

N^o 204
2E.V.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DIAGNOSTICO SEROLOGICO DEL AGENTE CAUSAL
DE LA BORRELIOSIS CANINA, BORRELIA
BURGDORFERI, EN 60 PERROS DEL VALLE DE
MEXICO, CUERNAVACA, TOLUCA, Y MORELIA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
JAIME PAUSA GONZALEZ-TOLA



ASESOR:
M.V.Z. LUIS JORGE ALANIS CALDERON

MEXICO, D. F.

1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

**DIAGNOSTICO SEROLOGICO DEL AGENTE CAUSAL DE LA BORRELIOISIS
CANINA, BORRELIA BURGDORFERI, EN 60 PERROS DEL VALLE DE
MEXICO, CUERNAVACA, TOLUCA, Y MORELIA**

**Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la**

**Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista
por**

Jaime Jesus Pausa Gonzalez-Pola

Asesor: M.V.Z. Luis Jorge Alanis Calderon

México, D.F.

1992

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
HISTORIA	4
AGENTE ETIOLOGICO	4
VECTOR	6
PATOGENIA	9
SIGNOS CLINICOS	11
SISTEMA TEGUMENTARIO	11
SISTEMA NERVIOSO	12
SISTEMA CARDIOVASCULAR	13
ARTICULACIONES	14
SISTEMA OCULAR	16
SISTEMA RENAL	16
DIAGNOSTICO	17
TRATAMIENTO	23
CONTROL Y PREVENCIÓN	24
HIPOTESIS	26
OBJETIVO	27
MATERIAL Y METODOS	28
RESULTADOS	32
CONCLUSIONES	34
LITERATURA CITADA	35

RESUMEN

PAUSA GONZALEZ-POLA JAIME JESUS. Diagnóstico Serológico del Agente Causal de la Borreliosis Canina, Borrelia burgdorferi, en 60 perros del Valle de México, Cuernavaca, Toluca, y Morelia.

Asesor: Luis Jorge Alanís Calderón.

La Enfermedad de Lyme, una de las zoonosis de mayor importancia en los Estados Unidos de America y con una distribución mundial causa anormalidades eritematosas, cardiovascular, neurológicas y articular en humanos y en perros.

En este estudio, que consta de 60 perros con y sin dueño del centro de México, se realizó un examen físico general sin encontrar el vector (Ixodes dammini) en ninguno de ellos, así como tampoco mostraron signos clínicos sugestivos de Borreliosis. También, se analizó por medio de la prueba de ELISA la seropositividad al agente etiológico, Borrelia burgdorferi, obteniendo resultados negativos. Esto nos indica que la incidencia de esta enfermedad en el centro de México es baja.

INTRODUCCION

En humanos se conoce con el nombre de Enfermedad de Lyme, Lyme borreliosis o Lyme Artritis; en el perro se le llama Borreliosis canina (33,53,55,56). Dicha enfermedad, ocurre como una inflamación, inmunomediada y multisistémica que afecta a las especies domésticas, silvestres y al hombre (48,54,56). El agente etiológico de esta enfermedad es una espiroqueta del género Borrelia burgdorferi la cual transmite una garrapata del género Ixodes dammini. Esta garrapata requiere de tres huéspedes y tres fases (lufa, ninfa y adulto) para completar su ciclo biológico, siendo la fase de ninfa y adulta, las de mayor importancia en la transmisión de la enfermedad. (5,14,29,45,47,69,70).

Existen algunas diferencias entre las manifestaciones en humanos y en el perro. La Enfermedad de Lyme, en humanos; se presenta en tres etapas; la primera se caracteriza por producir una lesión en piel eritematosa, llamada Eritema Migrans Cronicum (EMC) que se manifiesta en los primeros días de la infección, y se acompaña de malestar, fatiga, dolor de cabeza, dolor muscular generalizado y linfadenopatía. La etapa II se presenta semanas o meses después y los pacientes pueden desarrollar anomalías cardíacas, neurológicas, musculoesqueléticas y ataques recurrentes de artritis. La etapa III se presenta varios meses o años después desarrollando artritis crónica

con erosión de cartilago y hueso (5,16,55,59,63,70,74, 80,81,82).

En la Borreliosis canina, las etapas no están bien definidas y rara vez se presenta la lesión eritematosa en piel que es lo que caracteriza a la enfermedad en humanos. (5,25). La enfermedad en perros se caracteriza por producir fiebre mayor a 40 C, anorexia, claudicación y altrargia. Posteriormente se puede presentar linfadenopatía, glomerulonefritis o miocarditis (5,30,55,56,60,63).

La Enfermedad de Lyme o Borreliosis canina no solo se limita a los E.U.A. si no que tambien existen informes en Europa, Escandinavia, Australia y recientemente en China, Japón y URSS. Se sabe que existen diagnósticos aislados en varias partes de México a través de clínicos en Puerto Vallarta, Guadalajara y Chihuahua aunque no han sido publicados, el diagnóstico se realizó por medio de pruebas para detección de anticuerpo especificos IgG. * (6, 66,74,81).

El criterio para realizar el diagnóstico de la Borreliosis canina es; analizando la historia clínica, signos clínicos, resultados de las pruebas serológicas y la respuesta a los antibióticos, ya que la espiroqueta, B. burgdorferi es sensible a las tetraciclinas, penicilinas y eritromicina. (35,45,62,75,76,81).

* Por comunicación personal del Dr. Marco Antonio Pérez Cortéz.

HISTORIA

El primer informe que existe de la Enfermedad de Lyme en humanos, fué en 1909, en Suecia por el Dr. Afzius, el observó en un paciente que fué mordido por una garrapata del género Ixodes spp. una lesión eritematosa en piel (5,63). En 1922 esta lesión se asocia a problemas neurológicos (82) y en 1968, el Dr. Davis, informa la enfermedad en humanos por primera vez, en el estado de Wisconsin, E.U.A. (29). Posteriormente, en 1975 en el poblado de Lyme, Connecticut, de donde obtiene su nombre la enfermedad, se diagnosticaron varios casos de artritis reumatoide juvenil, que se asosian a la lesión en piel y se sospecha que existe una relación. En 1982, Dr. Willy Burgdorferi descubre el agente etiológico de la Enfermedad de Lyme, una espiroqueta del género Borrelia spp. En 1983, el Dr. Lissman, informa en los E.U.A. por primera vez la enfermedad en los perros. (5,20,29,82).

AGENTE ETIOLOGICO

El agente etiológico de la Borreliosis Canina, es una espiroqueta del género Borrelia burgdorferi, que se ha detectado en humanos, canidos, bovinos, felinos, equinos y de varias especies silvestres, tal como el mono americano (Tamias striatus), ratón pata blanca (Peromyscus leucopus), conejo cola de algodón (Sylvilagus floridanus), racun (Procyon lotor), meadow vole (Microtus pennsylvanicus), venado cola blanca (Odocoileus virginianus), y raton

saltador del monte (Napaeozapus insignis). (3,5,11,22,28,46, 54, 55,56,57,60,81).

