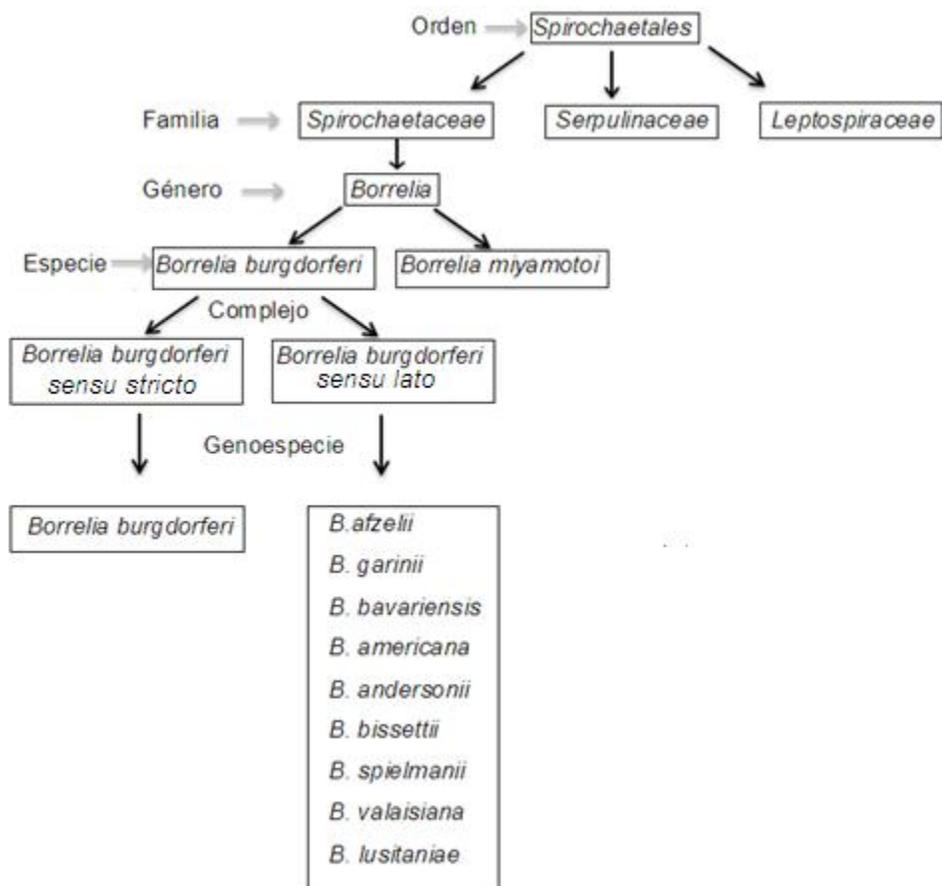
A principios de 1990 se reportaron casos sugestivos en México, específicamente en Sinaloa y Nuevo León pero no hubo confirmación alguna (Gordillo-Pérez *et al.*, 2003).

## **2.2 Agente etiológico: *Borrelia burgdorferi***

El agente etiológico pertenece al orden *Spirochaetales* que comprende a las familias *Spirochaetaceae*, *Serpulinaceae* y *Leptospiraceae*; *Borrelia* se encuentra dentro de la primera.

Existen dos grupos de *Borrelia*: por un lado se encuentra *Borrelia burgdorferi* causante de la enfermedad de Lyme, que se divide a su vez en *Borrelia burgdorferi sensu stricto* y *Borrelia burgdorferi sensu lato*; y el grupo de *Borrelia* que causa fiebre recurrente donde el agente causal es *Borrelia miyamotoi* principalmente. Ambos grupos producen cuadros clínicos diferentes (Figura 1) (Cutler *et al.*, 2017). Se descubrió que en Europa el agente etiológico de la enfermedad de Lyme era genotípicamente diferente al

de EUA por lo que se decidió que todas las genoespecies nuevas se agruparían en el complejo *Borrelia burgdorferi sensu lato*, mientras que en el complejo *Borrelia burgdorferi sensu stricto* agruparía únicamente a la primera genoespecie descubierta en EUA (Figura 1) (Borchers, Keen, Huntley & Gershwin, 2015)



**Figura 1.** Clasificación de *Borrelia burgdorferi*. Se incluyen únicamente las genoespecies patógenas para el humano.

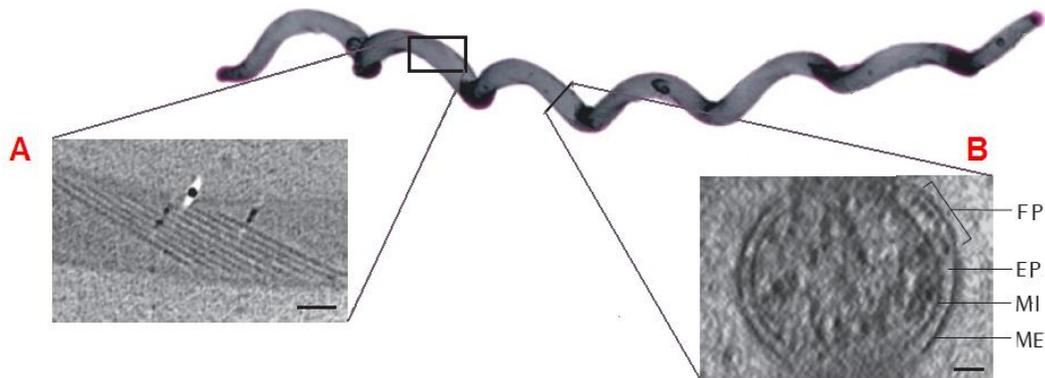
El complejo *Borrelia burgdorferi sensu lato* agrupa 9 genoespecies patógenas para el humano y su distribución es diversa (Tabla N. 1) (Stricker & Middelveen, 2015), de tal modo que en Europa las genoespecies causantes de EL son *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, *B. burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia spielmanii* y *Borrelia bavariensis* se ha reportado *B. bissettii* en LCR de pacientes con EL confirmado; mientras que para Norte América se han identificado 3 especies en pacientes: *Borrelia bissettii*, *Borrelia lusitaniae* y *Borrelia valaisiana* (Stanek, Wormser Gray & Strle, 2012) además de *B. americana* y *B. andersonii* (Borchers *et al.*, 2015).

**Tabla N. 1** *Borrelia burgdorferi sensu stricto* y genosepecies de *Borrelia burgdorferi sensu lato* más comunes, distribución geográfica, vectores potenciales y reservorios principales (Schotthoefer y Frost, 2015).

<b>sensu lato Species</b>	<b>Pathogenic to Humans?</b>	<b>Geographic Distribution</b>	<b>Vectors</b>	<b>Primary Reservoirs</b>
<i>B burgdorferi sensu stricto</i>	Yes	US, Europe	<i>Ixodes scapularis, I pacificus, I ricinus</i>	Rodents, birds
<i>B afzelii</i>	Yes	Europe, Asia	<i>I ricinus, I persulcatus</i>	Rodents
<i>B garinii</i>	Yes	Europe, Asia	<i>I ricinus, I persulcatus</i>	Birds, rodents
<i>B bavariensis</i>	Yes	Europe, Asia	<i>I ricinus, I persulcatus</i>	Rodents
<i>B americana</i>	Cases reported	US	<i>I pacificus, I minor</i>	Birds
<i>B andersonii</i>	Cases reported	US	<i>I dentatus</i>	Cotton tail rabbit
<i>B bissettii</i>	Cases reported	US, Europe	<i>I scapularis, I pacificus, I ricinus, I minor</i>	Birds, rodents
<i>B spielmanii</i>	Cases reported	Europe	<i>I ricinus</i>	Rodents
<i>B valaisiana</i>	Cases reported	Europe, Asia	<i>I ricinus, I granulatus</i>	Birds
<i>B lusitaniae</i>	Cases reported	Europe, North Africa	<i>I ricinus</i>	Rodents
<i>B californiensis</i>	No evidence to date	US	<i>I pacificus, I jellisonii, I spinipalpis</i>	Kangaroo rat, mule deer
<i>B carolinensis</i>	No evidence to date	US	<i>I minor</i>	Rodents
<i>B kurtenbachii</i>	No evidence to date	US, Europe	<i>I scapulatus</i>	Rodents
<i>B finlandensis</i>	No evidence to date	Finland	<i>I ricinus</i>	Unknown
<i>B sinica</i>	No evidence to date	China	<i>I ovatus</i>	Rodents
<i>B yangtze</i>	No evidence to date	China, Japan	<i>Haemaphysalis longicornis, I granulatus</i>	Rodents, shrews
<i>B japonica</i>	No evidence to date	Japan	<i>I ovatus</i>	Rodents
<i>B tanukii</i>	No evidence to date	Japan	<i>I tanuki</i>	Unknown
<i>B turdi</i>	No evidence to date	Japan	<i>I turdus</i>	Birds

## 2.2.1 Características morfológicas.

*Borrelia* pertenece al phylum de las espiroquetas, mide de 10-30  $\mu\text{m}$  de longitud y de diámetro de 0.18 a 0.5  $\mu\text{m}$ . Posee una membrana externa que rodea al periplasma y tiene de 7 a 11 flagelos aunque se han descrito hasta 26 (Figura 2). Es una bacteria Gram negativa móvil con forma helicoidal. (Acha & Szyfres, 2001).



**Figura 2** Morfología de *Borrelia burgdorferi*. A) 9 flagelos periplasmáticos. B)

FP: Flagelo periplasmático; EP: espacio periplasmático; MI: membrana interna; ME: membrana externa. (Modificada de Radolf, Caimano, Stevenson, & Hu, 2012).

*Borrelia burgdorferi* es una espiroqueta compleja ya que contiene 132 genes funcionales, 1 cromosoma lineal y 21 plásmidos de los cuales 12 son lineales y 9 son circulares (Borchers *et al.*, 2015), por lo cual se cree que ésta bacteria tiene un alto nivel de adaptación en el hospedador y se le ha encontrado en diversos tejidos como piel, corazón y articulaciones principalmente incluso varios meses después del tratamiento (Perronne, 2015).

## 2.2.2 Mecanismo de infección

No se ha encontrado que *Borrelia burgdorferi* produzca toxinas conocidas y por ello al parecer el daño que provoca en el hospedador es por la misma respuesta inmune del individuo en cuestión inducida por la espiroqueta.

La espiroqueta puede adaptarse tanto a los vectores como a vertebrados debido a una variedad de mecanismos, por ejemplo, la capacidad que posee de regulación de proteínas de superficie. Asimismo contiene poco más de 19 proteínas de superficie que se unen a células del hospedador, a componentes de la matriz extracelular o a factores del complemento

La espiroqueta tiene varias lipoproteínas localizadas en su superficie a las cuales se les ha denominado como Outer Surface Proteins (Osp) y las hay desde el tipo A hasta el F; dichas Osp favorecen su transferencia del vector al hospedador vertebrado.

En el intestino de la garrapata la proteína que es expresada por *Borrelia burgdorferi* en mayor medida es OspA, la cual es necesaria para que pueda adherirse al sitio a través de su unión con el receptor conocido como “tick receptor for outer surface protein” (TROSPA por sus siglas en inglés) ubicado en el epitelio del intestino medio de la garrapata (Urbanowicz, Lewandowski, Szpotkowski & Figlerowicz, 2016). Una vez que la garrapata ha comenzado a alimentarse del hospedador sucede el cambio de expresión de proteínas debido a factores como el pH y el cambio de temperatura, por lo que deja de expresar OspA y ahora expresará la proteína de membrana OspC para que la bacteria pueda migrar desde el intestino mediante la hemolinfa hacia las glándulas salivales de la garrapata (Borchers *et al.*, 2015). La proteína OspA no desempeña función alguna en el vertebrado. La OspC se une a una proteína salival secretada por la garrapata denominada Salp15. Dicha proteína protege a la bacteria de las respuestas inmunes mediadas por

anticuerpos y por el complemento, promoviendo de este modo la replicación en la piel del hospedador y dando lugar, en algunos casos, al EM (Simo, Kazimirova, Richardosn & Bonnet, 2017). La saliva de la garrapata también contiene antihistamínicos, antiinflamatorios y otras sustancias que favorecen la vasodilatación, Posteriormente se une al plasminógeno y es así que sobrevive en el torrente sanguíneo. (Caine & Coburn. 2016)

Adicionalmente *Borrelia burgdorferi* cuenta con una molécula similar a una proteína de membrana denominada Vls que le ayuda a mimetizarse y evita ser identificada por la respuesta inmune del hospedador (Radolf *et al.*, 2012).

Debido a la complejidad de la bacteria muy pocas proteínas han sido descritas en la infección de mamíferos (Caine & Coburn. 2016).

De igual modo, la bacteria tiene la capacidad de producir un biofilm o cambiar de una forma móvil a una forma inmóvil parecida a quistes cuando se somete a condiciones hostiles con la finalidad de sobrevivir en el organismo vertebrado infectado aunque esto se ha observado solo *in vitro*.

El biofilm bacteriano puede ser inducido principalmente por un pH y temperaturas inadecuadas, además de altas concentraciones de oxígeno. La finalidad de esto es ayudar a la proliferación y diseminación de la espiroqueta. También dificulta la fagocitosis, teniendo como consecuencia favorecer el desarrollo del estado crónico de la enfermedad.

La formación de estructuras semejantes a quistes sucede *in vitro* cuando la bacteria es sometida a privación de nutrientes, un pH elevado o temperaturas adversas. Estas formas son reversibles (Sapi *et al.*, 2012)

Al desarrollo de estas formas quísticas se les ha adjudicado la resistencia a antibióticos y síndrome post-tratamiento de la enfermedad de Lyme (PTLD por sus siglas en inglés) (Borchers *et al.*, 2015).

## 2.3 Epidemiología.

Se ha reportado la presencia de EL en Europa y Asia, además de EUA. En la actualidad la EL es conocida en Europa y Norte América como el padecimiento más común transmitido por garrapatas.

Entre 1995 y 2013 los casos confirmados han aumentado en EUA en un 130% de 11,700 a 27,203; en Europa se estima que poco más de 85 000 casos ocurren anualmente. Las zonas con más reportes de casos son Europa central y Escandinavia donde se han registrado tasas positivas del 47.9% en grupos de alto riesgo como agricultores y trabajadores forestales. (Schotthoefer & Frost, 2015).

Niños entre 5 y 15 años y adultos de más de 50 años son los grupos más afectados por esta enfermedad. El sexo no es un factor de riesgo.

Es de carácter obligatorio el reporte de esta enfermedad en EUA desde 1991. Se cuenta con protocolos establecidos y son revisados periódicamente para contar con criterios confiables y poder permitir así el reporte de casos.

En zonas de la República Mexicana como Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Veracruz, Jalisco, Ciudad de México (Gordillo *et al.*, 1999) se han encontrado en población mexicana anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* reportando una seroprevalencia del 1.1%, presentando la mayor seroprevalencia (6.4%) en la región fronteriza entre Texas y México (Esteve-Gasset *et al.*, 2014), encontrando también garrapatas sobre perro *Ixodes scapularis* infectadas en Nuevo León y *Amblyomma mixtum* infectadas en Tamaulipas y Nuevo León (Gordillo-Perez *et al.*, 2009).

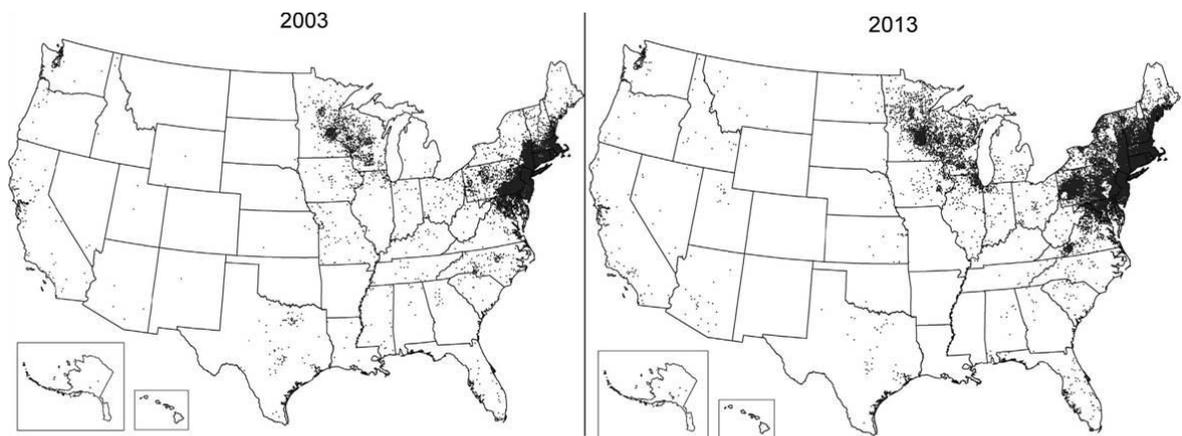
*B. afzelii* y *B. garinii* son los principales agentes causales de enfermedad de Lyme en Europa y Asia, mientras que en EUA es *B. burgdorferi sensu stricto*

aunque se ha observado que otras genopecies también causan la enfermedad (Tabla N.1) (Schotthoefer y Frost, 2015).