B. burgdorferi se ha aislado a partir del intestino medio de las garrapatas del género Ixodes dammini. El grado de infección varía entre las garrapatas, pero las espiroquetas se encuentran en mayor concentración en el intestino medio, donde se pueden observar sobre las microvellosidades y en los espacios intercelulares del epitelio. En las garrapatas con infección generalizada se puede detectar en los ovarios, testículos, ganglios centrales y en menor cantidad en las glándulas salivares (18,19,20,62). También se ha aislado de la sangre, riñón, hígado, ojo, bazo del ratón pata blanca (Peromyscus leuopus), un vector importante en el desarrollo de la garrapata. (3,24).

En pacientes con la Enfermedad de Lyme, se puede aislar a partir de sangre, piel, líquido cerebroespinal, ganglios linfáticos, orina, líquido sinovial, tejido y hueso. (10,20,34,62,73,74,81).

La espiroqueta, Borrelia burgdorferi, tiene la característica de crecer en medio de cultivo Barbour-Stoenner-Kelly a temperatura de 30 a 37 C. Morfológicamente tiene forma de saca corcho, mide de 11 a 39 milimicras de largo y 0.18-0.25 milimicras de diámetro, con 7 a 11 flagelos, es catalasa negativa y su relación citosina/guanina es del 27.3 a 30.5%, tiene dos membranas externas (proteínas) OpaA de peso molecular de 31 kD

(kilodalton) y OpsB de 34 kD que actúan como antígeno de superficie. (5,8,18,81,82).

Los otros miembros del género *Borrelia* son: *B. hermsii* que causa en humanos fiebre recurrente en el suroeste de los E.U.A., *B. recurrentis* que causa Fiebre Africana Recurrente, *B. roriarica* que causa Aborto Epizootico en Bovino en el este de los E.U.A., *B. theileri* causa anemia en el ganado y en el caballo en Africa y Asia y *B. auserina* causa septicemia y diarrea en aves. (5).

VECTOR

El vector de mayor importancia en la transmisión del agente etiológico de la Borreliosis canina, es la garrapata del género *Ixodes dammini*, pero existen otras garrapatas, de menor importancia que pueden transmitir la espiroqueta; *Amblyoma americanum*, *Shipicerphalus sanguineus* y *Dermacentor variabilis*. También existen otros artrópodos, como los mosquitos, mosca del caballo, y mosca del venado con la presencia de la bacteria. Sin embargo no se conoce la asociación en la transmisión de la espiroqueta por picadura de insectos hematofagos. (5,19,20,25,47,49,63,66).

Las garrapatas del género *Ixodes* spp. tiene una distribución mundial. *Ixodes dammini*, se localiza en el noreste de los E.U.A. y en el sur de Canada, y se limita a los ecosistemas a nivel del mar. *I. pacificus* se encuentra en el oeste y oeste-medio de los E.U.A. y Baja California.

México, y se encuentra hasta 2,500 mt. sobre el nivel del mar. I. scapularis se encuentra desde Florida hasta Texas, E.U.A. En Europa, se encuentra I. ricinus, en Asia, I. persulcatus y todas tienen la capacidad de transmitir la espiroqueta del género Borrelia burgdorferi (5,17,19,66, 82). Se sabe que existen diagnósticos aislados en varias partes de México a través es de clínicos en Puerto Vallarta, Guadalajara y Chihuahua aunque no han sido publicados los diagnósticos fuerón hecho a través de pruebas para detección de anticuerpo específicos IgG. *

Las características morfológicas de la familia Ixodidae son garrapatas cuyas larvas, ninfas y adultos poseen un escudo en la superficie dorsal. El gnatosoma lleva los organos bucales los cuales se proyectan hacia adelante del cuerpo, por lo que son visibles desde arriba. Existe dimorfismo sexual marcado, siendo el macho más pequeño que la hembra; y su superficie dorsal casi cubierta por el escudo, razón por la que el cuerpo del macho no puede distenderse mucho. Las hembras son más grandes y el escudo más pequeño en proporción ya que cubre sólo la octava parte anterior del cuerpo; los estigmas respiratorios están situados en placas estigmáticas bien definidas detrás de las coxas del cuarto par de patas. El gnatosoma presenta áreas porosas. (2,67,68).

* Por comunicación personal del Dr. Marco Antonio Pérez Cortéz.

El ciclo biológico de la garrapata I. dammini requiere de tres huéspedes y tres etapas o fases para completar su desarrollo, en un periodo de tiempo de 2 años. La larva que emerge del huevo en primavera no contiene suficientes espiroqueta para inducir la enfermedad en su primer huésped, principalmente el ratón pata blanca, (Peromyscus leucopus). En zonas donde la enfermedad es enzootica un alto porcentaje de los ratones pata blancas están infectados con Borrelia burgdorferi y la larva se infecta durante un periodo de alimentación de dos días. La larva se cae o desaloja al huésped y pasa a un estado de descanso hasta la próxima primavera cuando cambia a la fase de ninfa. Durante el verano, las ninfas se alimentan de nuevos huéspedes, predominando el ratón pata blanca (P. leucopus) y una gran variedad de animales domésticos, silvestres y al hombre. Estos huéspedes se infectan con la espiroqueta, si la ninfa se alimenta por un periodo de tres o cuatro días. Posteriormente, desalojan al huésped hacia finales del verano y cambian a su fase adulta. Durante el otoño e invierno, la fase adulta se encuentra en la vegetación y es cuando infectan a mamíferos más grandes, principalmente el venado cola blanca (Odocoileus virginianus). Las fases de ninfa y adulta son las más importantes en la transmisión de la enfermedad. (5,14,17,24,25,47,57,61,63,64,81,82).

No se conoce con exactitud el mecanismo de transmisión pero se sospecha que la espiroqueta se encuentra en el intestino de la garrapata y durante el proceso de

alimentación la espiroqueta es movilizada hacia las glándulas salivales o por regurgitación del contenido intestinal penetra al nuevo huésped. (5,19,20,61) Otras posibles vías que no se debe descartar es por medio de la orina y heces. En las garrapatas la transmisión puede ser transovarica. (5,13,52,61,64,74).

En un estudio realizado por Piesman et. al. él observó que el tiempo de permanencia de la garrapata sobre el huésped es importante para la transmisión de la enfermedad, ya que se necesita de dos o tres días para transmitir la espiroqueta y que se presenten las manifestaciones clínicas semanas o meses después. (61,81).

PATOGENIA

La garrapata introduce la espiroqueta en la piel o en el torrente sanguíneo de los pacientes, después de un periodo de incubación de 3 a 32 días, se sospecha que el organismo migra hacia la piel (EMC). Esta hipótesis es respaldada porque se a recuperado la espiroqueta de biopsias de piel y se han observado utilizando la tecnica de inmunoperoxidasa o tinción de Warthin-Starry.(73) En algunos pacientes, la espiroqueta se queda localizada en la piel o en los ganglios linfáticos regionales. En otros se disemina por la sangre hacia otros órganos, particularmente el cerebro, hígado, bazo o a otros sitios en la piel produciendo una lesión anular secundaria. (70,71,74).