La incidencia es alta en el noreste de EUA, se ha reportado que cerca del 96% de los casos confirmados han sucedido en esta área en la cual se incluyen 14 estados: Connecticut, Delaware, Maine, Massachusetts, Maryland, Minnesota, New Hampshire, New Jersey, New York, Pennsylvania, Rhode Island, Vermont, Virginia y Wisconsin (Tabla N.1).

En Canadá se han encontrado poblaciones de *I. scapularis* en Manitoba, Ontario y Nueva Escocia; mientras que en las costas del sur de Columbia Británica se ha identificado a *I. pacificus*. En el periodo que comprende de 2009 a 2012 se reportó un total de 833 casos de EL en Canadá.

Así como el número de casos de esta enfermedad han ido en aumento también lo ha hecho la distribución geográfica (Figura 3) (Mead, 2015).



**Figura 3.** Comparación de la distribución geográfica de los casos reportados de Enfermedad de Lyme en EUA en los años 2003 y 2013. Cada punto es un caso reportado y confirmado (Mead, 2015).

**Tabla N. 2 .** Incidencia de enfermedad de Lyme en los Estados Unidos de América por cada 100 000 habitantes de acuerdo a la zona de residencia que no siempre es el lugar de exposición (Mead, 2015).

Lyme disease incidence by state and year (United States 2004–2013)										
State	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Alabama	0.1	0.1	0.2	0.3	0.1	0.1	0.0	0.2	0.3	0.2
Alaska	0.5	0.6	0.4	1.5	0.9	1.0	1.0	1.2	0.5	1.9
Arizona	0.2	0.2	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.3
Arkansas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
California	0.1	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.4	0.0	0.2	0.2
Colorado	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Connecticut	38.5	51.7	51.0	87.3	78.2	78.2	55.0	56.0	46.0	58.7
Delaware	40.8	76.7	56.5	82.7	88.4	111.2	73.1	84.6	55.3	43.2
Florida	0.3	0.3	0.2	0.2	0.4	0.4	0.3	0.4	0.3	0.4
Georgia	0.1	0.1	0.1	0.1	0.4	0.4	0.1	0.3	0.3	0.1
Hawaii	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Idaho	0.4	0.1	0.5	0.6	0.3	0.3	0.4	0.2	0.0	0.9
Illinois	0.7	1.0	0.9	1.2	0.8	1.1	1.1	1.5	1.6	2.6
Indiana	0.5	0.5	0.4	0.9	0.7	0.9	1.0	1.2	1.0	1.5
Iowa	1.7	3.0	3.3	4.1	2.8	2.6	2.2	2.4	3.0	5.0
Kansas	0.1	0.1	0.1	0.3	0.6	0.6	0.2	0.4	0.3	0.6
Kentucky	0.4	0.1	0.2	0.1	0.1	0.0	0.1	0.1	0.2	0.4
Louisiana	0.0	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0
Maine	17.1	18.7	25.6	40.2	59.2	60.0	42.1	60.3	66.6	84.8
Maryland	16.0	22.1	22.2	45.8	31.0	25.7	20.1	16.1	18.9	13.5
Massachusetts	23.9	36.3	22.2	46.3	60.9	61.0	36.3	27.3	51.1	57.0
Michigan	0.3	0.6	0.5	0.5	0.8	0.8	0.8	0.9	0.8	1.2
Minnesota	20.1	17.9	17.7	23.8	20.0	20.2	24.4	22.2	16.9	26.4
Mississippi	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0
Missouri	0.4	0.3	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.0
Montana	0.0	0.0	0.1	0.4	0.6	0.3	0.3	0.9	0.6	1.6
Nebraska	0.1	0.1	0.6	0.4	0.4	0.2	0.4	0.4	0.3	0.4
Nevada	0.0	0.1	0.2	0.6	0.3	0.4	0.1	0.1	0.4	0.4
New Hampshire	17.4	20.3	46.9	68.1	92.0	75.2	63.0	67.3	75.9	100.0
New Jersey	31.0	38.6	27.9	36.1	37.0	52.8	37.8	38.5	30.8	31.3
New Mexico	0.1	0.2	0.2	0.3	0.2	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0
New York	26.5	28.8	23.1	21.6	29.5	21.2	12.3	16.0	10.4	17.9
North Carolina	1.4	0.6	0.4	0.6	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.4
North Dakota	0.0	0.5	1.1	1.9	1.2	1.5	3.1	3.2	1.4	1.7
Ohio	0.4	0.5	0.4	0.3	0.3	0.4	0.2	0.3	0.4	0.6
Oklahoma	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.1	0.0	0.0
Oregon	0.3	0.1	0.2	0.2	0.5	0.3	0.2	0.2	0.1	0.3
Pennsylvania	32.1	34.6	26.1	32.1	30.7	39.3	26.0	37.2	32.5	39.0
Rhode Island	23.0	3.6	28.8	16.7	17.7	14.2	10.9	10.6	12.7	42.2
South Carolina	0.5	0.4	0.5	0.7	0.3	0.5	0.4	0.5	0.7	0.7
South Dakota	0.1	0.3	0.1	0.0	0.4	0.1	0.1	0.2	0.5	0.4
Tennessee	0.3	0.1	0.2	0.5	0.1	0.2	0.1	0.1	0.0	0.2
Texas	0.4	0.3	0.1	0.4	0.4	0.4	0.2	0.1	0.1	0.2
Utah	0.0	0.1	0.2	0.3	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.3
Vermont	8.0	8.7	16.8	22.2	53.1	51.9	43.3	76.0	61.7	107.6
Virginia	2.9	3.6	4.7	12.4	11.4	8.9	11.4	9.3	9.8	11.2
Washington	0.2	0.2	0.1	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
West Virginia	2.1	3.4	1.5	4.6	6.6	7.9	6.9	5.8	4.4	6.3
Wisconsin	20.8	26.4	26.4	32.4	26.5	34.5	44.0	42.2	23.9	25.2
Wyoming	0.8	0.6	0.2	0.6	0.2	0.2	0.0	0.2	0.5	0.2
US incidence	6.7	7.9	8.2	9.1	9.4	9.8	7.3	7.8	7.0	8.6

En Europa el vector principal es *I. ricinus* el cual se encuentra distribuido ampliamente.

Se ha detectado mayor número de garrapatas adultas infectadas con *Borrelia burgdorferi* en la zona Este del continente. Las genoespecies reportadas como agentes etiológicos de EL varían de acuerdo a la zona, encontrando así que para el norte y este de Europa la espiroqueta más común que se ha encontrado en las garrapatas es *B. afzelii*, para el oeste *B. garinii* y para el norte *B. lusitaniae*

La incidencia indica que hay mayor prevalencia de la enfermedad en el centro y noreste pero la enfermedad no es reportada en todos los países ya que su reporte no es de carácter obligatorio (Mead, 2015) e incluso se ha llegado a sugerir que los casos de Lyme son 3 veces más frecuentes a lo reportado (Borchers *et al.*, 2015).

En Asia la garrapata *Ixodes persulcatus* es el vector principal de EL. En el oeste de Rusia se ha encontrado además la presencia de *I. ricinus*.

*B. afzelii* y *B. garinii* son transmitidas por *I. persulcatus*; no se ha comprobado que sea capaz de transmitir *B. burgdorferi sensu stricto*.

La incidencia reportada varía de 5 a 10 personas por cada 100 000 habitantes.

Se han aislado *B. afzelii* y *B. garinii* en pacientes de Japón, sin embargo, la incidencia es de menos del 0.1 por cada 100 000 habitantes.

En Corea y Taiwán se ha aislado *B. garinii* de pacientes, además se ha comprobado la presencia del ciclo enzoótico. (Mead, 2015).

En México se han encontrado garrapatas del género *Ixodes* infectadas en el noreste de México, Baja California y la península de Yucatán (Feria-Arroyo *et al.*, 2014). También se han realizado hallazgos que demuestran, además,

la presencia de garrapatas *Ixodes* en Sinaloa, Durango, Nayarit, Jalisco, Guanajuato, Colima, Michoacán, Estado de México, Ciudad de México, Veracruz, Guerrero, Morelos, Puebla, Oaxaca, Chiapas, Tabasco y Quintana Roo pero no se ha comprobado si se encuentran o no infectadas (Guzmán-Cornejo & Robbin, 2010) (Illoldi-Rangel *et al.*, 2012).

En el periodo 1999-2011 los reportes de manifestaciones neurológicas causadas por *Borrelia burgdorferi* fueron en un 38% parálisis facial con recaídas de un 39% en pacientes adultos procedentes del centro y sureste de la República Mexicana, confirmando así la presencia de la enfermedad. (Cervantes- Castillo, 2013)

### **2.3.1 Factores de riesgo en humanos**

Vivir, trabajar y realizar actividades al aire libre en lugares que sean endémicos o en sitios cercanos a bosques o en general lugares en los cuales el ambiente sea favorable para la supervivencia y el desarrollo de garrapatas es un factor de riesgo muy importante para la adquisición de la infección, además del tiempo que el humano pasa expuesto a este tipo de lugares. El hecho de llevar ropa que deje al descubierto partes del cuerpo como piernas o brazos facilita la fijación de la garrapata al humano (Schotthoefler & Frost, 2015).

El cambio climático y la movilidad de poblaciones humanas y animales han demostrado ser factores muy importantes en la diseminación de las garrapatas y por lo tanto del agente etiológico (Levi *et al.*, 2015). Del mismo modo, la convivencia con animales infestados de garrapatas aumentan el riesgo de infección.

La transmisión de *Borrelia burgdorferi* a partir de transfusiones sanguíneas no se ha demostrado (Meal, 2015).

## **2.4 Vector.**

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos que resultan de gran interés desde el punto de vista médico, veterinario y de salud pública debido a la cantidad de enfermedades bacterianas, virales, protozoarias y rickettsiales que pueden transmitir a los animales y al hombre (Rodríguez, 2015).

Las garrapatas se han asociado con regiones tropicales y subtropicales, sin embargo, están ampliamente distribuidas en el planeta debido a la capacidad que tienen de adaptarse y de resistir a distintas condiciones climáticas incluso extremas. La amplia distribución de las garrapatas es atribuida a la movilidad que presentan sus hospedador principales (Rodríguez, 2015).

La mayoría de las garrapatas presentan una coloración que va desde el café hasta el rojizo. Su cuerpo está cubierto por un exoesqueleto compuesto por una cutícula que está formada por varias capas de quitina y esclerotina secretadas por las células epidérmicas. Este exoesqueleto se desprende periódicamente en un proceso denominado “muda o ecdisis” con la finalidad de que pueda crecer y evolucionar por las diferentes fases en el ciclo biológico (Rodríguez, 2015)

Las larvas son adquiridas del medio ambiente. Todas las garrapatas duras experimentan dos mudas: de larva a ninfa y de ninfa a adulto. Hay garrapatas que permanecen en el hospedador durante ambas ecdisis y son conocidas como garrapatas de un solo hospedador. Las garrapatas de dos hospedadores mudan de larva a ninfa estando sobre un hospedador, mientras que en el medio ambiente mudan de ninfa a adulto y posteriormente buscan un segundo hospedador. Finalmente las garrapatas de tres hospedadores llevan a cabo ambas mudas en el ambiente, alimentándose de vertebrados diferentes después de cada muda. Algunas garrapatas prefieren la misma especie de hospedador pero la preferencia puede variar

con la etapa de la garrapata así como el género y especie que se trate (Zajac & Conboy, 2012).

Se considera como vector competente de EL a la garrapata del género *Ixodes*, comúnmente llamada “garrapata de patas negras” (Meal, 2015).

### 2.4.1 Clasificación de las garrapatas

Se incluyen en el suborden Metastigmata. Comprende tres familias: Ixodidae (garrapatas duras) por poseer una lámina dorsal dura; Argasidae (garrapatas blandas) que carecen de esa lámina dorsal y Nuttalliellidae (que incluye una sola especie con características intermedias de las anteriores) (Tabla N. 3), en este trabajo únicamente nos enfocaremos en las garrapatas duras.

**Tabla N. 3** Clasificación taxonómica de las garrapatas duras y blandas (Polanco-Echeverry & Ríos-Osorio, 2016).

Categoría	Taxón		
Phylum	Artropoda		
Clase	Arachnida		
Orden	Acarina		
Suborden	Ixodoidea		
Familia	Ixodidae	Argasidae	Nuttalliellidae
Género	<i>Ixodes</i> <i>Amblyomma</i> <i>Anomalohimalaya</i> <i>Bothriocroton</i> <i>Cosmiomma</i> <i>Dermacentor</i> <i>Haemaphysalis</i> <i>Hyalomma</i> <i>Margaropus</i> <i>Nosomma</i> <i>Rhipicentor</i> <i>Rhipicephalus</i>	<i>Argas</i> <i>Carios</i> <i>Ornithodoros</i> <i>Otobius</i>	<i>Nuttalliella</i>

La familia Ixodidae está conformada por 12 géneros: *Amblyomma*, *Anomalohimalaya*, *Bothriocotron*, *Cosmiomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Ixodes*, *Margaropus*, *Nosomma*, *Rhipicentor* y *Rhipicephalus*.

El género *Ixodes* incluye aproximadamente 240 especies que están distribuidas a nivel mundial y parasitan en su mayoría a reptiles, aves y mamíferos (Vásquez, Muro & Clavijo, 2011).

En México Guzmán-Cornejo & Robbin (2010) reportaron 26 especies que incluyen: *I. affinis*, *I. angustus*, *I. bequaerti*, *I. boliviensis*, *I. brunneus*, *I. conepati*, *I. cookei*, *I. cuernavacensis*, *I. dampfi*, *I. dentatus*, *I. eadsi*, *I. guatemalensis*, *I. loricatus*, *I. luciae*, *I. mexicanus*, *I. murreleti*, *I. pacificus*, *I. rubidus*, *I. scapularis*, *I. sinaloa*, *I. spinipalpis*, *I. tamaulipas*, *I. tancitarius*, *I. texanus*, *I. tovari*, e *I. woodi*.

Algunas de las especies del género *Ixodes* han demostrado ser las únicas garrapatas que son vectores competentes para la transmisión de *B. burgdorferi* y varían de acuerdo a la zona; *I. scapularis* en el este y medio oeste de América del Norte, *I. pacificus* en el oeste de Norteamérica y en Eurasia *I. persulcatus* e *I. ricinus*. (Durand *et al.*, 2016).

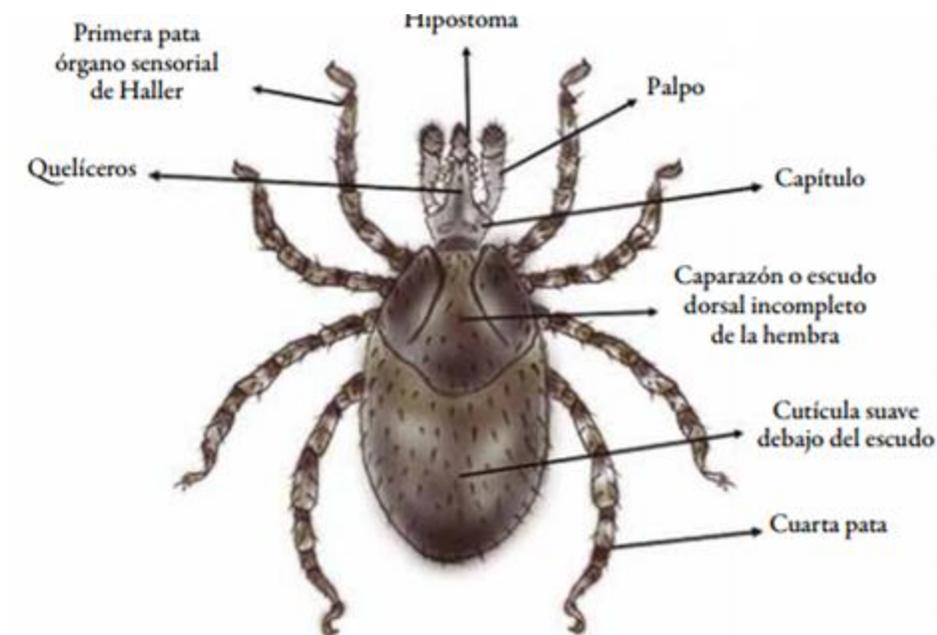
#### **2.4.2 Características generales de las garrapatas duras.**

Las garrapatas están distribuidas en áreas tropicales, subtropicales y zonas templadas, siendo las primeras regiones las que presentan una mayor diversidad de géneros y especies (Polanco-Echeverry & Ríos-Osorio, 2016).

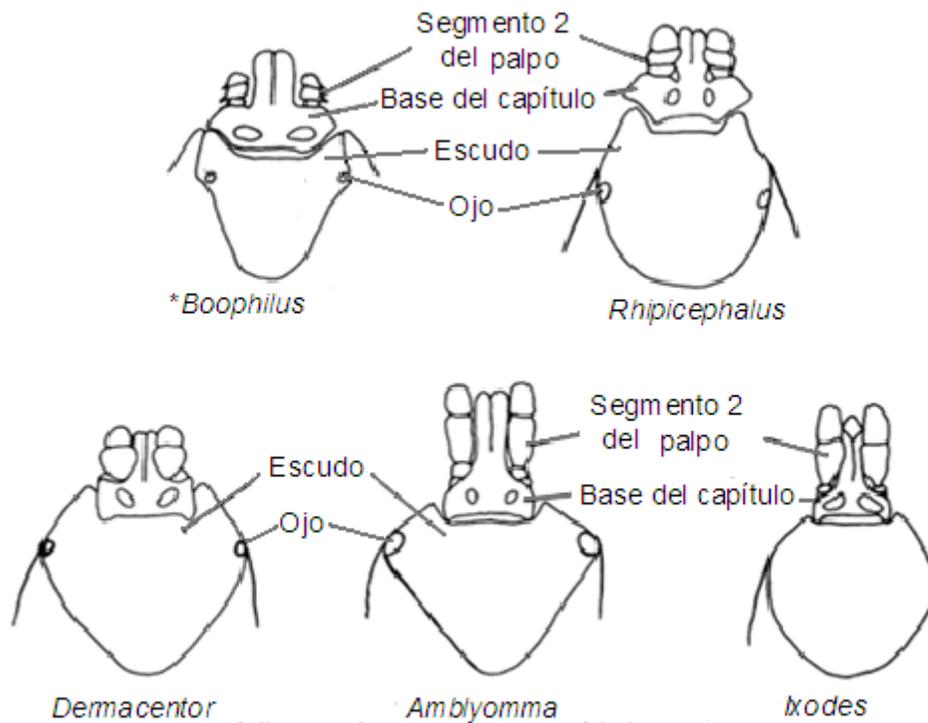
Son parásitos temporales obligados de animales vertebrados. Utilizan sus órganos bucales con la finalidad de obtener sangre para tener la energía requerida de modo que logren mudar de fases y ovipositar, en el caso de las hembras. (Estrada-Peña & de la Fuente, 2014).

El cuerpo de la garrapata se compone de dos partes; el gnatosoma o capítulo, que contiene las partes bucales en una cabeza falsa; y el idiosoma, que comprende el resto del artrópodo y al que se unen las patas.

Algunas de las características más útiles para identificar el género de una garrapata dura es la forma de la base del capítulo y piezas bucales, la presencia de festones y ornamentos y la forma de los mismos (Zajac & Conboy, 2012) (Figura 4 y Figura 5).



**Figura 4.** Morfología de una garrapata dura en donde se señalan las partes principales de una hembra adulta (Polanco-Echeverry & Ríos-Osorio, 2016).



**Figura 5.** Comparación de la base del capitulo, partes bucales y escudos de los Ixódidos de importancia médica. \*Las garrapatas *Boophilus* ahora se han integrado en el género *Rhipicephalus* (Modificada de Zajac & Conboy, 2012).

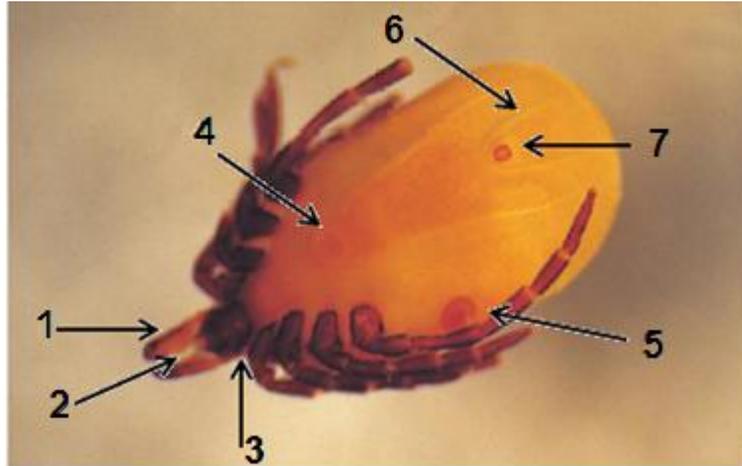
## I. Morfología

Las garrapatas duras están cubiertas por una cutícula quitinosa muy resistente y en particular las de la familia *Ixodidae* poseen un escudo dorsal completo en los machos e incompleto en las hembras.

Las larvas poseen 3 pares de patas mientras que las ninfas y adultos tienen 4 pares de patas.

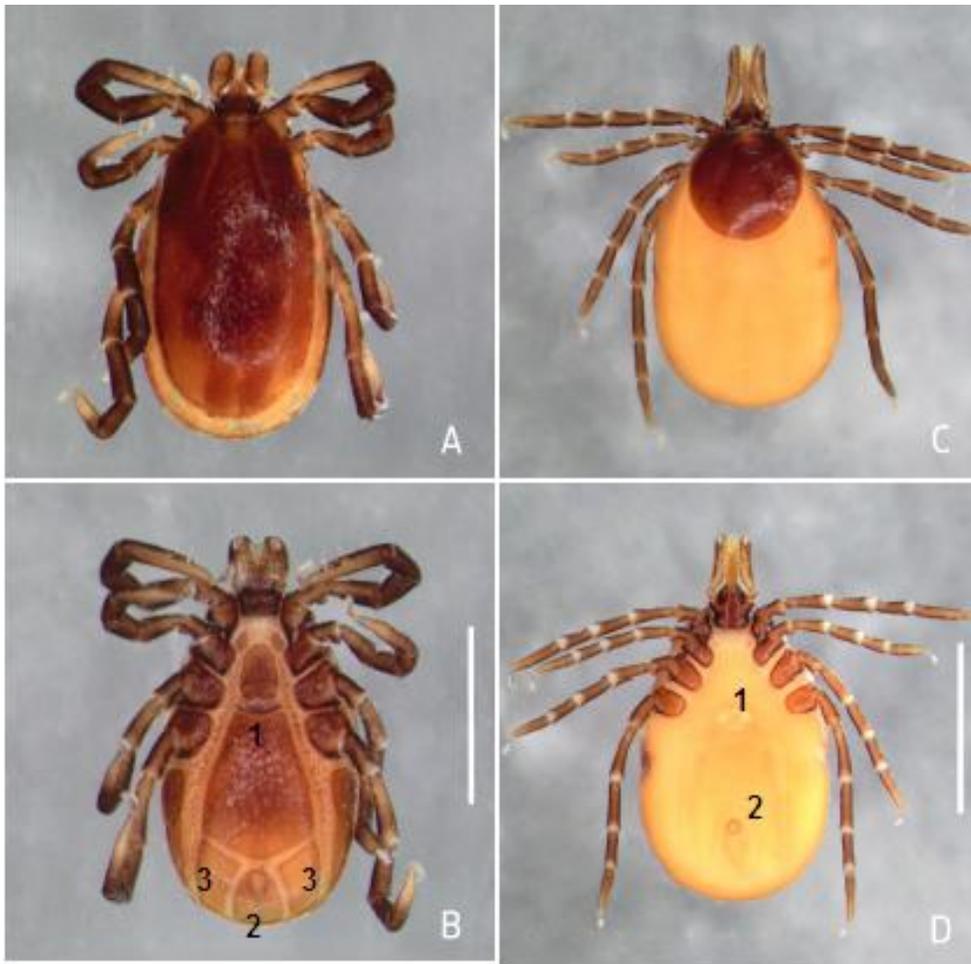
Poseen un órgano bucal denominado gnatosoma en el cual se encuentran los palpos, quelíceros e hipostoma. Quelíceros e hipostoma se encuentran dentados para poder cortar la piel y anclarse.

Respiran a través de estigmas o placas estigmales, que son la abertura de una red de tuberías, denominadas tráqueas, que recorren toda la garrapata. Las larvas no los poseen por lo que respiran a través de la piel (Hoffmann, 2003).



**Figura 6.** Garrapata *Ixodes*. Se muestran algunas características morfológicas para la identificación de las garrapatas. Característica distintiva de este género es la posición del surco anal 1) Palpos; 2) hipostoma; 3) Base del capítulo; 4) Poro genital; 5) Estigma; 6) Surco anal; 7) Poro anal.

(Modificada de Zajac & Conboy 2012).



**Figura 7.** *Ixodes affinis*. A y B macho: A, vista dorsal; B, vista ventral donde 1: poro genital; 2: poro anal; 3: placas adanales. La barra lateral indica 1mm, C y D hembra: C, vista dorsal, D: vista ventral donde 1: poro genital, 2: poro anal. La barra lateral indica 2mm (modificada de Solís-Hernández *et al*, 2015).

## II. Alimentación

La hematofagia por parte del vector es necesaria ya que es a partir de la digestión de esta que consiguen proteínas necesarias para procesos como vitelogénesis y la producción de huevos. La digestión se lleva en organelos

denominados hemosomas dentro de las células epiteliales del intestino (Franta *et al.*, 2011).

La alimentación en cada fase es intermitente y termina hasta que el ixódido está repleto.

Cuando detectan a un posible hospedador trepan a las hierbas próximas y esperan a que el vertebrado pase cerca para poder subir y alimentarse. Para este proceso es necesario el uso de los palpos y los órganos de Haller para la detección de humedad, cambios de temperatura y presencia de CO<sub>2</sub>. Estos órganos se encuentran en el primer par de patas y es por ello que al estar al acecho las levantan.

Una vez que el artrópodo entra en contacto con la piel del hospedador, se sujeta con sus patas y busca un sitio ideal para la alimentación tomando en cuenta que la piel en el sitio debe ser delgada, debe presentar buena irrigación capilar y ofrecer protección de agentes mecánicos o físicos. La garrapata corta la piel del hospedador utilizando los quelíceros y llegando hasta la dermis, posteriormente se ancla con el hipostoma, ambas estructuras se encuentran en el gnatosoma (Polanco-Echeverry & Ríos-Osorio, 2016) (Figura 4). Alrededor de las partes bucales secreta una sustancia llamada “cemento” que se solidifica de inmediato, ayudando de este modo a fijarse firmemente (Estrada-Peña & de la Fuente, 2014).

Cuando sucede el contacto con la sangre, la garrapata comienza a secretar saliva que cuenta con propiedades citolíticas, vasodilatadoras, anticoagulantes, antiinflamatorias e inmunosupresoras. (Levi, Keesing, Oggenfuss & Ostfeld, 2015) para poder permanecer por periodos determinados adheridas alimentándose del hospedador o, siendo que larvas y ninfas se mantienen por 2 a 4 días y adultos por 5 a 7 días. Posterior a esta alimentación, la garrapata se suelta y cae al suelo donde sucederá la muda

entre cada estado de vida; por lo tanto, para cada cambio de fase es necesaria la alimentación sanguínea (Gulia-Nuss *et al.*, 2016).

Las hembras adultas aumentan alrededor de 100 veces su peso original al ingerir la sangre del hospedador. (Polanco-Echeverry & Ríos-Osorio, 2016).

Específicamente las garrapatas *Ixodes* se alimentan de hospedadores diferentes de acuerdo a la fase en la que se encuentren (Figura 9, Figura 10).

### **III. Oviposición, incubación y eclosión.**

La hembra y el macho copulan sobre el hospedador, una vez que la hembra ha sido fecundada se repleta de sangre y se deja caer al suelo para poder buscar un lugar protegido de la luz y el sol, de este modo se llevará a cabo la oviposición que puede durar de 2 a 44 días según el clima, por ejemplo, con temperaturas mayores a 24°C se alarga y a menores de 15°C se acorta, pudiendo poner de 500 a 15000 huevos. Los huevos son impregnados por una sustancia pegajosa parecida a la cera que produce la madre con la finalidad de proteger contra adversidades del ambiente como la desecación. Después de la oviposición la hembra muere.

Es durante la primavera y el verano que las larvas eclosionan de los huevos después de 18-21 días pero la supervivencia depende de la temperatura y humedad siendo que si disminuye la temperatura también lo hará el porcentaje de eclosión de larvas.

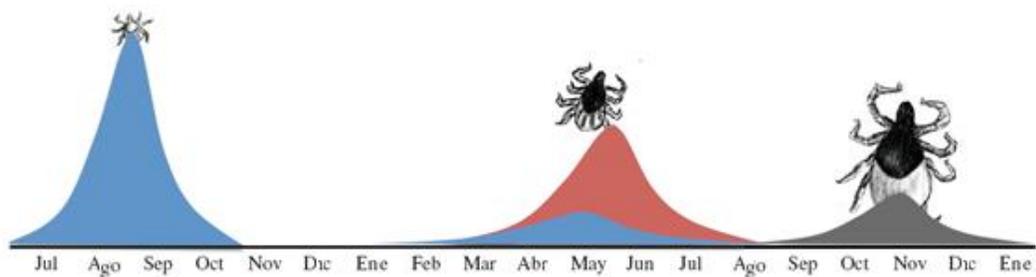
Las larvas resultantes pueden sobrevivir de 21 a 140 días en el suelo pero este periodo varía de acuerdo a la temperatura y humedad (Hoffmann, 2003)

### **IV. Supervivencia, longevidad y resistencia.**

Requieren al menos un 80% de humedad y una temperatura de entre 26 a 27°C para sobrevivir por lo que áreas donde hay moderada o alta incidencia

de lluvias con vegetación y suelos frescos es ideal para su mantenimiento y desarrollo (Schotthoefler & Frost, 2015).

Los meses más cálidos (marzo a septiembre) facilitan la supervivencia y diseminación de estos organismos debido a sus hábitos y los de los humanos (Meal, 2015). Es en esta temporada cuando se han registrado más casos de EL en el noreste de EUA y en Europa ya que las ninfas son más activas en este periodo (Figura 8).