Cual es la patogenia en las manifestaciones tardias de la Enfermedad de Lyme. En un paciente con anomalías neurológicas se ha aislado la espiroqueta a partir de líquido cerebroespinal, y se sospecha que la meningitis se produce por invasión directa a este. Posteriormente no se sabe el destino de la espiroqueta. A diferencia de otras infecciones por espiroquetas, las manifestaciones tardias en la Enfermedad de Lyme son la artritis. No se sabe si la espiroqueta esta presente, o en donde está, o si simplemente produce una respuesta inflamatoria por el huésped. En disputa está; si es necesario que el agente infeccioso este presente, para la continuidad de la enfermedad o si el agente inicia la enfermedad, el cual es seguido de autoinmunidad. Siendo esto de importancia en las enfermedades inmunomediadas. (31,70,73,74,78,81).

Otros autores informan que las manifestaciones neurológicas, cardiacas y articulares se deben a la formación de complejos inmunes. Steere et al, informa que el daño cardiaco no se debe a los complejos inmunes, si no a la formación de anticuerpos contra *Streptococcus A*; que tienen reacción cruzada con las fibrinas del miocardio o por la sensibilización de los linfocitos que atacan a las fibrinas, pero aun no se han establecido las bases de estos mecanismos. (70,71,73,74,78).

SIGNOS CLINICOS

En humanos, la Enfermedad de Lyme, se presenta en tres etapas diferentes, la etapa I se caracteriza por una lesión en piel llamada Eritema Migrans Cronicum (EMC). La etapa II afecta al sistema nervioso central y al sistema cardiaco. En la etapa III se observa atritis crónica con erosión de cartilago y hueso (5,63,70,81,82).

En los animales las etapas no estan bien definidas, por lo que su presentación es multisistemica afectando al sistema musculoesquelético, nervioso, cardiaco, renal, ocular e higado. (63,81).

MANIFESTACIONES PRIMARIAS:

La manifestación dermatológica en la Enfermedad de Lyme, se caracteriza por producir una lesión en piel llamada EMC, que ocurre en el sitio de la picadura de la garrapata entre el 3 y 32 dias. Esta lesión se caracteriza por la presencia de una macula o papula de color azu o púpura rodeada por un halo rojo. El centro de esta lesión se convierte eritematosa, vesicular o necrótica y de consistencia dura y se puede localizar en cualquier sitio del cuerpo, pero se encuentra con mayor frecuencia en las axilas, vientre y región inguinal. Después de la lesión inicial se puede encontrar lesiones secundarias con las mismas características a la EMC. Durante este periodo se

puede observar conjuntivitis, prurito malar, y en algunos prurito y urticaria. Estas lesiones se acompañan de malestar, fatiga, dolor de cabeza, fiebre, dolor muscular generalizado y linfadenopatía. En conjunto producen la etapa I en el desarrollo de la enfermedad. (38,70,74,76,77,81,82).

En la Borreliosis canina la lesión eritematosa en piel rara vez se observa o se detecta. Esta lesión se resuelve después de retirar a la garrapata. En los perros los signos que se presentan con mayor frecuencia son fiebre ($> 40\text{ }^{\circ}\text{C}$), anorexia, claudicación, artralgia, linfadenopatía, glomerulonefritis o miocarditis. (5,25,30,38,63).

MANIFESTACIONES SECUNDARIAS

SISTEMA NERVIOSO

Después de varias semanas se presentan anormalidades nerviosas, como meningitis, encefalitis, neuritis cranial, radiculoneuritis motora y sensitiva o mielitis. (77,78,81).

En los humanos se puede observar sintomatología sugestiva de irritación de meninges. Estos pacientes presentan dolor de cabeza, rigidez muscular, y dolor en cuello con duración de varias horas. Pueden llegar a presentar fotofobia, náuseas, dolor al mover los ojos y la sensación de aumento de presión (infraorbitaria) atrás del ojo. Los pacientes que presentan encefalitis informan

insomnio, somnolencia, perdida de memoria y mareo. (70,76,77, 78,81).

En los perros los signos neurológicos son principalmente cambios de conducta, agresión y convulsiones. (5, 25).

SISTEMA CARDIOVASCULAR:

En humanos después de varias semanas los pacientes presentan signología cardiaca. El signo mas común es el bloqueo atrioventricular de primer grado o bloqueo completo. Algunos presentan cambios electrocardiograficos compatibles con miocarditis, disfunción ventricular izquierda y rara vez cardiomegalia. (74,76,81).

Posterior a las manifestaciones primarias pueden desarrollar diferentes grados de bloqueo atrioventricular con signología de mareo, sincopes, respiración superficial, dolor toracico, inspiración profunda y palpitación. A la auscultación se puede observar taquicardia o bradicardia, ritmo de galope con un 3^{er} sonido cardiaco audible, ligero reflujo hepatoyugular o fricción del pericardio y estertores pulmonares basilares y se puede llegar a presentar soplo II/VI. (71,77).

El grado de bloqueo atrioventricular fluctua rapidamente, en pacientes con bloqueo completo, primer grado o Wenckebach de segundo grado pueden cambiar entre uno y el otro en minutos, por lo tanto, los pacientes con bloqueo A-V

parece que se origina proximo al Has de His. El cambio electrocardiografico que se observa en pacientes con bloqueo de primer grado es 0.30 a 0.42 segundos en el intervalo P-R.

En paciente que no presentan bloqueo A-V los cambios electrocardiografico que se observan son ausencia o inversión de la onda T o depresión del segmento S-T, otra anomalía es un defecto en la conducción intraventricular (QRS= 0.12 seg) y contracción ventricular prematura. Estos cambios son compatible con miopericarditis y efusión pericardica. (5,63,71,81).

ARTICULACIONES:

En el 60% de los pacientes con la Enfermedad de Lyme, posterior a las manifestaciones primaria se desarrollan anomalías articulares en los primeros 2 años de la infección. Si la articulación se ve involucrada al inicio de la enfermedad se observa dolor en las articulaciones, tendones, bursa, musculos o huesos sin inflamacion. Este dolor es migratorio afectando una o dos articulaciones a la vez con una duración de varias horas hasta varias semanas. La artritis se presenta meses después, con inflamación y dolor en la articulación de la rodilla, principalmente. La artritis se caracteriza por ataques recurrente, asimetricos, inflamación oligoarticular, dolor o por periodos de poliartritis migratoria. (70,72,76,77,78,79, 80,81).

En la Borreliosis Canina se desarrolla artritis migratoria, intermitente oligoarticular similar a la de los humanos. (45,47). La artritis tiene una presentación subita afectando las articulaciones de los carpos, falanges, hombro, codo, tarsos y rodilla. Las articulaciones que se ven mas afectadas son aquellas proximas a la lesión inicial en piel (EMC). La signología que presentan los pacientes son; claudicación, rigidez generalizada, artralgia, dolor e inflamación articular. Al exámen físico de las articulaciones se puede observar inflamación, aumento de la temperatura, y rara vez hiperemia. La inflamación no es un signo comun, pero al movimiento de la articulación hay dolor. (45). La inflamación puede fluctuar con actividad física y se puede agravar el problema, la rodilla es una de las articulaciones que puede presentar inflamación y mucho dolor. (30,45,72,77).

Magnarelli, L. et. al. en 1990 informa que en 30 perros estudiados algunos manifestaron signología de claudicación o anormalidades articulares y otros presentaron fiebre, anorexia o fatiga. (54)

Burgess, E. et. al. en 1987 informa que los bovinos pueden ser infectados por Borrelia burgdorferi y presentar signología de artritis y laminitis además de enfermedad sistémica. (22)

SISTEMA OCULAR

La complicación ocular comunmente informada en pacientes con Enfermedad de Lyme es la conjuntivitis. (1,9,12,31). Las manifestaciones tardías asociadas al sistema ocular son corioiditis difusa bilateral y desprendimiento exudativo de la retina. (1,42). Otras manifestaciones incluyen iridociclitis, vasculitis retinal y edema macular (1,25).

Las complicaciones neuro-oftálmicas asociada a la Enfermedad de Lyme que se han observado con mayor frecuencia; y se ha informado de uveitis, corioretinitis, queratitis intersticial, neuritis óptica, isquemia óptica neuropatía y pulsación del globo ocular. (1,25,42,58).

Algunos pacientes presentan visión borrosa que se atribuye, a un aumento en la presión intracraneal, mientras que otros presentan fotofobia o diplopia asociado a paresis del nervio oculomotor o abducens (9).

SISTEMA RENAL

En la Borreliosis Canina, se ha detectado problemas renales. (5,34,55). Al examen físico se observa letargia, rigidez muscular, apetito disminuido y vomito. En el urianalisis se observa proteinuria, cilinduria, piuria y hematuria (34).

Los cambios histológicos a nivel renal involucran al glomerulo. A este nivel se observa proliferación celular mesangial y engrosamiento de la membrana basal de los capilares glomerular, hay una marcada glomeruloesclerosis y en algunos segmentos existe esclerosis hialinizante o condensada, adhesión del glomerulo a la capsula de Bowman es comun y la mayoría de los glomerulos contienen una capa gruesa de tejido fibrotico pericapsular. La lesión tubular incluye focos de degeneración y necrosis (34,55).

DIAGNOSTICO

Existen diferentes métodos de diagnósticos en la actualidad, en los laboratorios se estan utilizando las pruebas de anticuerpos inmunofluorescencia (IFA), ELISA, y Cultivos de Celulas B.burgdorferi. Estos metodos son adecuados para realizar el diagnóstico de la Borreliosis Canina pero se utiliza el método de ELISA porque tiene mayor sensibilidad, los resultados son menos variables y es mas fácil de estandarizar. (26,27,51,53,54,65).

El método de cultivo, a partir de muestra de pacientes con la enfermedad, permite realizar el diagnóstico definitivo, pero este es difícil e impractico para utilizarlo rutinariamente. Por lo tanto, la determinación de inmunoglobulinas IGM, e IgG es lo mas práctico. (26,27,40,53,54,81).

En la interpretación de los resultados de laboratorios, es importante entender que una elevación en los títulos de anticuerpos contra B. burgdorferi no se debe utilizar como indicador de la enfermedad. Un resultado positivo indica previa infección, pero no significa que el animal este enfermo. (21)

En pacientes, la respuesta específica de anticuerpo de IgM contra B. burgdorferi usualmente alcanza niveles elevados entre la tercera y sexta semana después de la infección; la respuesta específica de IgG aumenta paulatinamente y sus niveles se elevan meses o hasta años después de la infección. La respuesta inicial IgM se dirige contra el antígeno flagelar de la espiroqueta que tiene un peso molecular de 41 kD (kilodalton), y la respuesta tardía hacia las membranas externas (Ops A de 31 kD y Ops B de 34 kD). La respuesta por IgG aparece después de meses o años y esta dirigida hacia los polipeptidos de la espiroqueta. (33,37,39,50,53,81).

En un estudio realizado por Green, R. et. al. en 1988 (38) en la Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad del Estado Norte Carolina, Raleigh, N.C.; Perros adultos de la raza Beagle se utilizaron para evaluar los signos clínicos y la respuesta serológica después de la inoculación o exposición al agente etiológico, Borrelia burgdorferi. La respuesta serológica se evaluó utilizando los métodos de IFA y ELISA. Los grupos consisten de 4 perros, el grupo 1 se le colocaron garrapatas infectadas y a este grupo no causó

reacción serológica, al grupo 2 se le inoculó por vía subcutánea 500 organismos y se observó una reacción serológica en 2 perros. Al día 56, aproximadamente 3.01×10^8 organismos de B. burgdorferi se inyectó por vía intravenosa al grupo 1 e intraperitoneal al grupo 2. El grupo control tenía garrapatas no infectadas y posteriormente se las aplicó solución salina fisiológica.

Se detectó un aumento en los títulos de IgM en 2 de los 4 grupos (en 2 perros) aproximadamente 7 días después del contacto inicial con el organismo. Estos títulos regresaron a valores negativos después de 20 días. Los títulos de IgM aumentaron aproximadamente 10 días después y se mantuvieron medianamente elevados hasta el día 56, cuando los perros fueron expuestos una segunda vez a la B. burgdorferi. (38)

Ambas inyecciones, intravenosa e intraperitoneal dieron como resultado un aumento en los títulos de IgM, el cual regresa a valores (pre-expuestos) aproximadamente 2 meses después. Los títulos de IgG aumentaron una semana después de la segunda inoculación y en 3 perros observados durante 8 meses los valores regresaron a niveles negativos. En un perro del grupo control se observó un ligero aumento en los títulos de IgG 24 días después de la segunda inoculación. Posiblemente por transmisión por orina. (38).

Figura 1 y 2.

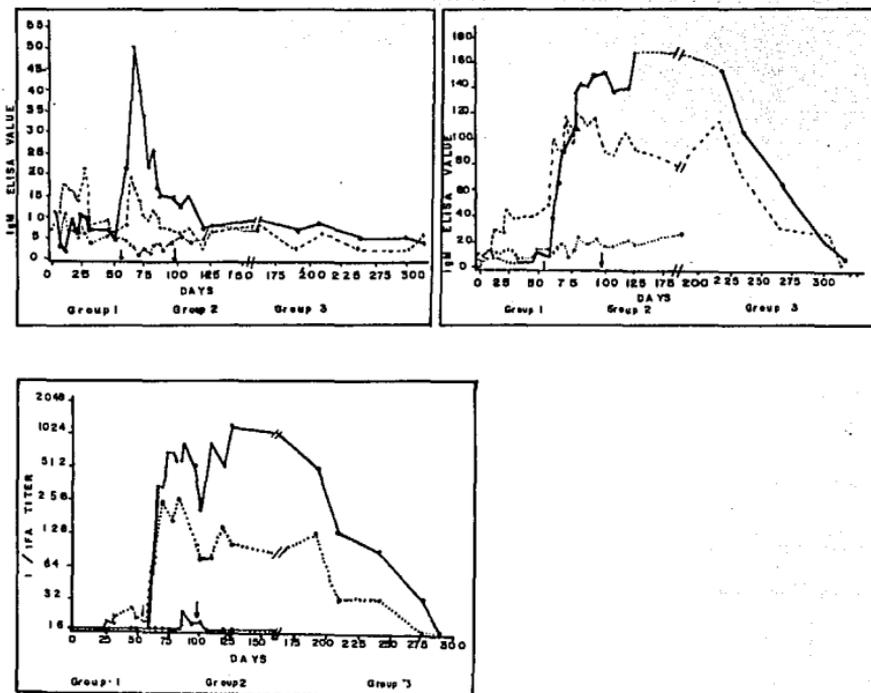


Fig. 1: Valores de anticuerpo IgM obtenidos por medio de la prueba de ELISA contra *B. burgdorferi* en 3 grupos de perros. Grupo 1: garrapatas infectadas, seguido de inoculación de espiroquetas por vía intravenosa. Grupo 2: inyección subcutánea, seguido de una inoculación de espiroqueta intraperitoneal. Grupo 3: garrapatas no infectadas, seguido de inoculación de solución salina fisiológica.