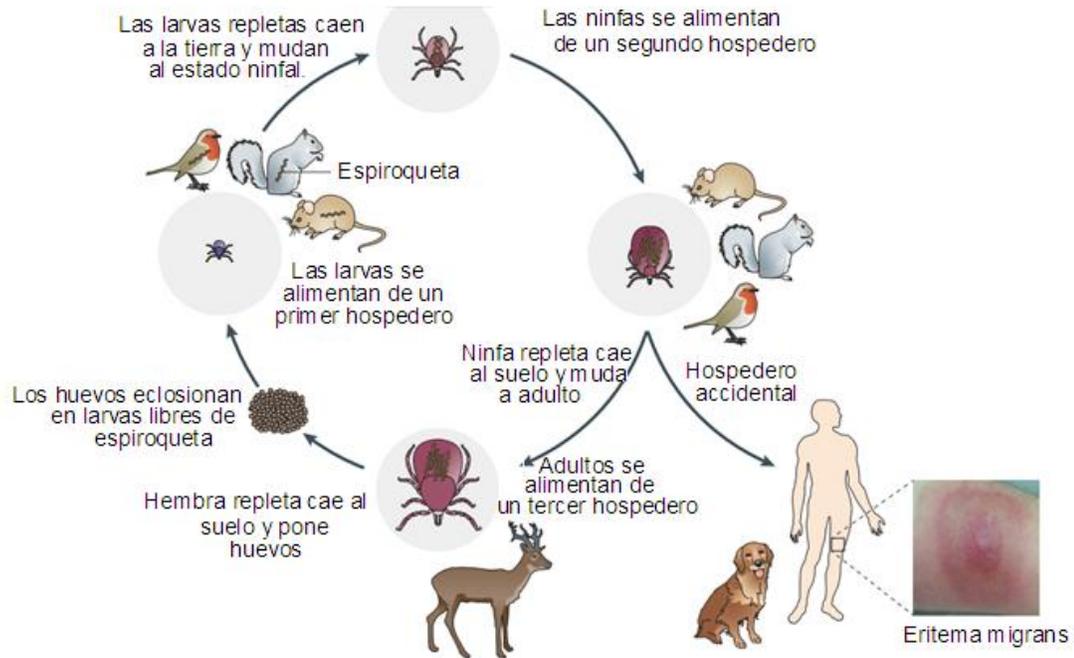


**Figura 8.** Diagrama de los estados de vida de la garrapata *Ixodes* donde los picos muestran la actividad de las mismas en distintos periodos del año. En azul el estado larvario, en rojo el estado ninfal y en gris el estado adulto (Modificada de Levi *et al.*, 2015)

### 2.4.3 Ciclo de vida de la garrapata.

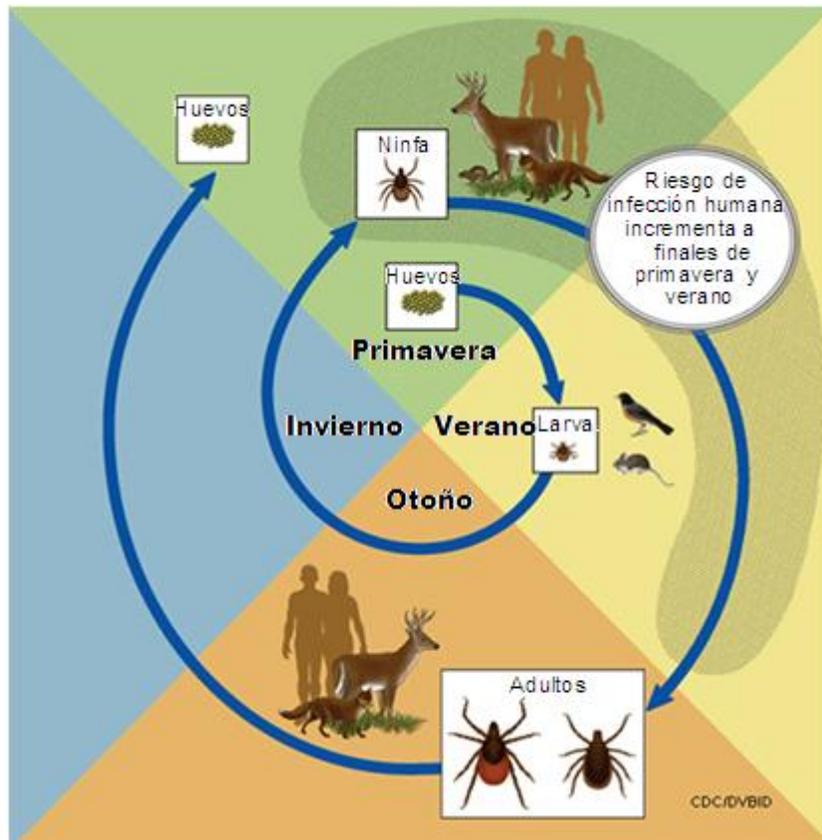
El ciclo de vida de las garrapatas *Ixodes* comprende cuatro etapas: huevo, larva, ninfa y adulto. De acuerdo a cada uno de estos, parasitarán a distintos hospedador, siendo que las garrapatas inmaduras lo harán en aves y mamíferos de tamaño pequeño o mediano principalmente, mientras que los adultos se alimentarán de animales medianos y grandes (erizos, liebres, ciervos y ganado) (Figura 9).

Para que la garrapata mude entre cada estadio de vida necesita comer, por lo que se alimentará cuando cambie de larva a ninfa, de ninfa a adulto y en la fase de reproducción si se trata de una hembra (Figura 10).



**Figura 9.** Ciclo enzoótico de *Borrelia burgdorferi*. En cada estadio de vida la garrapata *Ixodes* necesitará distintos hospedadores vertebrados. El humano y los animales domésticos actúan como hospedadores accidentales.

(Modificada de Radolf *et al.*, 2012).



**Figura 10.** Ciclo de vida de *Ixodes scapularis*. La duración es generalmente de dos años, variando de acuerdo a las condiciones climáticas y la disponibilidad de hospedadores. Las garrapatas no pueden saltar por lo que se suben a las hierbas, arbustos o demás vegetación y esperan a que el hospedador pase cerca para poder incorporarse a él (Recuperada y modificada el día 22 de marzo de 2017 del sitio web: <https://www.cdc.gov/lyme/transmission/blacklegged.html>).

Las larvas permanecerán en el sitio de eclosión aproximadamente una semana. Posteriormente saldrán en busca de un hospedador utilizando sus palpos y los órganos de Haller de las patas delanteras y permanecen acechando en las partes altas de la vegetación. Es en este lapso de tiempo cuando pueden perder agua, sin embargo, la recuperan descendiendo periódicamente al suelo, donde idóneamente hay hojarasca, reabsorbiendo agua del entorno (Estrada-Peña & de la Fuente, 2014).

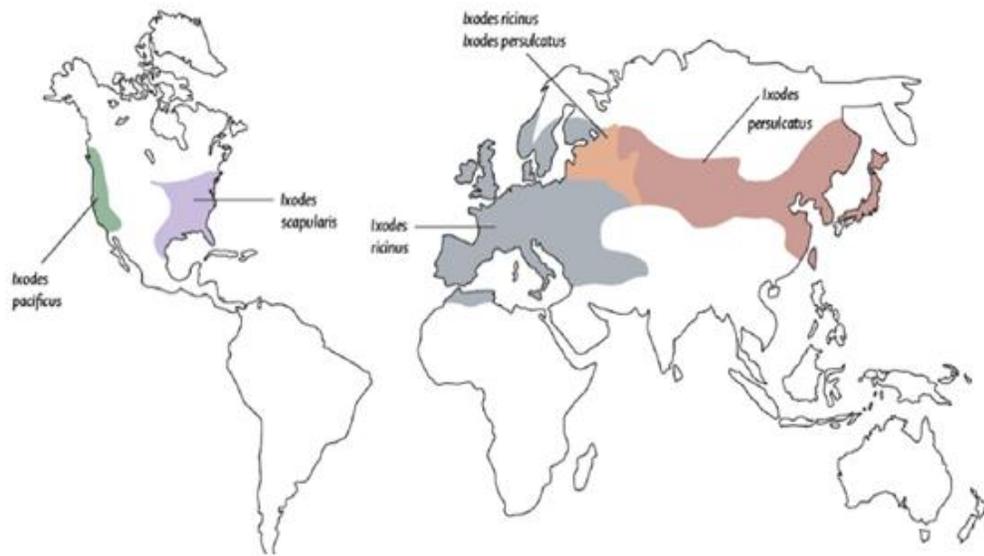
Después de que la garrapata se ha alimentado y ha quedado repleta cae al suelo para poder mudar. Este proceso tarda de dos semanas a varios meses (Polanco-Echeverry & Ríos-Osorio, 2016).

*Ixodes* es una garrapata de tres hospedadores, por lo que, entre más desarrollada se encuentre tendrá la capacidad de subir a la vegetación más alta.

Después de haber completado la muda, el endurecimiento de la cutícula tardará algunos días (Estrada-Peña & de la Fuente, 2014).

#### **2.4.4 La garrapata del género *Ixodes* como vector competente.**

Como ya se había mencionado anteriormente, es la garrapata *Ixodes* el vector competente de EL, siendo que, la especie de garrapata capaz de transmitir al agente etiológico varía de acuerdo a la zona en cuestión (Figura 11).



**Figura 11.** Distribución geográfica reportada de las garrapatas del género *Ixodes* que son vectores competentes para *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Verde: *Ixodes pacificus*; morado: *Ixodes scapularis*; azul: *Ixodes ricinus*, naranja: *Ixodes ricinus* e *Ixodes persulcatus*; rojo: *Ixodes persulcatus*. (Schotthoefler & Frost, 2015).

La espiroqueta se aloja en el intestino medio de la garrapata. Una vez que la sangre llega a este sitio las bacterias comienzan a proliferar, llegan hasta las glándulas salivales a través de la hemolinfa y es en este momento cuando puede suceder la transmisión. Se ha comprobado que las ninfas tienen un número considerable de espiroquetas después de las 24 horas de haberse adherido a la piel pero en estudios con animales se ha observado que la transmisión ocurre después de las 48-72 horas de la adhesión de la garrapata, por lo que se sugiere que el tiempo que tarda la espiroqueta en diseminarse al nuevo hospedador depende de la especie de garrapata en cuestión, además de la cepa del complejo *Borrelia burgdorferi sensu lato* de la que se trate (Borchers *et al.*, 2015); sin embargo se ha observado que las

garrapatas *I. ricinus* pueden transmitir a *B. afzelii* en periodos de tiempo más cortos (Meal, 2015).

Las garrapatas se alimentan de sangre cuando cambian de etapa en su ciclo de vida y es aquí donde puede suceder la transmisión de la espiroqueta del hospedador infectado a la garrapata o de la garrapata infectada al hospedador sano. Una vez que la garrapata se ha infectado mantendrá a la bacteria por el resto del ciclo.

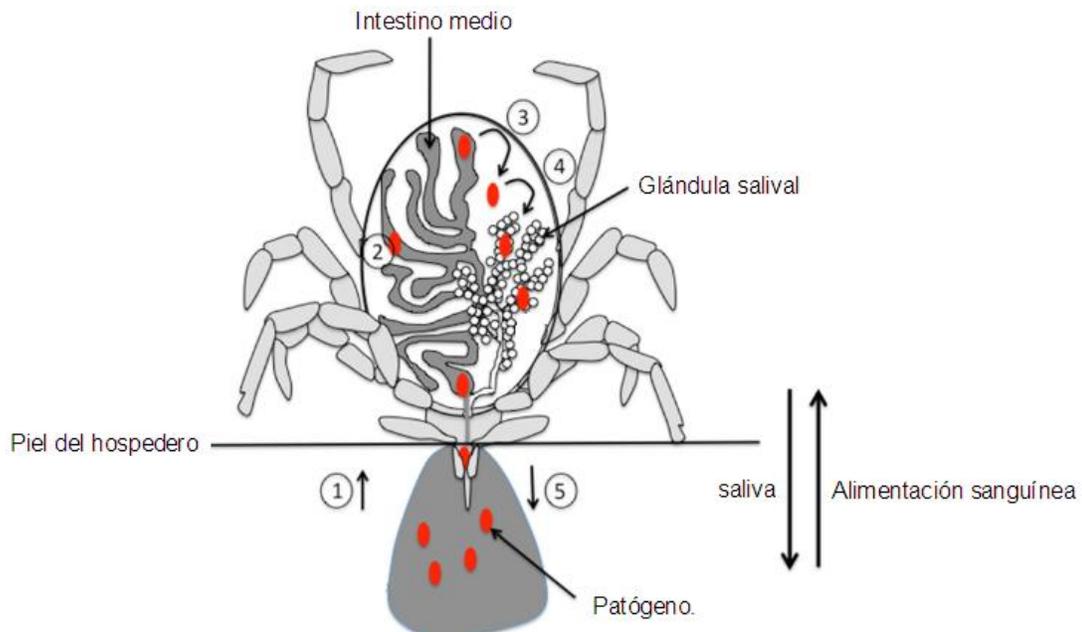
Hay informes aislados en los cuales se reporta la presencia de *Borrelia burgdorferi sensu lato* en garrapatas de otros géneros como *Amblyomma americanum* en Florida y Georgia, y garrapatas del género *Dermacentor* en España. (Borchers *et al.*, 2015)

El tamaño y la abundancia de los estadios ninfales son un factor importante en la diseminación de la espiroqueta. Se ha relacionado la abundancia de este tipo de garrapatas durante la primavera e inicios de verano con la aparición de EL en su fase aguda en humanos. En EUA más del 50% de los casos inician en julio (Meal, 2015).

## **2.5 Transmisión de *Borrelia burgdorferi*.**

Es durante la alimentación que la garrapata logra adquirir y transmitir la bacteria al hospedador, es decir, si la garrapata se alimenta de un hospedador vertebrado que se encuentre infectado entonces ésta quedará infectada y para la siguiente vez que se alimente será capaz de transmitir la espiroqueta (Figura 12). A este proceso se le ha denominado transmisión transestadial. (Gray, Kahl, Lane, Levin & Tsao, 2016). Existe otro tipo de transmisión denominado transmisión por co-alimentación en donde dos o más garrapatas se alimentan del mismo hospedador al mismo tiempo y en una zona muy cercana, la garrapata infectada inocula bacterias mientras las demás que no están infectadas se alimentan de sangre recién contaminada,

aunque la importancia de este mecanismo aún es controversial (Tonetti, Voordouw, Durand, Monnier & Gern, 2015). Hay poca, si no es que nula transmisión transovárica de la espiroqueta (Borchers *et al.*, 2015).



**Figura 12.** Representación de la adquisición y transmisión de un patógeno a través de garrapatas. 1) El patógeno está en el hospedador e ingresa con la sangre a la garrapata durante la alimentación. 2) El patógeno invade el intestino medio y permanece ahí hasta la siguiente alimentación. 3) invade la hemolinfa. 4) Llega a las glándulas salivales. 5) El patógeno es inyectado a un nuevo hospedador. Las propiedades de la saliva facilitan la transmisión e infección (Modificada de Simo *et al.*, 2017).

El humano es un hospedador accidental en el cual las ninfas son los principales vectores causantes de la enfermedad debido a su tamaño; los adultos, al ser más grandes, son fácilmente notados y removidos, y las larvas difícilmente están infectadas. Adicionalmente, la actividad ninfal es mayor en

primavera e inicios del verano y concuerda con el periodo de mayor actividad al aire libre de los humanos (Levi, 2015).

Se sabe muy poco acerca de la interacción entre *Borrelia burgdorferi* y el artrópodo (Durand *et al.*, 2016)

### **2.5.1 Coinfecciones**

Las garrapatas pueden albergar y transmitir más de un patógeno, siendo esto un motivo por el que pudieran modificarse los síntomas haciéndolos menos específicos y, de este modo, complicar el diagnóstico y tratamiento.

Actualmente se ha relacionado a la garrapata *Ixodes scapularis* con la transmisión de *Babesia microti* (babesiosis), *Anaplasma phagocytophilum* (anaplasmosis), *Borrelia miyamotoi* (fiebre recurrente), el virus de la garrapata del venado (encefalitis DTV por sus siglas en inglés), además de *B. burgdorferi*; todos agentes patógenos para el humano (Nelder, 2016).

Siendo que la coinfección de *Borrelia burgdorferi* con *A. phagocytophilum* es la más común y es de gran importancia debido a la severidad del cuadro clínico con la que se presenta (Borchers *et al.*, 2015).

## **2.6 Manifestaciones clínicas de la enfermedad de Lyme.**

La EL presenta dos etapas de acuerdo a su estado de evolución:

- Estadio temprano, que a su vez se divide en dos:
  - \* estadio temprano localizado.
  - \* estadio temprano diseminado.
- Estadio crónico.

En el estadio temprano localizado aparece una lesión eritematosa en el sitio de mordedura de la garrapata. La lesión se ha denominado eritema migrans (EM) (Figura 13) y aparece en aproximadamente el 50% de los casos (Feng, Weitner, Shi , Zhang & Zhang, 2016). Se presenta entre el tercer día y las 16 semanas posteriores a la mordedura de la garrapata y desaparece después de 3-6 semanas (Gordillo-Pérez & Fortino-Solórzano, 2010).

En esta fase, además, se manifiestan afectaciones como fiebre, dolor de cabeza y fatiga (Szonyi, Srinath, Esteve-Gassent, Lupiani & Ivanek, 2015) pero estos signos y síntomas se presentan únicamente en menos del 20% de los casos (Borchers *et al.*, 2015).

El estadio temprano diseminado ocurre luego de 3-12 semanas sin tratamiento y es durante esta fase que sucede la propagación hematógica de *Borrelia burgdorferi* y las manifestaciones más comunes son la neuroborreliosis de Lyme, principalmente neuropatía craneal, meningoradiculoneuritis, radiculoneuropatía y neuropatía periférica. La neuroborreliosis de Lyme aparece aproximadamente tres semanas posteriores a la mordedura de la garrapata en un 20% de los casos en EUA y en un 40% en Europa. La parálisis periférica del nervio facial es la manifestación neurológica más común en EUA presentándose en un 20-50% de los casos de neuroborreliosis de Lyme (figura 15) (Gordillo-Pérez & Fortino-Solórzano, 2010).

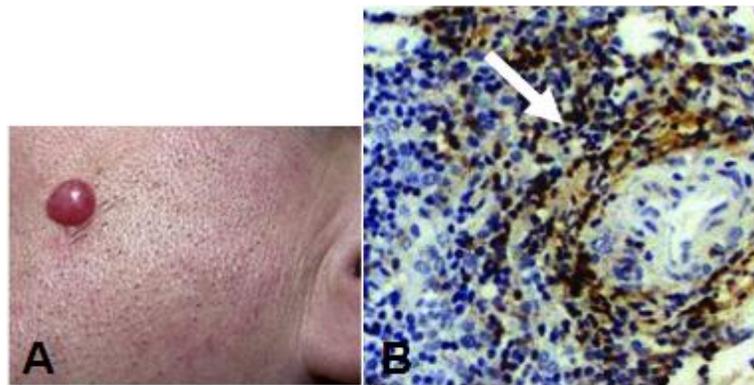
Las afectaciones cardíacas suelen ser el bloqueo atrioventricular, raramente miocarditis o pericarditis (Gordillo-Pérez & Fortino-Solórzano, 2010).

En menor medida aparecen alteraciones oculares (conjuntivitis, uveítis, queratitis, coroiditis, panoftalmitis y neuritis óptica) (Gordillo-Pérez & Fortino-Solórzano, 2010).

Asimismo, en Europa se han reportado casos de linfocitoma borrelial (Figura 14) aunque son casos muy raros. Es una lesión nodular con infiltración linfocítica en la dermis y en ocasiones en el tejido subcutáneo que aparece en el lóbulo de la oreja y la areola mamaria y con menor frecuencia en la cara y los brazos. Sin tratamiento persiste por varios meses (Gordillo-Pérez & Fortino-Solórzano, 2010).



**Figura 13.** Paciente con eritema migrans, lesión indolora de progresión variable característica de la enfermedad de Lyme. Se presenta en el sitio de la mordedura de la garrapata y se desarrolla en forma de diana o blanco de tiro (Borchers *et al.*, 2015).



**Figura 14.** Paciente con linfocitoma borrelial. A) Lesión cutánea nodular eritematosa o de coloración morada (Borchers *et al.*, 2015). B) Biopsia de linfocitoma borrelial de un paciente mexicano donde se muestra infiltrado linfocitario (flecha)(Gordillo-Pérez *et al.*, 2007).



**Figura 15.** Paciente con parálisis facial en el estadio temprano diseminado. Es la neuropatía más común y puede ser unilateral o bilateral (Sanchez, 2015).

La fase crónica ocurre luego de aproximadamente 6 meses después de la infección no tratada. Es cuando la bacteria ya se ha diseminado y suele presentarse artritis que afecta articulaciones grandes siendo en la rodilla la afectación más común (figura 16). Con menor frecuencia también pueden existir afectaciones del sistema nervioso como meningitis y raramente encefalitis, del corazón (trastornos del ritmo, miocarditis) y de los ojos (conjuntivitis, uveítis, queratitis) (Szonyi, Srinath, Esteve-Gassent, Lupiani & Ivanek, 2015).



**Figura 16.** Caso de artritis en rodilla izquierda, manifestación más común en la fase crónica de enfermedad de Lyme (Sanchez, 2015).

Se ha observado que en Europa la manifestación más común es la acrodermatitis crónica atrófica, afectación de la piel de curso progresivo crónico donde se observa inflamación y una coloración violácea de la piel de las extremidades dando lugar a placas escleróticas; se asocia a infecciones causadas por *B. afzelii* (figura 17). En EUA es raro encontrar este tipo de lesiones (Borchers *et al.*2015).



**Figura 17.** Acrodermatitis crónica atrófica. Se muestra un eritema violáceo en la rodilla del paciente. Las zonas atróficas presentan piel fina y arrugada (Lenormand, Jaulhac & Lipsker, 2017).

En Europa se ha observado que los pacientes con seroconversión no desarrollan síntomas en incluso el 50% de los casos y se ha llegado a sugerir que los humanos desarrollan inmunidad contra cepas específicas de *Borrelia burgdorferi* y que esta dura alrededor de 6 años, lo cual podría explicar la ausencia de sintomatología. Por el contrario, también se ha reportado en Europa que más del 30% de los pacientes con EM jamás desarrollan seropositividad. Se realizó un experimento en ratones donde se les inoculó *Borrelia burgdorferi sensu stricto* y distintas cepas de *Borrelia burgdorferi sensu lato* y posteriormente se inoculó suero de ratones previamente expuestos al patógeno observando que los ratones también desarrollan inmunidad y de igual modo es específica para cada cepa (Borchers *et al.*2015).

*Borrelia burgdorferi* muestra afinidad hacia distintos órganos dependiendo de la genoespecie de la que se trate; de modo que *B. garinii* se asocia más como agente causal de la neuroborreliosis de Lyme en Europa, mientras que en EUA se asocia a *Borrelia burgdorferi sensu stricto* con la alta incidencia de artritis de Lyme. *Borrelia afzelii* se ha asociado principalmente a lesiones cutáneas (Borchers *et al.*2015).

En ocasiones se ha observado que los pacientes desarrollan EM como respuesta única a la infección, se sugiere que esto se debe a la eficiente respuesta inmune; a la poca cantidad de espiroqueta que fue inoculada y que fue suficiente para desarrollar la lesión cutánea pero no para inducir síntomas clínicos; la patogenicidad de la genoespecie de la espiroqueta; a la idiosincrasia del hospedador; o a la combinación de varias de estas características (Borchers *et al.*2015).

### 2.6.1 Patogenia de la enfermedad de Lyme.

Cuando la garrapata se encuentra inactiva, en los meses donde la temperatura desciende (otoño, invierno y principios de primavera), la proteína expresada por *Borrelia burgdorferi* es OspA, asociada a su transmisión del vertebrado al vector; mientras que a finales de primavera y verano, cuando la temperatura ambiental aumenta, la garrapata se alimenta y la espiroqueta deja de expresar OspA para expresar ahora OspC, asociada a su transmisión de vector a vertebrado.

Una vez que la espiroqueta se encuentra en el hospedador, la lipoproteína Vls sufre una variación antigénica por recombinación, evitando así ser detectada por la respuesta inmune del hospedador (Escudero-Nieto & Guerrero-Espejel, 2005).

La diseminación del microorganismo se observa fácilmente a través del EM que se presenta en la etapa temprana de la EL, siendo evidenciado en el borde externo de la lesión cutánea (Pourel & Chary-Valckenaere, 2007). Esta lesión presenta algunas diferencias de acuerdo a la genoespecie de la que se trate, por ejemplo, *B. garinii* ocasiona un EM que aparece y progresa rápidamente mientras que el EM que produce *B. afzelii* es más claro (Murillo-Varela, 2013).

Por quimiotaxis los neutrófilos acuden en primera instancia e inician la respuesta inflamatoria, posteriormente acuden al sitio de infección linfocitos y macrófagos para producir anticuerpos y realizar fagocitosis, Sin embargo, *Borrelia burgdorferi* al ser una bacteria bastante móvil puede escapar fácilmente de la fagocitosis (Murillo-Varela, 2013). La diseminación hematogena se ve favorecida por la vasodilatación producida por la saliva de la garrapata,

Si no hay tratamiento antibiótico adecuado entonces la espiroqueta colonizará múltiples órganos, articulaciones, sistema nervioso, corazón, etc., debido a las proteínas de membrana que expresa la bacteria y a diversos receptores del hospedador. Una de estas proteínas es la expresada por el gene *bbk32* que codifica para la proteína de unión a fibronectina que permite la unión de la bacteria a la matriz extracelular del vertebrado. También existen las proteínas de unión a la decorina A y B expresadas por los genes *dbpA* y *dbpB* que permiten la unión de la bacteria a los glucosaminoglucanos asociados a las fibras de colágeno (Pourel & Chary-Valckenaere, 2007). Adicionalmente cuenta con integrinas permitiendo su unión a órganos blandos (Murillo-Varela, 2013).

La activación de la respuesta inmune innata se produce mediante receptores TLR, siendo TLR2 el principal. La respuesta mediada por anticuerpos IgM se dirige contra la flagelina y *OspC*. *Borrelia burgdorferi* puede inactivar el factor C3b del complemento debido a sus proteínas de superficie CRASP (Proteínas de superficie para la adquisición del regulador del complemento) logrando de este modo sobrevivir en el hospedador vertebrado (Pourel & Chary-Valckenaere, 2007). Su expresión varía entre genoespecies, siendo que *B. garinii* es sensible al complemento (Murillo-Varela, 2013). La espiroqueta posee la capacidad de modular sus antígenos principales ya sea disminuyendo o aumentando su expresión (Pourel & Chary-Valckenaere, 2007).

En las formas tardías de la enfermedad la patogenia no está del todo clara. Se ha encontrado que en casos de artritis crónica la espiroqueta puede penetrar las células fibroblásticas y sinoviales, sobreviviendo a tratamientos con ceftriaxona, que sólo elimina los microorganismos extracelulares (Pourel & Chary-Valckenaere, 2007). La acrodermatitis crónica atrófica es muy común en Europa y en casos raros se presenta en EUA. Las lesiones evolucionan progresivamente hasta llegar a una atrofia definitiva si no se

recibe tratamiento antibiótico oportuno. Las zonas atróficas presentan epidermis arrugada y brillante, además de adelgazamiento de la dermis, permitiendo la observación de vasos sanguíneos. Los análisis serológicos muestran una alta concentración de IgG contra *Borrelia* (Lenormand *et al.* 2017).

En la actualidad se desconoce la relación que exista entre el escaso número de espiroquetas hallado en tejido y la severidad de la enfermedad en cada estadio (Escudero-Nieto & Guerrero-Espejel, 2005).

## **2.7 Diagnóstico**

En la actualidad no se han establecido criterios de diagnóstico para la EL aunque este se realiza primordialmente mediante la presencia de EM ya que es la lesión característica de dicha enfermedad pero no se presenta en todos los casos. Al parecer las lesiones causadas por *B. garinii* se desarrollan más rápido que las causadas por *B. afzelii*; sin embargo, hay un tipo de lesión parecida al EM que han aparecido en ciertas poblaciones en EUA a las que se les ha denominado STARI por sus siglas en inglés “southern tick-associated rash illness” y se sospecha que el agente causal es la garrapata *Amblyomma myxum* (Borchers *et al.*, 2015).

Cuando en el paciente la lesión cutánea está ausente y se sospecha de EL se debe considerar si ha estado en zonas de alto riesgo de exposición a garrapatas, si tiene mascotas con garrapatas o si le ha mordido alguna garrapata ya que las manifestaciones que se presentan no son específicas. En cualquier caso se debe asegurar que el cuadro clínico haya iniciado después de la mordedura de la garrapata para evitar confundir la EL con algún otro padecimiento ya que el cuadro clínico por sí solo es bastante ambiguo.

Si la garrapata que se encontraba alimentándose del mamífero se ha removido temprana y correctamente el riesgo de infección disminuye aunque también dependerá de la genoespecie de *Borrelia*. Si la garrapata fue removida tardíamente o de una forma inadecuada se iniciará tratamiento a corto plazo como método profiláctico.

En los animales domésticos sintomáticos no aparece EM y las manifestaciones más comunes son signos cardíacos y artritis.

Existen ya distintos métodos de diagnóstico para la EL entre los que se encuentran, en primera instancia, la detección de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* por serología; sin embargo, no nos indicará si el paciente tiene una infección nueva o si se trata de una reinfección, por lo que las manifestaciones clínicas son muy importantes (Cutler *et al.*, 2017), además podría haber falsos positivos si hay presencia de otras espiroquetas infectando al paciente.

Para el caso de los inmunoblots los CDC han establecido bandas específicas de proteínas de *B. burgdorferi* que corresponden a inmunoglobulinas IgM o IgG y que deben ser visibles para confirmar un caso de infección. Generalmente la IgM es detectable después de dos a cuatro semanas de que inició la infección; y la IgG es detectable después de 4-6 semanas. Experimentalmente se ha observado que la IgG llega a su punto máximo aproximadamente a los 90 días después de la exposición a la garrapata.

Se ha observado en pacientes que han presentado únicamente EM la ausencia de seroconversión, principalmente en Europa; además, en pacientes que han recibido tratamiento tempranamente la seropositividad puede ser suprimida.

La reacción en cadena de polimerasa (PCR) es una técnica que se utiliza para confirmar la infección por *Borrelia burgdorferi* pero es utilizada

principalmente para fines de investigación. Tiene una sensibilidad del 75–80% en biopsias de piel con EM, 15–30% en líquido cefalorraquídeo (LCR) y 60–85% en líquido sinovial (Borchers *et al.*, 2015).

Otra técnica de diagnóstico es la microscopía con espiroquetas teñidas en diversos tejidos. Como estándar de oro se utiliza el cultivo microaerófilico de la espiroqueta que crece mejor a 30°C en medios de cultivo Barbour-Stoenner-Kelly (BSK) o Kelly-Pettenkoffer modificado (MKP), aunque una desventaja es que el crecimiento bacteriano es muy lento, llegando a tardar más de tres meses (Herrera, Infante, Ramírez, & Labastida, 2011), además de ser difícil debido a muchos factores relacionados al vector, la espiroqueta, el medio y las condiciones de cultivo interfieren con facilidad (Cutler *et al.*, 2017), además de la baja sensibilidad que tiene. (Borchers *et al.*, 2015).

Si el paciente presenta cualquier manifestación que sugiera EL (a excepción de EM) se deben realizar pruebas de laboratorio confirmatorias (Borchers *et al.*, 2015).

Cabe destacar que el diagnóstico debe establecerse tomando en cuenta la siguiente relación: si el paciente ha estado en zonas de alto riesgo a exposición de garrapatas, si presenta un cuadro clínico que sugiera EL y los resultados obtenidos de exámenes de laboratorio. (Cutler *et al.*, 2017)

## **2.8 Tratamiento**

Para dar solución a la infección contra *Borrelia burgdorferi* se utilizan antibióticos como  $\beta$ -lactámicos (cefalosporinas, amoxicilina), tetraciclinas (doxiciclina) y en ocasiones macrólidos (azitromicina). El tratamiento de elección y la duración del mismo aún están en debate (Borchers *et al.*, 2015) aunque el medicamento utilizado más comúnmente es la doxiciclina (Krupka & Straubinger, 2010).

Un tratamiento administrado tempranamente resulta ser eficaz, sin embargo, se ha observado en un 10 a 20% de los pacientes que han recibido tratamiento presentan síntomas persistentes como afectaciones neurológicas, dolor muscular, artralgias, irritabilidad, dolor de cabeza y fatiga llegando a durar más de 6 meses después de haber recibido el tratamiento. A esto se le ha denominado como “síndrome post-tratamiento de la enfermedad de Lyme”. Se sugiere que esto se debe a la presencia de espiroquetas resistentes a los antibióticos (Feng *et al.*, 2016).

## **2.9 Medidas preventivas**

Utilizar ropa que cubra la mayor parte de la piel y después de las actividades al aire libre revisar todo el cuerpo, así como ducharse dentro de las 2 horas posteriores a las actividades. Utilizar repelentes de insectos son medidas preventivas sencillas de llevar a cabo y evitar así la mordida de la garrapata y por lo tanto la infección por *Borrelia burgdorferi* (Schotthoefler, & Frost, 2015).

Evitar caminar por zonas en las que la hierba esté demasiado alta, la correcta y pronta eliminación de la garrapata después de que se ha adherido a la piel son medidas de prevención importantes (Borchers *et al.*, 2015). La remoción de los artrópodos debe realizarse con pinzas de punta delgada colocándolas lo más cercanamente posible a la piel y realizando una tracción suave. Se deben usar guantes en todo momento para reducir la posibilidad de contacto con los fluidos corporales de la garrapata que pudieran contener organismos infecciosos.