Fig. 2. Valores de anticuerpos IgG obtenidos por medio de la prueba de ELISA contra *B. burgdorferi* en 3 grupos de perros.

Fig. 3. Valores de anticuerpos IgG obtenidos por medio de la prueba de IFA contra *B. burgdorferi* en 3 grupos de perros.

En otro estudio realizado en humanos por Steere, A. et. al. en 1983 (74), en Departamento de Medicina Interna y la Sección de Medicina Comparativa, en la Universidad de Yale en la Escuela de Medicina, New Haven, Conn. Detectaron una nueva especie de espiroqueta, a partir de la sangre, lesión en piel (EMC) o del líquido cerebroespinal de 3 pacientes con la Enfermedad de Lyme y 21 garrapatas del género Ixodes dammini en el estado ninfa o adulta. Esta espiroqueta aislada tiene las mismas características morfológicas e inmunológicas. En pacientes, los títulos de anticuerpos específicos de IgM usualmente se elevan entre la tercera y sexta semana después del contacto inicial con el organismo, títulos específicos de IgG se elevan paulatinamente y sus niveles mas elevados se observan meses después cuando se presenta la artritis. De 40 pacientes con lesiones primarias (EMC solamente), el 90% tenían títulos elevados de IgM (> 1:128) entre la fase de EMC y de convalecencia. De 95 pacientes con las manifestaciones tardías (manifestaciones cardiacas, neurológicas y articulares) el 94% tenían títulos elevados de IgG (> 1:128). En ninguno de los 80 pacientes en el grupo control se observaron títulos elevados de IgG, y solo 3 pacientes con mononucleosis (L. pallidum) tenían títulos elevados de IgM. Concluyen que la espiroqueta L. dammini es el agente causal de la Enfermedad de Lyme. (74)

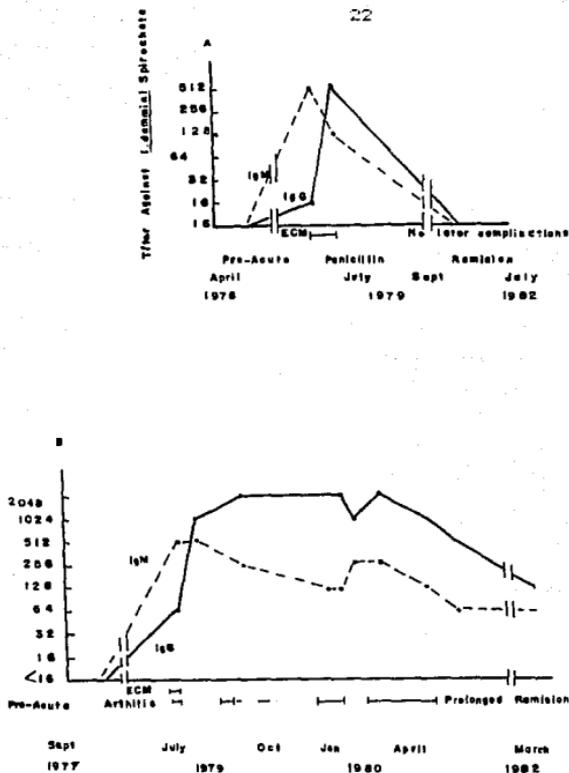


Fig. 4: Cursos clínicos y títulos correspondientes de anticuerpos contra la espiroqueta de la *I. dammini* en dos pacientes con la Enfermedad de Lyme. Paciente "A" solo presentaba EMC y paciente "B" presentaba EMC y artritis.

Ante de la infección los pacientes no tenían anticuerpo contra el organismo. Durante el período de infección, se encontró un aumento de anticuerpo IgM e IgG, de cuatro veces más de lo basal. Paciente "B" continuó teniendo títulos elevados de anticuerpos IgM e IgG durante el período de artritis.

TRATAMIENTO

Antes de establecer la antibioterapia contra la Borreliosis Canina se debe relacionar la historia clínica, signos clínico y los resultados de las pruebas de serología para evitar complicaciones secundarias. (32,60).

Los antibióticos de elección contra la Borreliosis canina son la Tetraciclina, Penicilina y Eritromicina que han demostrado su efectividad contra B. burgdorferi, especialmente en las manifestaciones primarias ya que cuando se detecta la infección aguda, estos antibióticos evitan las complicaciones secundarias (35,45,62,75,76,81).

In vitro la sensibilidad a los antibióticos demuestra que Eritromicina, Ampicilina, Tetraciclina y Ceftriaxona son altamente activos contra B. burgdorferi, Penicilina G, Oxacilina y Cloranfenicol son moderadamente activo y los aminoglicosidos y rifampicina no tienen actividad. Sin embargo, eritromicina no es tan efectiva in vivo como la sensibilidad que demuestra in vitro (81).

La eficiencia de varios antibióticos en el tratamiento de la enfermedad en perros requiere de mayor investigación. El tratamiento que se recomienda en las manifestaciones primaria contra la Borreliosis Canina es Tetraciclina 25 mg/kg de peso por vía oral cada 8 horas durante un mínimo de 14 días. La administración de Penicilina G 22,000 U/kg de peso por vía intravenosa cada 6 horas, o cefalexin 22 mg/kg por vía oral cada 8 horas durante 2 semanas es beneficioso en

el tratamiento de las manifestaciones secundarias. (45,47,63,64,75). En los pacientes que presentan manifestaciones oculares el tratamiento en estos casos es la administración de 5 mg/kg. de peso de doxiciclina y esteroides sin dosis, tópicos y sistémicos durante un mes. (9,12,58).

CONTROL Y PREVENCIÓN

Las medidas de prevención empleadas para evitar las enfermedades transmitidas por garrapatas son: (1) utilizar ropa de color claro para detectar a las garrapatas, (2) utilizar camisas de manga larga y pantalones cuando se sale al campo en las zonas endémicas, (3) meter la camisa dentro de los pantalones y colocar las medias por encima de los pantalones, (4) aplicar repelente que contengan permanone a la piel y ropa, (5) y mantener el pasto podado en las casas. (60)

En los perros las medidas de prevención son: el uso de collar antipulga y polvos, baños rutinarios con shampoo antipulga, desinfectar las picaduras de pulgas, evitar el contacto con la orina de animales infectados. También existe una vacuna, producida por la compañía Fort Dogde, que aun no se ha comprobado su efectividad y solo existe comercialmente en los E.U.A. (60,63) Otro método aunque no es práctico es el tratar de reducir la población de los huéspedes primarios, en este caso, ratón pata blanca (P. leucopus) y

venado cola blanca (*O. virginarius*). La eliminación de estos huéspedes no es práctico y el medio ambiente puede sufrir cambios ecológicos. (5)

El control por medio de la fumigación con acaricidas no es aconsejable por razones de salud pública. Boston Eco Health Inc. desarrolló tubos con algodón que contiene permetrin, y estos se dispersan en las zonas infectadas. Estas medidas de prevención se deben emplear con cuidado por que pueden producir cambios epizootiológicos y ambientales. (5).