Como otra medida preventiva los perros deben revisarse frecuentemente en busca de garrapatas, en caso de encontrarlas se deben retirar cuidadosamente con la técnica anteriormente descrita (Acha & Szyfres, 2001).

## 2.10 Otros hospedadores.

Los perros, al igual que el humano, presentan un cuadro clínico ambiguo que puede incluir fiebre, malestar general, anorexia, fatiga, cojera que refiere artritis, e hinchazón de ganglios linfáticos; sin embargo, suele desaparecer a los pocos días e incluso algunos cánidos no lo desarrollan (Krupka & Straubinger, 2010). Generalmente la artritis es temporal pero es factible que se desarrolle una fase crónica (Acha & Szyfres, 2001).

Krupka & Straubinger (2010) realizaron una inducción experimental de la infección encontrando que poco más del 75% de los perros desarrolló EL. No se ha descrito EM en este tipo de hospedador.

En el sureste y centro de EUA menos del 0.5% de un millón de perros que fueron analizados para observar la presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* resultaron ser seropositivos (Meal, 2015).

Se ha considerado al ratón de patas blancas (*Peromyscus leucopus*) como el mejor reservorio de *Borrelia burgdorferi* en Norte América ya que se ha estimado que más del 90% de los ratones expuestos a ninfas infectadas con la espiroqueta se infectan también; sin embargo, a pesar de permanecer infectados toda su vida, no desarrollan ningún signo o síntoma de la enfermedad. Estos ratones quedan como portadores sanos, jugando un papel importante en la transmisión de la espiroqueta. Según Schotthoefer & Frost (2015) de un 25 a un 35% de las garrapatas libres de infección que se alimentan de ratones con *Borrelia burgdorferi* se infectan.

En equinos se han observado síntomas como cojera por artritis, encefalitis, uveítis, dermatitis y edema mientras que en bovinos se ha percibido únicamente cojera.

No se sabe si los animales silvestres presentan síntomas de la enfermedad. (Acha & Szyfres, 2001).

### **3 Pregunta de investigación.**

¿Cuál es la frecuencia de infección de *B. burgdorferi* en garrapatas colectadas sobre perros de áreas urbanas de Chihuahua, Nuevo León, un área rural de Yucatán y un área suburbana Campeche?

### **4 Objetivo general:**

Determinar la frecuencia de infección de *Borrelia burgdorferi* en garrapatas recolectadas sobre perros provenientes de los estados de Chihuahua, Nuevo León, Yucatán y Campeche utilizando PCR.

### **5 Objetivos particulares..**

- Realizar la obtención de ADN, cuantificarlo y evaluar su integridad mediante electroforesis.
- Utilizar la PCR para amplificar los genes *OspA* (que codifican para la proteína *OspA* expresada dentro de la garrapata) y *fla* (que codifica para la flagelina, componente esencial de los flagelos periplasmáticos) de *Borrelia burgdorferi* en muestras de ADN de garrapatas obtenidas sobre perro.
- Determinar la frecuencia de infección de *Borrelia burgdorferi* en garrapatas obtenidas sobre perros.

## 6 Metodología:

Estudio transversal descriptivo. En la ciudad de Chihuahua, Chihuahua, todos los perros que participaron en el estudio eran provenientes de centros de control canino repartidos en varias regiones de la capital; los de Monterrey, Nuevo León eran de centros de control canino y muy pocos de clínicas veterinarias distribuidos en distintas regiones de la ciudad (norte, centro y sur) (Tamez, 2015); los de Campeche, Campeche eran perros cazadores con dueño de la región suburbana de Chiná (pueblo), Bobolá (ejido) , INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias localizado en el pueblo de Chiná, Olá (ejido) y Xcampeu (ejido) (Rojero-Vazquez, Gordillo-Pérez & Weber, 2017); y los de Mérida, Yucatán eran perros con dueño de la zona rural de Molas (Figura 17). El muestreo realizado fue no probabilístico por conveniencia a partir de una inspección visual de perros en búsqueda de garrapatas, aquellos que las poseían eran escogidos para este estudio.

Se recolectó el mayor número posible de garrapatas de cada perro utilizando pinzas de relojero. De acuerdo a la metodología de Vargas *et al.* 2012 las pinzas se colocan en la base del gnatosoma y se jala hacia arriba para poder obtener el ejemplar lo más íntegro posible; sin embargo, algunas garrapatas no se lograron extraer completamente y por ello no se consiguió la identificación de la especie en cuestión.



**Figura 18.** Zonas de recolección de garrapatas sobre perros. A) Chihuahua, Chihuahua; B) Monterrey, Nuevo León; C) Campeche, Campeche: 1. Olá; 2. Chiná; 3. INIFAP; 4. Bobolá; 5. Xcampeu; D) Molas, Mérida, Yucatán.

Las garrapatas obtenidas se depositaron en etanol al 70% en tubos Eppendorf® de 1.5mL y se enviaron a la colección de la Dra. María Guadalupe Gordillo Pérez en el laboratorio de Enfermedades Infecciosas Emergentes, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias (UIMEIP), Unidad de Alta Especialidad Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) para su identificación mediante claves taxonómicas ya establecidas utilizando un microscopio estereoscópico (Figura 19) (Guzmán-Cornejo & Robbin 2010). La identificación fue realizada por biólogos y acarólogos de la UIMEIP.



**Figura 19.** Garrapata identificada como *Ixodes scapularis* en el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas Emergentes, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias (UIMEIP), Unidad de Alta Especialidad Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) de acuerdo a las características del gnatosoma, base del capítulo, escudo. Esta garrapata proveniente de Campeche no fue incluida en el estudio ya que se destinó a la colección de la Dra. María Guadalupe Gordillo Pérez.

Una vez identificadas las garrapatas se procedió a extraer el ADN eligiendo de cada perro una garrapata en estadio preferencialmente adulto y ninfal para realizar la extracción de ADN.

En el caso particular de las regiones anteriormente mencionadas de Campeche se seleccionaron las muestras sanguíneas de los perros con garrapatas incluidos en este estudio a partir del banco de sueros y tejidos de la Dra. María Guadalupe Gordillo Pérez para su posterior extracción de ADN y realización de PCR en busca de la espiroqueta *Borrelia burgdorferi*.

La extracción de ADN tanto de garrapatas como de sangre periférica de los cánidos se llevó a cabo utilizando el kit comercial de QIAamp tissue kit

Qiagen®. El DNA obtenido se almacenó en refrigeración (-20°C) para mantener la integridad y pureza.

Se evaluó la integridad del ADN realizando un corrimiento electroforético en gel de agarosa al 1.5% y utilizando transiluminación ultravioleta para revelar.

Posteriormente se realizó su cuantificación utilizando el equipo NanoDrop® ND-1000 Spectrophotometer.

Se realizó la PCR de punto final utilizando un par de primers para amplificar el gen *fla* (que codifica para la flagelina de *Borrelia burgdorferi*, proteína estructural de los flagelos periplasmáticos que posee) y otro par de primers para amplificar el gen *OspA* (que codifica para la proteína de superficie tipo A de *Borrelia burgdorferi*, la cual permite la colonización del intestino medio de la garrapata) con un promedio de 80ng de material genético para cada reacción. Se utilizó la metodología especificada por Gordillo-Pérez (2007).

Se realizó el corrimiento electroforético utilizando un gel de agarosa al 1.5% para observar la presencia o ausencia de amplicón de los fragmentos de genes seleccionados de aproximadamente 300pb para cada gen (Figura 20, 21).

Finalmente dos muestras de garrapatas positivas a *Borrelia burgdorferi* se secuenciaron y se realizó el alineamiento utilizando la herramienta bioinformática BLAST para conocer la geno especie de la espiroqueta presente en cada una de ellas.

## **7 Resultados.**

Las garrapatas recolectadas fueron identificadas por biólogos y acarólogos de la UIMEIP como se muestra a continuación:

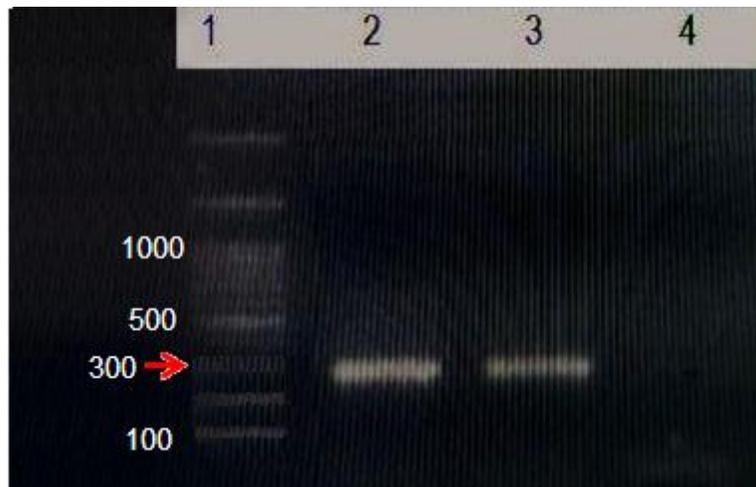
Chihuahua: *Rhipicephalus sanguineus* (28 ejemplares).

Nuevo León: *Amblyomma mixtum* (3 ejemplares) *Rhipicephalus sanguineus* (138 ejemplares), *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (2 ejemplares), siendo 143 en total.

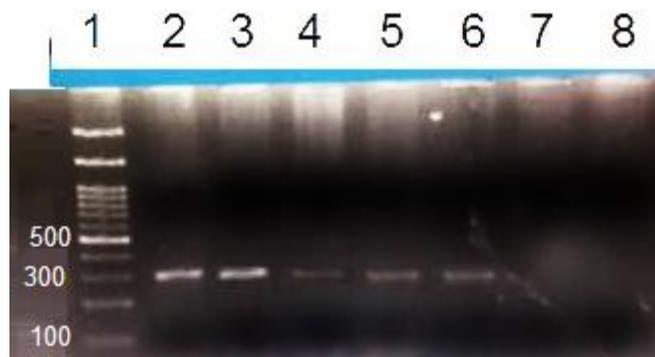
Campeche: *Amblyomma longirostre* (1 ejemplar), *Amblyomma mixtum* (2 ejemplares), *Amblyomma spp* (4 ejemplares), *Rhipicephalus sanguineus* (6 ejemplares), *Ixodes affinis* (3 ejemplares), *Ixodes spp* (1 ejemplar) y *Haemaphysalis spp* (1 ejemplar), siendo 18 garrapatas en total.

Yucatán: *Amblyomma americanum* (2 ejemplares), *Amblyomma longirostre* (3 ejemplares), *Amblyomma spp* (1 ejemplar), *Dermacentor andersoni* (2 ejemplares), *Dermacentor spp* (1 ejemplar), *Rhipicephalus sanguineus* (74 ejemplares), *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (11 ejemplares), siendo un total de 94 ejemplares (Tabla N. 4).

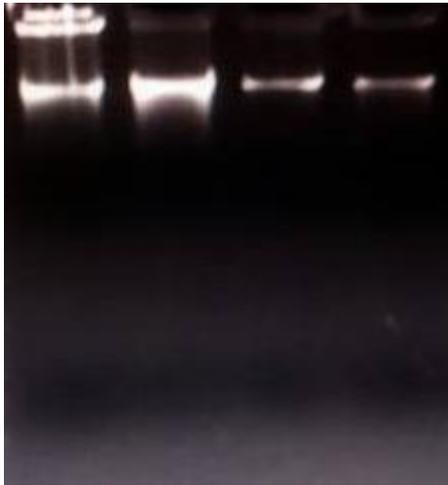
Las garrapatas infectadas con *Borrelia burgdorferi* fueron: en Chihuahua 4 *Rhipicephalus sanguineus* de 28 garrapatas (4 para el gen OspA y 1 de ellas para el gen fla); en Nuevo León 4 *Rhipicephalus sanguineus* y 1 *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* de 143 garrapatas (todas para el gen OspA); en Campeche 1 *Ixodes affinis* (para el gen OspA) y 1 *Ixodes spp* (para el gen fla) de 18 garrapatas; en Yucatán 4 *Rhipicephalus sanguineus* de 94 garrapatas (2 para el gen OspA y 2 para el gene fla) (Tabla N. 4).



**Figura 20.** Electroforesis en gel de agarosa del gen *OspA* de *B.burgdorferi*. Carril 1: Marcador de peso molecular de 100pb; carril 2: C(+); carril 3: Amplicón de garrapara *Ixodes affinis* de Campeche PCR (+) ; carril 4: C(-). La flecha roja indica 300pb, peso molecular esperado en muestras positivas para el fragmento de DNA seleccionado de la bacteria.



**Figura 21.** Electroforesis en gel de agarosa del gen *fla* de *Borrelia burgdorferi*. Carril 1: Marcador de peso molecular de 100pb; carril 2: C(+); carriles 3, 4, 5 y 6: Amplicones de sangre periférica de perros de Campeche PCR (+), carril 7: Sangre periférica de perro de Campeche PCR (-); carril 8: C (-).



**Figura 22.** Electroforesis en gel de agarosa para evaluar la integridad del ADN extraído. Se observan bandas de alto peso molecular por lo que se corrobora que el material genético de 4 de las muestras utilizadas se encuentra intacto.

En los 4 estados de la República Mexicana se encontraron garrapatas infectadas, la frecuencia de infección por *Borrelia burgdorferi* fue mayor en el norte comparado con dos estados de la Península de Yucatán (Tabla N.4).

**Tabla N. 4.** Frecuencia de infección de *Borrelia burgdorferi* en garrapatas de 4 estados de la República Mexicana.

Garrapatas n= 283	Chihuahua n=28		Nuevo León n=143		Campeche n= 18		Yucatán n= 94	
	OspA	Fla	OspA	Fla	OspA	Fla	OspA	Fla
<i>Amblyomma americanum</i>	-----	-----	-----	-----	-----	----	0/2	-----
<i>Amblyomma longirostre</i>	-----	-----	-----	-----	0/1	----	0/3	0/2
<i>Amblyomma mixtum</i>	-----	-----	0/2	0/3	0/2	0/2	-----	-----
<i>Amblyomma spp</i>	-----	-----	-----	-----	0/4	----	0/1	0/1
<i>Dermacentor andersoni</i>	-----	-----	-----	-----	-----	----	0/2	0/2
<i>Dermacentor spp</i>	-----	-----	-----	-----	-----	----	-----	0/1
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>4/86</b>	0/52	0/6	----	<b>2/63</b>	<b>2/49</b>
<i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	-----	-----	<b>1/ 2</b>	-----	-----	----	0/5	0/11
<i>Ixodes affinis</i>	-----	-----	-----	-----	<b>1/3</b>	----	-----	-----
<i>Ixodes spp</i>	-----	-----	-----	-----	0/1	<b>1/1</b>	-----	-----
<i>Haemaphysalis spp</i>	-----	-----	-----	-----	0/1	----	-----	-----
Frecuencia de infección	<b>14.28% (4/28)</b>	<b>1/ 2</b>	<b>5.55% (5/90)</b>	0/55	<b>5.5% (1/18)</b>	<b>1/3</b>	<b>2.63% (2/76)</b>	<b>3.03% (2/66)</b>

Las garrapatas positivas para *Borrelia burgdorferi* en Campeche fueron de las zonas ejidales de Bobolá y Xcampeu; regiones contiguas que se encuentran rodeadas de vegetación, proporcionando un ambiente favorable para el desarrollo de garrapatas (Figura 18, Tabla N. 5).

**Tabla N. 5.** Resultados de PCR por género de garrapatas de acuerdo a las localidades de Campeche. En negro se resaltan los resultados positivos para *Borrelia burgdorferi*

Género de la garrapata	Localidad de recolección					PCR realizada en garrapatas	
	Bobolá	Chiná	Inifap	Olá	Xcampeu	OspA	Fla
<i>Ixodes affinis</i>	<b>1/2</b>	0/1	---	---	---	<b>1/3</b>	---
<i>Ixodes spp</i>	---	---	---	---	<b>1/1</b>	0/1	<b>1/1</b>
<i>Amblyomma mixtum</i>	0/1	---	---	---	0/1	---	0/2
<i>Amblyomma spp</i>	0/3	---	---	0/1	---	0/4	---
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	---	---	0/1	0/2	0/3	0/6	---
<i>Amblyomma longirostre</i>	---	---	---	---	0/1	0/1	---
<i>Haemaphysalis spp</i>	---	0/1	---	---	---	0/1	---
Total n=18	<b>1/6</b>	0/2	0/1	0/3	<b>1/6</b>	<b>1/16</b>	<b>1/3</b>

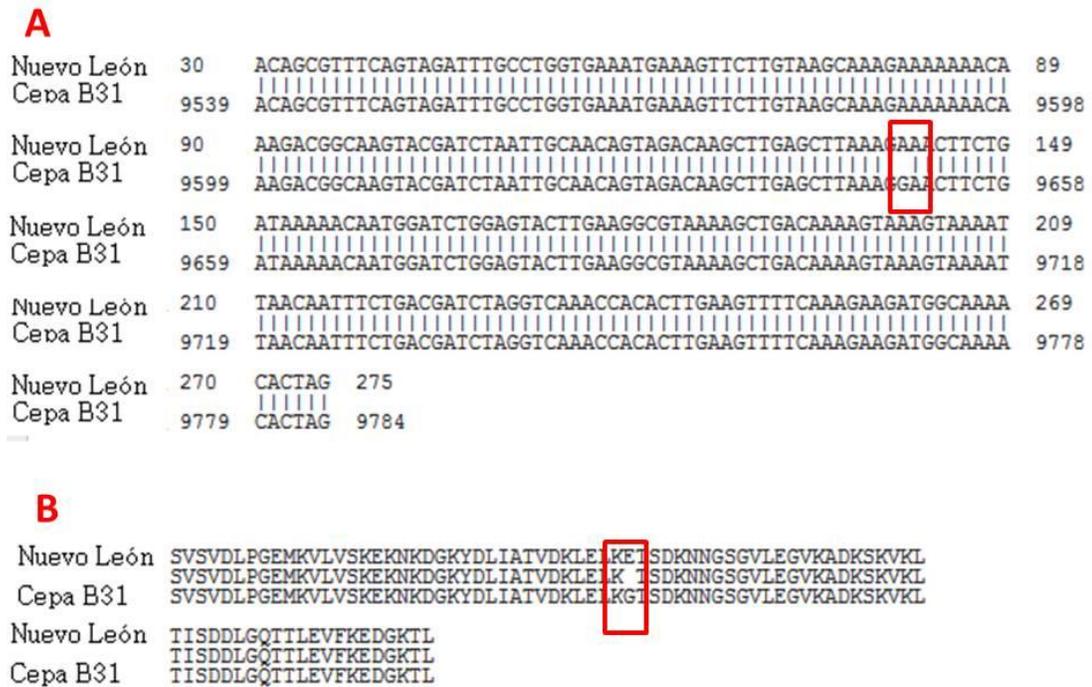
En las 5 regiones muestreadas de Campeche se hallaron cánidos infectados con *Borrelia burgdorferi* en altas proporciones, llegando a ser del 88.8%, prevalencia muy elevada (Tabla N.6).

**Tabla N. 6.** PCR realizada en sangre periférica obtenida de los perros parasitados de Campeche por regiones. Se muestra una alta prevalencia de infección en hospedadores domésticos.

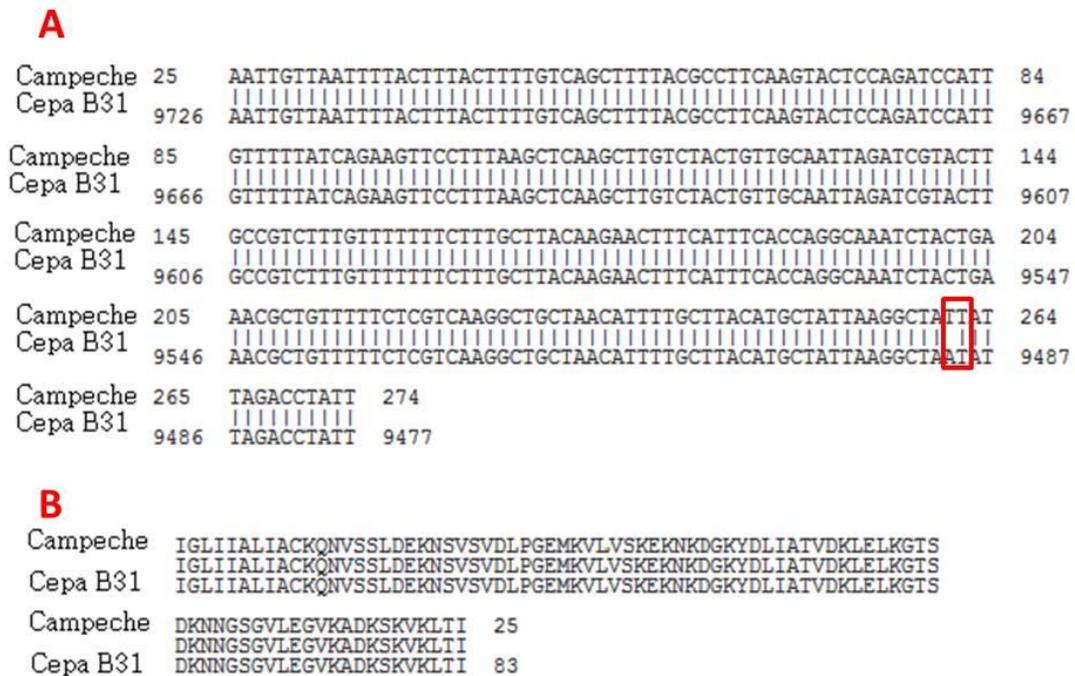
Región	Resultados PCR		Total de perros infectados con <i>Borrelia burgdorferi</i>
	OspA	Fla	
Bobolá	0/3	<b>2/2</b>	<b>2/3</b>
Chiná	0/2	<b>3/3</b>	<b>3/3</b>
INIFAP	0/2	<b>3/3</b>	<b>3/3</b>
Olá	---	<b>5/5</b>	<b>5/5</b>
Xcampeu	0/3	<b>3/4</b>	<b>3/4</b>
			<b>16/18 (88.8%)</b>

Los amplicones que fueron secuenciados corresponden a *R. sanguineus* e *Ixodes affinis* procedentes de Nuevo León y Campeche respectivamente. Mostraron una homología del 99% con la cepa B31 de *Borrelia burgdorferi sensu stricto* en ambos casos (Figura 23, Figura 24).

Las secuencias presentaron mutaciones puntuales por lo que se realizó un alineamiento de aminoácidos y se encontró que para la muestra de Nuevo León la mutación generó un cambio en el marco de lectura con un cambio en la traducción del aminoácido Glicina por Ácido glutámico (Figura 23). Por otra parte, la muestra de Campeche tuvo una mutación puntual que no generó cambios en el marco de lectura (Figura 24).



**Figura 23.** Alineamiento de la secuencia del gen *OspA* amplificado del DNA garrapata de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* colectada sobre perro del estado de Nuevo León con la cepa B31 de *Borrelia burgdorferi sensu stricto* con homología del 99%. A) Alineamiento de nucleótidos donde se observa en la muestra de garrapata una transición de guanina por adenina B) Alineamiento de aminoácidos donde se observa que la mutación puntual provocó un cambio del aminoácido glicina por ácido glutámico.



**Figura 24.** Alineamiento de la secuencia del gene OspA amplificado del DNA de garrapata *Ixodes affinis* colectada sobre perro en el estado de Campeche con la cepa B31 de *Borrelia burgdorferi sensu stricto* con homología del 99%.

A) Alineamiento de nucleótidos donde se observa en la muestra de garrapata una transversión de adenina por timina. B) Alineamiento de aminoácidos donde se observa que la mutación puntual no afectó el marco de lectura.

## 8 Discusión

El incremento de la incidencia de casos de borreliosis se ha debido a varios factores como la urbanización, que induce cambios en los hábitos de alimentación de pequeños mamíferos y las poblaciones de venados, y la deforestación principalmente (Schotthoefer & Frost, 2015).

Además, el cambio climático tiene un papel muy importante en el ciclo de vida del vector ya que afecta la duración de los estadios y la distribución geográfica de los mismos y de sus hospedadores. Se ha reportado que cuando la temperatura ambiental aumenta, los ciclos de vida del vector se acortan y la densidad de población de garrapatas es más alta, lo cual podría aumentar el riesgo de diseminación de la EL (Feria-Arroyo *et al.*, 2014).

En el presente estudio se observó la existencia de *Borrelia burgdorferi* en el norte de la República Mexicana (Nuevo León y Chihuahua). Anteriormente se había reportado la presencia de la enfermedad en pacientes de Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Veracruz, Jalisco y la Ciudad de México siendo en el noreste la mayor prevalencia de casos (Gordillo *et al.*, 1999), por lo cual queda confirmado que la espiroqueta sigue manteniendo su ciclo de vida, sin embargo, en este estudio únicamente se identificaron garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* de las cuales 8 estaban infectadas, demostrando que esta garrapata se está comportando como un vector potencial y, junto con el perro (hospedadores de *Rhipicephalus sanguineus*), sugiere que *B. burgdorferi* está propagándose en el ciclo doméstico en dicha zona.

La garrapata *Rhipicephalus sanguineus* es la más común encontrada sobre perros, es por esto que se ha denominado también como “la garrapata café del perro” y está distribuida ampliamente en el mundo. El hecho de que *Rhipicephalus sanguineus* sea capaz de albergar al agente etiológico es alarmante debido a la cercana relación que mantiene con el humano. La situación se complica sabiendo que el 70% de los perros en la República

Mexicana se encuentran en situación de calle y las medidas de higiene son escasas (Torres, 2015).

Anteriormente no se había establecido relación alguna entre la EL con *Rhipicephalus sanguineus*. Desafortunadamente no se pudieron obtener muestras sanguíneas de perro que pudieran ser analizadas en busca de la espiroqueta y de este modo lograr un panorama general sobre la transmisión del patógeno al hospedador a través de *R. sanguineus* como vector.

Sobre los perros muestreados de Chihuahua y Nuevo León no se encontraron garrapatas del género *Ixodes* por lo que se sospecha que al menos en las zonas usadas para los muestreos éstas siguen conservándose dentro del ciclo silvestre en áreas boscosas (Gordillo *et al.*, 2009).

En Campeche se encontró que las garrapatas positivas a *Borrelia burgdorferi* se localizaron en las zonas rurales ejidales de Bobolá y Xcampeu, lo cual implica un riesgo para la población (Tabla N. 5).

En Campeche se identificó a *Ixodes affinis* infectada con *Borrelia burgdorferi*. Este vector fue reportado recientemente en Yucatán (Heller *et al.*, 2015, (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2016). Es posible que esta especie de garrapata se esté comportando como un vector potencial de *Borrelia burgdorferi*, contribuyendo de este modo en el mantenimiento del ciclo silvestre y doméstico ya que en 2015 Solís-Hernández, Rodríguez-Vivas, Pérez-Barrera, Esteve-Gassent & Apanaskevich encontraron una incidencia de *Ixodes affinis* en perros del 11.11% en dos comunidades de Yucatán.

Anteriormente se había reportado a *I. affinis* en zonas rurales o selváticas del país manteniendo el ciclo silvestre, a diferencia de *I. scapularis* que además de estar involucrado en el ciclo silvestre, también lo está en el ciclo doméstico (Solís-Hernández, Rodríguez-vivas, Esteve-Gassent, & Villegas-Pérez, 2016).

*I. affinis* está ampliamente distribuida en el territorio sureste de EUA y también ha sido reportada en México por Guzmán-Cornejo & Robbin 2010, en los estados de Yucatán y Chiapas. Se ha encontrado parasitando mamíferos como: perros, gatos, caballos, coatíes de hocico blanco, venados de cola blanca, ocelotes, zopilotes y bovinos (Rodríguez-Vivas, 2016).

Se sugiere que ha llegado a la península de Yucatán debido a aves migratorias que vienen desde Norteamérica y pasan la temporada de invierno en gran parte de México (Heller *et al.*, 2015).

*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, que es la garrapata más importante del ganado bovino a nivel mundial; sin embargo, en este estudio se encontró sobre perro, demostrando que está buscando nuevos hospedadores por factores que se desconocen, además de actuar como vector potencial para *Borrelia burgdorferi*. Esta cuestión es preocupante ya que representa un problema de salud tanto para los caninos debido a la pérdida de sangre y las complicaciones que esto conlleva, como para los humanos por la posibilidad de transmisión de la espiroqueta sin mencionar el riesgo de parasitismo de otros animales domésticos y silvestres.

No se había establecido con anterioridad la relación de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* con *Borrelia burgdorferi*. Se desconoce si existe transmisión transovárica de *Borrelia burgdorferi* en *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, por lo que se debe considerar que si una garrapata de esta especie se ha alimentado del perro infectado y adquiere al patógeno, oviposita en el suelo y las larvas suben a un bovino, estos animales podrían infectarse; de este modo, los bovinos podrían funcionar como reservorios de *Borrelia burgdorferi*.

Debe tomarse en cuenta que México es un país con gran actividad ganadera en donde el producto de mayor demanda es el generado por el ganado bovino (Fideicomiso de riesgo compartido, 2017), por lo que encontrar

*Borrelia burgdorferi* en *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es un factor de riesgo para la población. Si aunamos a esto la presencia de ésta garrapata en perros y no sólo en bovinos, además de que *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no es la única especie de garrapata que se sube a los bovinos, se favorece la posibilidad de diseminación de *Borrelia burgdorferi* hacia otros vertebrados y probablemente hacia nuevas especies de garrapatas.

Aunque la zona norte de México mostró tener una mayor frecuencia de infección por *Borrelia burgdorferi* en comparación con la zona sur, ninguna área deja de representar un riesgo para la salud de humanos y animales.

La zona del sur de México tiene condiciones climáticas favorables para la proliferación de las garrapatas, la vegetación y disponibilidad de hospedadores, es por esto que se recolectó mayor variedad de garrapatas en ésta área (Tabla N. 4 y Tabla N.5).

Las regiones muestreadas en el norte del país fueron zonas urbanas habitadas por lo que existe riesgo de infección en la población humana.

De igual modo, el aumento de la densidad de población humana ha ido obligando a las personas a extender las zonas habitacionales hacia el campo invadiendo regiones con vegetación y facilitando la interacción de las garrapatas con perros y a su vez con humanos. Asimismo, la poca atención sanitaria prestada a los canes aumenta la probabilidad de diseminación de la garrapata y de la espiroqueta en un ciclo doméstico.

Los perros con infección por *B. burgdorferi* confirmada en su mayoría estuvieron infestados de garrapatas ya que, al tratarse de animales con dueños en zonas rurales, cazadores, de perreras y recién llevados a clínicas veterinarias, carecían de atenciones como algún tipo de tratamiento preventivo, remoción de garrapatas por sus propietarios y poca regulación del crecimiento poblacional de éstos parásitos, por lo que se favorece la

dispersión de garrapatas infectadas con este u otros patógenos (Rojero-Vazquez, 2016).

El análisis de sangre periférica de perros de Campeche mostraron que el 88.8% de ellos se encontraban infectados, esta situación es inquietante debido a que pueden transitar libremente por todos los espacios, pudiendo, de este modo, esparcir las garrapatas infectadas (Tabla N.5).

Un mayor número de garrapatas demandará más alimento y por lo tanto se distribuirán en un mayor número de hospedadores, llegando a afectar a aquellos que se encuentren dentro del ciclo doméstico pudiendo, de éste modo, infectar a humanos con mayor facilidad (Schotthoefer & Frost, 2015).

La amplia diversidad de hospedadores de los que se alimenta la garrapata es un factor importante ya que esto puede estar afectando la distribución de las mismas en nuevos hábitats y por lo tanto de la espiroqueta, aumentando la probabilidad de infección en humanos y la incidencia de la enfermedad.

Con los datos obtenidos de la secuenciación se propone que la espiroqueta que se encuentra presente principalmente en México es *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (Figura 23, Figura 24), resultados que respaldan lo encontrado por Gordillo-Pérez (2007) donde se observó que la bacteria que afecta a pacientes con EL adquirida en la República Mexicana pertenece a la geno especie *Borrelia burgdorferi sensu stricto*.

No se puede rechazar la idea de que las mutaciones encontradas en los alineamientos podrían ser las causantes de la presencia de *Borrelia burgdorferi* en *Ixodes affinis* y *Rhipicephalus sanguineus*, lo cual podría representar un caso de evolución y adaptación entre cepas de la espiroqueta y vectores que influyen de manera significativa en la diseminación; sin embargo, se necesitaría secuenciar más muestras y observar si las mutaciones se conservan y afectan el marco de lectura.