HIPOTESIS.

Debido a que la Enfermedad de Lyme a sido diagnosticada en Europa y los Estados Unidos de Norteamerica, y que en México existe por comunicación de casos clinicos (no publicados), se sospecha que la enfermedad existe pero aún no han sido evaluada por falta de métodos de diagnósticos adecuados.

OBJETIVO.

El objetivo de este estudio es determinar por medio de pruebas de serología la presencia de complejos antígeno-anticuerpo al agente etiológico de la Enfermedad de Lyme en perros, Borrelia burgdorferi. Se realizará la prueba de ELISA para detectar anticuerpo específico contra IgM e IgG. En perros de la Ciudad de México, Cuernavaca, Toluca y Morelia.

MATERIAL Y METODO.

Los perros incluidos en este estudio requirieron ser de al menos 6 meses de edad con y sin propietario. A todos los perros se les practico un exámen físico completo buscando en forma minuciosa la presencia de ectoparásitos (garrapatas). Se obtuvo 5 ml de sangre periférica, se colocó en tubos de vacutainer sin anticoagulante, se centrifugó dejando el suero en refrigeración a 4 C hasta su análisis. Se obtuvo 20 muestras de sangre en el Valle de Toluca, y 40 del Valle de México, Tlahuac, Morelia, Cuernavaca y Acámbaro (Gto.). Se realizó la prueba de ELISA en el Instituto de Salud Animal James A. Baker, en el Colegio de Medicina Veterinaria del Estado de Nueva York, de la Universidad de Cornell, con la ayuda desinteresada del Dr. Lelan Carmichael y el Dr. Richard Jacobson, para detectar anticuerpos específicos de Borrelia burgdorferi, el agente causal de la Borreliosis canina.

En el presente trabajo se utilizó la prueba de ELISA para detectar anticuerpos contra Borrelia burgdorferi, el agente causal de la Borreliosis Canina.

La prueba de ELISA consiste de cinco pasos:

1. El antígeno para la prueba de la Borreliosis Canina es una preparación de tipo "French-press" (interrumpida) de células enteras de B. burgdorferi. El antígeno es

inmovilizado en la superficie de una placa de polystyrene con microtitulo.

2. Después de haber lavado el exceso de antígeno no fijado, se agrega el suero en los posos de la placa a una dilución de 1:100 y se incuba por 1 hr a 37 C. Si los anticuerpos están presente al agente de Lyme, se unen al antígeno inmovilizado.

3. El próximo reagente que se agrega a la placa se denomina un "conjugado". Se prepara inoculando conejos con IgG canina que contienen ambos tipos de cadenas, ligeras y pesadas. A este anticuerpo-anticanino se fija una enzima, peroxidasa de rabano picante. El conjugado de anticuerpo-anticanino-peroxidasa de rabano picante se agrega a la placa de microtitulos. Si el anticuerpo-canino, específico para el agente de la Borreliosis Canina está presente, entonces el conjugado anti-canino se fija a los anticuerpos caninos. Si el suero no tiene anticuerpo para el agente de la Borreliosis Canina, entonces no se fija el anticuerpo y el conjugado no tiene a donde fijarse.

Así que ahora tenemos tres capas: La del antígeno B. burgdorferi, la del anticuerpo canino para B. burgdorferi y el conjugado anticuerpo-enzima de conejo, anti-canino fijado al anticuerpo canino. La cantidad de enzima fija es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo anti-B. burgdorferi presente en la muestra de suero. Ahora se necesita detectar la enzima.

4. La enzima se detecta agregando una solución incolora que consiste de peróxido de hidrógeno (el sustrato de la enzima) y un cromógeno (un aceptor electrónico). Cuando el sustrato se pone en contacto con la enzima, el sustrato interactúa con el cromógeno provocando un cambio de color. La intensidad del color es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo detectado del agente de la Borreliosis Canina.

Interpretación de Resultados.

1. El desarrollo de color se cuantifica determinando el rango del cambio en el color como una función de tiempo. Tres lecturas en la densidad óptica son tomadas a intervalos de 2 min. después que se agrega el sustrato. La curva resultante de la velocidad de la reacción es proporcional al anticuerpo presente en la reacción que se produce en la placa. Este método no solamente se utiliza para obtener una lectura de densidad óptica simple, si no que provee una estimación más exacta de la cantidad de anticuerpo detectado.

2. Los valores de la curva para cada muestra se estandarizan mediante el uso de una curva estandar. Correspondientemente, existen 5 curvas de estandar (muestras negativas, ligeramente positivas, moderadamente positivas, moderadamente alta positivas y alta positivas) que se incluyen en cada prueba de ELISA. Los valores esperados para estas muestras se determinaron previamente. En cada

prueba las curvas observadas para estas muestras se determinan y se comparan contra los valores esperados. Esto constituye la curva estandar, en contra de la cual los valores normalizados para cada muestra en la prueba son calculados. Usando la curva estandar cada día se eliminan las variaciones de día a día.

3. Hemos determinado previamente que los valores < 0.100 representa animales que son negativos para la enfermedad de Lyme. Valores de 0.100 a 0.200 estan en el rango de los sospechosos. Muestra en el rango de los sospechosos pueden ser falsos positivos porque sabemos que puede haber racción cruzada con anticuerpos de Leptospira spp. Las curvas que exceden 0.200 generalmente son verdadero positivos al agente de la Borreliosis Canina, por lo menos para los animales de los estados del noreste de los E.U.A. (43)

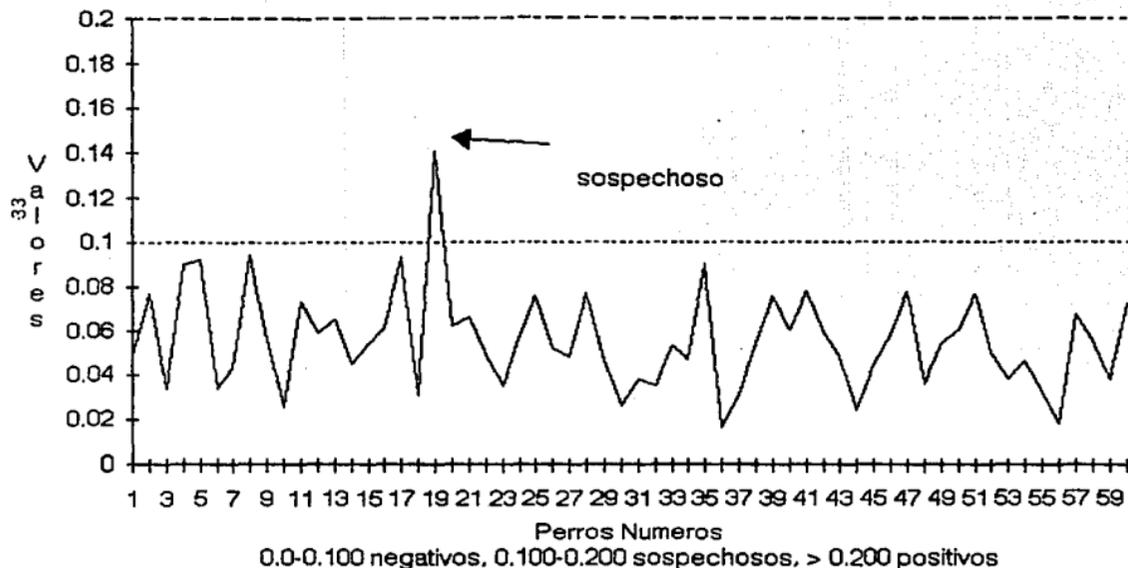
RESULTADO

Se analizaron por medio de la prueba de ELISA 60 muestras de suero para detectar el agente causal de la Borreliosis Canina, Borrelia burgdorferi, en perros del centro de México. Los resultados de la prueba serologica indican que las muestras son negativas, a excepción del perro numero 19 de Toluca que tiene titulos de anticuerpos en el rango de los sospechosos, pero se sugiere que es debido a una reacción cruzada con Leptospira spp. siendo este categorizado como negativo. Al examen físico ninguno de los perros demostró signología clinica ni la presencia de garrapatas (Ixodes dammini).

CONCLUSION

La Borreliosis Canina se presentó a partir de 1984 en el noreste de los E.U.A. y su distribución actual alcanza hasta los estados de California y Texas, estados que colindan con México y que son visitados por Mexicanos, se sospecha que la enfermedad puede existir en el centro del país. La presencia de la Borreliosis Canina en el centro de México es nula y se requiere de un mayor número de perros en áreas diferentes del país para evaluar la presencia de esta enfermedad y evaluar su incidencia. Se recomienda en las zonas donde se ha determinado la seropositividad por medio de la prueba de ELISA, que se realice un estudio más profundo buscando específicamente al agente etiológico y considerar a la Borreliosis Canina como un diagnóstico diferencial en aquellos pacientes que presenten signología sugestiva de la misma.

**Resultados de la Prueba de ELISA
para la Evaluacion de Seropositividad
hacia el Agente Etiologico
B. burgdorferi en Perros del Centro de Mexico**



LITERATURA CITADA

1. Aaberg, Thomas M.: The Expanding Ophthalmologic spectrum of Lyme Disease. American Journal of Ophthalmology, 107 (1): 77-80 (1989).
2. Acevedo, A., Romero, E. y Quintero Ma. T.: Manual de Prácticas de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1988.
3. Anderson, John F., Johnson, Russell C., Magnarelli, Louise A. et al.: Identification of Endemic Foci of Lyme Disease: Isolation of *Borrelia burgdorferi* from Feral Rodents and Ticks (*Dermacentor variabilis*). Journal of Clinical Microbiology, 22 (1): 36-38 (1985).
4. Anderson, John F., Magnarelli, Louis A., Burgdorfer, Willy, et al.: Spirochetes in *Ixodes dammini* and Mammals from Connecticut. Am. J. Trop. Med. Hyg. 34 (4): 818-824 (1983).
5. Appel, Max J. G.: Lyme Disease in Dogs and Cats. Continuing Education, 12 (5): 617-625 (1990).
6. Barbour, Alan G., Burgdorfer, Willy, Grunwaldt, Edgar et al.: Antibodies of Patients with Lyme Disease to Components of the *Ixodes dammini* Spirochete. Journal of Clinical Investigation, 72: 504-515 (1983).
7. Barbour, Alan G., Heiland, Ramona A. y Howe, Timothy R. Heterogeneity of Major Proteins in Lyme Disease *Borreliae*: A Molecular Analysis of North American and European Isolates. Journal of Infectious Diseases, 152 (3): 478-484 (1985).
8. Barbour, Alan G.: Isolation and Cultivation of Lyme Disease Spirochetes. The Yale Journal of Biology and Medicine, 57: 521-525 (1984).
9. Baum, Jules., Barza, Michael., Weinstein, Philip., et al.: Bilateral Diffuse Choroiditis and Exudative Retinal Detachments With Evidence of Lyme Disease. American Journal of Ophthalmology, 105 (1): 75-77 (1988).
10. Benach, Jorge L., Bosler, Edward M., Hanrahan, John P., et al.: Spirochetes Isolated from the Blood of Two Patients with Lyme Disease. The New England Journal of Medicine, 308 (13): 740-742 (1983).
11. Bernard, William V., Cohen, Daniel., Bosler, Ed., et al.: Serologic survey for *Borrelia burgdorferi* antibody

- in horses referred to a mid-Atlantic veterinary teaching hospital. J. Am. Vet. Med. Assoc., 196 (8): 1255-1258 (1990).
12. Bialasiewicz, Alexander A., Ruprecht, Klaus W., y Naumann, Gottfried O. H.: Bilateral Keratitis as a Manifestation of Lyme Disease. American Journal of Ophthalmology, 105 (4):419-422 (1988).
 13. Bosler, Edward M., Coleman, James L., Benach, Jorge L. et al. Natural Distribution of the Ixodes dammini Spirochete. Science, 216: 321-322 (1982).
 14. Bosler, Edward M., Ormiston, Brian G., Coleman, James L., et al. Prevalence of the Lyme Disease Spirochete in Populations of White-Tailed Deer and White-Footed Mice. The Yale Journal of Biology and Medicine, 57: 651-659 (1984).
 15. Bowen, G. Stephen, Schelze, Terry L., y Parkin, William L.: Lyme Disease in New Jersey, 1978-1982. The Yale Journal of Biology and Medicine, 57: 661-668 (1984).
 16. Brown, Stephen J. y Paul, Allan J. Lyme Disease in Man and the Dog. Canine Practice, 13(5): 35-36 (1986).
 17. Burgdorfer, Willy y Keirans, James E.: Ticks and Lyme Disease in the United States. Annals of Internal Medicine, 86(6): 685-698 (1977).
 18. Burgdorfer, Willy, Barbour, Alan G., Hayes, Stanley F., et al.: Lyme Disease: A Tick-Borne Spirochetosis? Science, 216: 1317-1319 (1982).
 19. Burgdorfer, Willy, Lane, Robert S., Barbour, Alan G., et al.: The Western Black-Legged Tick, Ixodes pacificus: A Vector of Borrelia burgdorferi. Am. J. Trop. Med. Hyg., 34(5): 925-930 (1985).
 20. Burgdorfer, Willy.: Discovery of the Lyme Disease Spirochete and Its Relation to Tick Vectors. The Yale Journal of Biology and Medicine, 57: 515-520 (1984).
 21. Burges, Elizabeth C.: Testing for Borrelia burgdorferi. J. Am. Vet. Med. Assoc., 195(7): 844-846 (1989).
 22. Burges, Elizabeth C., Gendron-Fitzpatrick, Annette y Wright, W.D.: Arthritis and systemic disease caused by Borrelia burgdorferi infection in a cow. J. Am. Vet. Med. Assoc., 191 (11): 1468-1470 (1987).
 23. Burgess, E.C. y Mattison, M.: Encephalitis associated with Borrelia burgdorferi infection in a horse. J. Am. Vet. Med. Assoc., 191(11): 1457-1458 (1987).