## 9 Conclusiones.

Los hallazgos obtenidos en este estudio corresponden con el primer reporte de garrapatas infectadas con *Borrelia burgdorferi*, describiendo nuevas localidades con *Ixodes affinis* y la presencia de un ciclo enzoótico establecido en el estado de Campeche.

*Rhipicephalus sanguineus* y *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* se pueden considerar como vectores potenciales significativos en dos estados del Norte de México. Anteriormente no se les había descrito como tal. Aunque no se ha demostrado la capacidad de *Rhipicephalus sanguineus* y *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* para transmitir la espiroqueta hacia el hospedador vertebrado deben tenerse en consideración ya que, por un lado, México es un país que se dedica ampliamente a la ganadería, principalmente a la ganadería bovina. Por otra parte el crecimiento descontrolado de la población canina en situación de calle es un factor importante en la diseminación de garrapatas.

La presencia de *Borrelia burgdorferi* en garrapatas en zona urbana, suburbana y rural sugiere que la población tiene alto riesgo de adquirir la enfermedad de Lyme, principalmente en la zona norte de México en donde se encontró mayor frecuencia de infección.

Los animales silvestres son los hospedadores principales encargados del mantenimiento de la infección en áreas endémicas; sin embargo, es posible que perros y aves migratorias puedan comportarse como transportadores capaces de dispersar la garrapata infectada hacia el sur incrementando la diseminación de la espiroqueta y, por ende la infección en humanos.

## 10 Perspectivas.

Se busca principalmente informar y concientizar al personal dedicado a laborar en el área de la salud y a la población en general sobre la borreliosis de Lyme ya que se trata de una enfermedad emergente y poco se sabe de ella en territorio Mexicano.

Las perspectivas de trabajos futuros se destinan, por un lado, a completar el análisis en busca de *Borrelia burgdorferi* en perros para calcular una frecuencia de infección de todas las áreas de estudio y no únicamente de Campeche. Por otro lado, realizar la colecta de garrapatas sobre perros y otros animales que tengan contacto con el humano en zonas donde se hayan reportado casos de enfermedad de Lyme diferentes a las analizadas en este trabajo para observar la distribución de la bacteria.

De igual forma sería importante realizar secuenciaciones a más muestras positivas a *Borrelia burgdorferi* para observar si hay mutaciones o no en el DNA de la bacteria y si éstas repercuten en la secuencia de aminoácidos resultante; esto podría relacionarse a la adaptación de la bacteria a nuevos vectores.

Finalmente se puede sugerir un estudio que se enfoque hacia la capacidad de transmisión de *Borrelia burgdorferi* del vector potencial hacia el hospedador y conocer el impacto que esto tendría en la población.

## 11 Referencias.

- Acha, P.N. & Szyfres, B.. (2001). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Enero 15, 2017, de Organización Panamericana de la Salud Sitio web: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=19161&Itemid=270&lang=en](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=19161&Itemid=270&lang=en)
- Borchers, A.T., Keen, C.L., Huntley A.C., & Gershwin M.E. (2015). Lyme disease: a rigorous review of diagnostic criteria and treatment.. *Journal of autoimmunity*, 57(2), 82-115.
- Burgdorfer, W., Barbour A.G., Hayes, S.F., Benach, J.L., Grunwaldt, E. & Davis, J.P. (1982,) Lyme disease. A tick-borne spirochetosis? *Science, new series*, 216(4552), 1317-1319.
- Caine, J. A., & Coburn, J. (2016). Multifunctional and redundant roles of *Borrelia burgdorferi* Outer Surface Proteins in tissue adhesion, colonization, and complement evasion. *Frontiers in immunology*, 7(414),1-11.
- Cervantes-Castillo A.(2013). *Prevalencia de neuroborreliosis de Lyme en hospitales de alta especialidad en el Distrito Federal (1999. 2011.) Tesis de maestría.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Cutler, S.J., Rudenko N., Golovchenko M., Cramaro W.J., Kirpach J., Savic S. *et al.* (2017) Diagnosing borreliosis. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 17(1), 2-11.
- Durand, J., Herrmann, C., Genné, D., Sarr, A., Gern, L., & Voordouw, M. J., (2017). Multistrain infections of the Lyme borreliosis pathogens in the tick vector. *Applied and Environmental Microbiology*, 83 (3), 1-14.

- Escudero-Nieto, R. & Guerrero-Espejo, A. (2005). Enfermedades producidas por *Borrelia*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 23 (4), 232-240.
- Esteve-Gassent, M.A., Pérez de León, A.A., Romero-Salas, D., Feria-Arroyo T.P., Patino, R, Castro-Arellano, I., *et al.* (2014) Pathogenic landscape of transboundary zoonotic disease in the Mexico-US border along the Rio Grande. *Frontiers in Public Health*. 2(1777),1-23.
- Estrada-Peña, A. & de la Fuente, J. (2014). The ecology of ticks and epidemiology of tick-borne viral diseases. *Antiviral Research*. 108, 104-128.
- Feng, J., Weitner, M., Shi, W., Zhang, S. & Zhang, Y. (2016) Eradication of biofilm-like microcolony structures of *Borrelia burgdorferi* by daunomycin and daptomycin but not mitomycin C in combination with doxycycline and cefuroxime. *Frontiers in microbiology*, 7(62), 1-8.
- Feria-Arroyo, T., Castro-Arellano, I., Gordillo-Pérez, G., Cavazos, A., Vargas-Sandoval, M., Grover, A., *et al.* (2014). Implications of climate change on the distribution of the tick vector *Ixodes scapularis* and risk for Lyme disease in the Texas-Mexico transboundary region. *Parasites & Vectors*, 7(199), 1-16
- Fideicomiso de riesgo compartido (2017). La ganadería en México. Recuperado el 31 de enero de 2018 de: <https://www.gob.mx/firco/articulos/la-ganaderia-en-mexico?idiom=es>
- Franta, Z., Sojka, D., Frantova, H., Cvorak, J., Horn, M., Srba, J., *et al.* (2011) IrCL1 – The haemoglobinolytic cathepsin L of the hard tick, *Ixodes ricinus*. *International Journal for Parasitology*. 41(12), 1253–1262.
- Gordillo, G., Torres, J., Solorzano, F., Cedillo-Rivera, R., Tapia-Conyer, R. & Muñoz, O. (1999). Serologic evidences suggesting the presence of *Borrelia burgdorferi* infection in México. *Archives of Medical Research*. 30(1),64-68.

- Gordillo-Pérez, (2007) Caracterización molecular de *Borrelia burgdorferi* adquirida en la República Mexicana y de la respuesta inmune a antígenos de diferentes especies de *Borrelia* en pacientes con borreliosis de Lyme. *Tesis de doctorado*. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Gordillo-Pérez, G., Torres, J., Solórzano-Santos, F., de Martino, S., Lipsker, D., Velázquez, E., Ramon. G., Muñoz, O. & Jaulhac, B. (2007). *Borrelia burgdorferi* infection and cutaneous Lyme disease, Mexico. *Emerging infectious diseases*. 13(10), 1556-1558
- Gordillo-Pérez, G, Torres, J., Solórzano-Santos F., Garduño-Bautista, V., Tapia-Conyer, R. & Muñoz, O., (2003). Estudio seroepidemiológico de borreliosis de Lyme en la Ciudad de México y el noreste de la República Mexicana. *Salud pública de México*. 45(5), 351-355.
- Gordillo-Pérez, G., Vargas, M., Solórzano-Santos, F, Rivera, A., Polaco, O.J. Alvarado, L., *et al.* (2009) Demonstration of *Borrelia burgdorferi sensu stricto* infection in ticks from the northeast of Mexico. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(5), 496–498.
- Gordillo-Pérez, M. G. & Solórzano S.F. (2010). Enfermedad de Lyme. Experiencia en Niños Mexicanos. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 67(2), 164-176
- Gray, J.S., Kahl, O., Lane, R.S., Levin, M.L. & . Tsao, J.I. (2016). Diapause in ticks of the medically important *Ixodes ricinus* species complex. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 7(5), 992–1003.
- Gulia-Nuss,M., Nuss, A.B., Meyer, J.M., Sonenshine, D.E., Roe, R.M., Waterhouse, R.M., *et al.* (2016). Genomic insights in to the *Ixodes scapularis* tick vector of Lyme disease. *Nature communications*, 7(10507), 1-13
- Guzmán-Cornejo, C. & Robbin, R.G. (2010) The genus *Ixodes* (Acari: Ixodidae) in Mexico: adult identification keys, diagnoses, hosts, and distribution. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 81(2), 289- 298.

- Heller, E., Wright, C., Nadolny, R., Hynes, W., Gaff, H. & Walters, E. (2016) New records of *Ixodes affinis* (Acari: Ixodidae) parasitizing avian hosts in southeastern Virginia. *Journal of medical entomology*. 53(2), 441-445.
- Herrera, O., Infante, J., Ramírez, C. & Lavastida H., (2011) Enfermedad de Lyme: historia, microbiología, epizootiología y epidemiología. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. 50(2), 231-244.
- Hoffmann, A. (2003) Animales desconocidos, Relatos acarológicos. México: Fondo de cultura económica.
- Illoldi-Rangel, P., Rivaldi, C.L., Sissel, B., Fryxell, R.T, Gordillo-Perez, G., Rodriguez-Moreno, A. *et al.* (2012) Species distribution models and ecological suitability analysis for potential tick vectors of Lyme disease in Mexico. *Journal of Tropical Medicine*.
- Johnson, L., Wilcox, S., Mankoff, J, & Stricker, R.B. (2014) Severity of chronic Lyme disease compared to other chronic conditions: a quality of life survey. *PeerJ*, 2(322), 1-21.
- Krupka, I. & Straubinger R.K. (2010). Lyme borreliosis in dogs and cats: background, diagnosis, treatment and prevention of Infections with *Borrelia burgdorferi sensu stricto*. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 40 (6), 1103–1119.
- Lenormand, C., Jaulhac, B. & lipsker, D. (2017). Manifestaciones cutáneas de la borreliosis de Lyme. *EMC Elsevier Masson*, 51 (1), 1-12.
- Levi, T., Keesing, F., Oggenfuss, K., Ostfeld, R.S., (2015) Accelerated phenology of blacklegged ticks under climate warming. *Philosophical Transactions. Royal society publishing*, 370, (1665), 1-8.

- Mead, P. (2015) Epidemiology of Lyme disease. *Infectious Disease Clinics of North America*, 29(2), 187-210.
- Murillo-Varela, R., (2013) Enfermedad de Lyme: revisión bibliográfica. *Acta académica*, 52, 353-380.
- Perronne, C., (2015). Critical review of studies trying to evaluate the treatment of chronic Lyme disease. *La Presse Médicale*, 44 (7), 828-831.
- Petzke, M. & Schwartz I., (2015) *Borrelia burgdorferi* pathogenesis and the immune response. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35 (4), 745–764.
- Polanco-Echeverry, D.N., & Ríos-Osorio, L.A., (2016). Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*, 17(1), 81-95.
- Pourel, J. & Chary-Valckenaere, I. (2007) Borreliosis de Lyme. *EMC Elsevier Masson*, 40(14), 1-14
- Radolf, J., Caimano, M., Stevenson, B. & Hu, L. (2012) Of ticks, mice and men: understanding the dual-host lifestyle of Lyme disease spirochaetes. *Nature reviews. Microbiology*, 10 (2), 87-99.
- Rodríguez-Vivas, R.I., Apanaskevich, D.A., Ojeda-Chi, M.M., Trinidad-Martínez, I., Reyes-Novelo, E., Esteve-Gassent M.D. & Perez de León, A.A. (2016) Ticks collected from humans, domestic animals, and wildlife in Yucatan, Mexico. *Veterinary Parasitology*, 215, 106–113.
- Rodríguez, R. I. (2015) *Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria*. México. AMPAVE.
- Rojero-Vazquez, E. (2017). *El papel de los marsupiales y perros en la dinámica de transmisión de tres rikettsias (bacteria) en Campeche, México. Tesis de maestría*. El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR).
- Rojero-Vazquez, E., Gordillo-Pérez, G. & Weber, M. (2017) Infection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia* spp. In oposums and dogs

in Campech, Mexico: The role of tick infestation. *Frontiers in Ecology and Evolution*.5 (161), 1-9.

- Sapi, E., Bastian, S.L., Mpooy, C.M., Scott, S., Rattelle, A., Pabbati, N., *et al.*, (2012). Characterization of biofilm formation by *Borrelia burgdorferi* *in vitro*. *PLoS ONE*, 7(10), pp. 1-11.
- Sanchez, J.L., (2015). Clinical manifestations and treatment of Lyme disease. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(4), 765-778.
- Schotthoefler, A., & Frost, H. (2015) Ecology and epidemiology of Lyme borreliosis. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35 (4),723-743
- Simo, L., Kazimirova, M., Richardson, J. & Bonnet, S. (2017).The essential role of tick salivary glands and saliva in tick feeding and pathogen transmission. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 7 (281), 1-23.
- Solís-Hernández, A., Rodríguez-vivas, R.I., Esteve-Gassent, M.D. & Villegas-Pérez, S.L., (2016) Prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in synanthropic rodents in two rural communities of Yucatán, México. *Biomédica*, 36 (0), 109-117.
- Solís-Hernández, A., Rodríguez-Vivas R.I., Pérez-Barrera, Esteve-Gassent , M.D. & Apanaskevich D.A. (2015) *Ixodes affinis* (Acari: Ixodidae) in dogs from rural localities of Yucatán, México: prevalence and associated factors. *Veterinaria México OA*, 2 (3), 1-9.
- Stanek, G., Wormser, G.P., Gray, J. & Strle, F. (2012). Lyme borreliosis. *The lancet*, 379 (9814), 461- 473.
- Stricker, R. & Middelveen, M. (2015). Sexual transmission of Lyme disease: challenging the tickborne disease paradigm. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 13 (11), 1303-1306.
- Szony, B., Srinath, I., Esteve-Gassent, M., Lupiani, B. & Ivanek, R. (2015). Exploratory spatial analysis of Lyme disease in Texas –what

can we learn from the reported cases?. *BMC Public Health*, 15(924), 1-8.

- Tamez-Gonzalez, R. (2015) *Detección de Borrelia burgdorferi, Ehrlichia canis y Ehrlichia chaffeensis en garrapatas recolectadas de perros en Monterrey, Nuevo León, México. Tesis de Maestría.* Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Toledo A, Crowley JT, Coleman JL, LaRocca TJ, Chiantia S, London E, Benach JL. (2014). Selective association of outer surface lipoproteins with the lipid rafts of *Borrelia burgdorferi*. *mBio* 5 (2), 1-9.
- Tonetti, N., Voordouw, M.J., Durand, J., Monnier, S. & Gern, L. (2015). Genetic variation in transmission success of the Lyme borreliosis pathogen *Borrelia afzelii*. *Ticks and tick-borne diseases*. 6(3), 334-343.
- Torres, A. (2015, julio 19), ¿Cuántos perros hay en México? Recuperado el 31 de enero de 2018 de <https://www.unotv.com/noticias/nacional/detalle/cuantos-perros-hay-mexico-169710/>
- Urbanowicz, A., Lewandowski, D., Szpotkowski, K. & Figlerowicz, M. (2016) Tick receptor for outer surface protein A from *Ixodes ricinus*. The first intrinsically disordered protein involved in vector-microbe recognition. *Scientific Reports*. 6(25205),1-13.
- Vargas, M., Gordillo, G., Montiel, G., Sosa, C., Covarrubias, Y. & Lara, B. (2012) Protocolo de colecta y preparación de reservorios y vectores de la enfermedad de Lyme. Ácaros de importancia en el suelo. *Congreso Latinoamericano de Acarología* . 74-84.
- Vásquez, C.L., Muro, J.J. & Clavijo J.J. (2011). Garrapatas del género *Ixodes Latreille*, 1795 y *Rhipicephalus (Boophilus) Koch*, 1844 (Acari: Ixodidae) presentes en la colección de Zoología Agrícola, Decanato de Agronomía, UCLA, Lara, Venezuela. *Entomotrópica*. 26(2), 89-97.

- Zajac, A.M. & Conboy G.A. (2012). *Veterinary clinical parasitology*. Reino Unido: Wiley-Blackwell.