24. Carey, Andrew B., Krinsky, William L. y Main, Andrew J.: Ixodes dammini and Associated Ixodid Ticks in South-Central Connecticut, USA. J. Med. Entomol., 17(1): 89-99 (1980).
25. Cohen, N.D., Carter, C.N., Thomas, M.A. Jr., et al.: Clinical and epizootiologic characteristics of dogs seropositive for Borrelia burgdorferi in Texas: 110 cases (1988). J. Am. Vet. Med. Assoc., 197(7): 893-898 (1990).
26. Coleman, James L. y Benach, Jorge L.: Isolation of Antigenic Components from the Lyme Disease Spirochete: Their Role in Early Diagnosis. Journal of Infectious Diseases, 155(4): 756-765 (1987).
27. Craft, Joseph E., Grodzicki, Robert L. y Steere, Allen C. Antibody Response in Lyme Disease: Evaluation of Diagnostic Tests. Journal of Infectious Diseases, 149(5): 789-795 (1984).
28. Curran, Kathleen L.: Increased Risk of Lyme Disease for Cat Owners. The New England Journal of Medicine, 320(3): 1358-1363 (1989).
29. Davis, Jeffrey P., Schell, Wendy L., Amundson, Terry E., et al.: Lyme Disease in Wisconsin: Epidemiologic, Clinical, Serologic, and Entomologic Findings. The Yale Journal of Biology and Medicine, 52: 685-696 (1984).
30. Eng, Thomas R., Wilson, Mark L., Spielman, Andrew, et al.: Greater Risk of Borrelia burgdorferi Infection in Dogs than in People. Journal of Infectious Diseases, 158(6): 1410-1411 (1988).
31. Feeder, B.M., Joseph, R.J. y Bosler, E.M.: Borrelia burgdorferi. Antibodies in canine cerebrospinal fluid. Proc. 9th. ACVIM FORUM, New Orleans, LA. 892 (1991).
32. Frank, James C.: Taking a hard look at Borrelia burgdorferi. J. Am. Vet. Med. Assoc., 194(11): 1521 (1989).
33. Godzicki, Robert L. y Steere, Allen C.: Comparison of Immunoblotting and Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using Different Antigen Preparations for Diagnosing Early Lyme Disease. Journal of Infectious Diseases, 157(43): 790-797 (1988).
34. Grauer, G.F., Burgess, E.C., Cooley, A.J., et al.: Renal lesion associated with Borrelia burgdorferi infection in a dog. J. Am. Vet. Med. Assoc., 193(2): 237-239 (1988).

35. Green, R.T.: Canine Lyme Borreliosis. In: Current Veterinary Therapy X. Small Animal Practice. Edited by: Kirk, R.W., 1086-1087. W.B. Saunders, Philadelphia, 1989.
36. Green, Russell T., Nicholson, William L., Breitschwerdt, Edward B., et al.: Taking second a hard look at *Borrelia burgdorferi*. J. Am. Vet. Med. Assoc., 195(5): 562-563 (1989).
37. Greene, Russel T., Walker, Richard L., Nicholson, William L., et al.: Immunoblot Analysis of Immunoglobulin G Response to the Lyme Disease Agent (*Borrelia burgdorferi*) in Experimentally and Naturally Exposed Dogs. Journal of Clinical Microbiology, 26 (4): 648-653 (1985).
38. Greene, Russell T., Levine, Jay F., Breitschwerdt, Edward B., et al.: Clinical and Serologic Evaluations of Induced *Borrelia burgdorferi* Infection in Dogs. Am. J. Vet. Res., 49(6): 752-757 (1988).
39. Greene, Russell T., Walker, Richard L., Burgess, Elizabeth C., et al.: Heterogeneity in Immunoblot Patterns Obtained by Using Four Strains of *Borrelia burgdorferi* and Sera from Naturally Exposed Dogs. Journal of Clinical Microbiology, 26(11): 2287-2291 (1985).
40. Hansen, Klaus, Hindersson, Peter y Pedersen, Nils Strandberg. Measurement of Antibodies to *Borrelia burgdorferi*. Flagellum Improves Serodiagnosis in Lyme Disease. Journal of Clinical Microbiology, 26(2): 338-346 (1985).
41. Hardin, John A., Steere, Allen C., y Malawista, Stephen E.: Immune Complexes and the Evolution of Lyme Arthritis. The New England Journal of Medicine, 301(25): 1358-1363 (1979).
42. Jacobson, Daniel M., y Frens, David B. Pseudotumor Cerebri Syndrome Associated With Lyme Disease. American Journal of Ophthalmology, 107(1): 81-82 (1989).
43. Jacobson, Richard H.: Comunicacion personal. (1991).
44. Jacobson, Richard H., y Saidla, John E.: Update on Feline Lyme Disease. Feline Health Topics for Veterinarians, 5(4) 1-2 (1990).
45. Kornblatt, Arnold N., Urban, Paul H. y Steere, Allen C.: Arthritis caused by *Borrelia burgdorferi* in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc., 186(9): 960-964 (1985).

46. Lindenmayer, Joann, Weber, Merle, Onderdonk, Andrew, et al.: *Borrelia burgdorferi* infection in horses. J. Am. Vet. Med. Assoc., 194(10): 1384 (1989).
47. Lissman, Barry A., Bosler, Edward M., Ormiston, Brian G., et al.: Spirochete-associated arthritis (Lyme Disease) in a dog. J. Am. Vet. Med. Assoc., 185(2): 219-220 (1984).
48. Magnarelli, Louis A. y Anderson, John F.: Class-specific and polyvalent enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in equids. J. Am. Vet. Med. Assoc., 195(10): 1365-1368 (1989).
49. Magnarelli, Louis A. y Anderson, John F.: Ticks and Biting Insects Infected with the Etiologic Agent of Lyme Disease, *Borrelia burgdorferi*. Journal of Clinical Microbiology, 26(8): 1482-1485 (1985).
50. Magnarelli, Louis A., Anderson, John F. y Barbour, Alan G.: Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Lyme Disease: Reactivity of Subunits of *Borrelia burgdorferi*. Journal of Infectious Diseases, 159(1): 43-48 (1989).
51. Magnarelli, Louis A., Anderson, John F. y Johnson, Russell C.: Cross-Reactivity in Serological Tests for Lyme Disease and Other Spirochetal Infections. Journal of Infectious Diseases, 155(1): 183-187 (1987).
52. Magnarelli, Louis A., Anderson, John F. y Johnson, Russell C.: Transovarial Transmission of *Borrelia burgdorferi* in Ixodes dammini (Acari: Ixodidae). Journal of Infectious Diseases, 156(1): 234-236 (1987).
53. Magnarelli, Louis A., Anderson, John F. y Schreier, Alan B.: Persistence of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in dogs of New York and Connecticut. J. Am. Vet. Med. Assoc., 196(7): 1064-1068 (1989).
54. Magnarelli, Louis A., Anderson, John F., Levine, Harvey R., et al.: Tick parasitism and antibodies to *Borrelia burgdorferi* in cats. J. Am. Vet. Med. Assoc., 197(1): 63-65 (1990).
55. Magnarelli, Louis A., Anderson, John F., Schreier, Alan B., et al.: Clinical and serologic studies of canine borreliosis. J. Am. Vet. Med. Assoc., 191(9): 1089-1094 (1987).
56. Magnarelli, Louis A., Anderson, John F., y Kaufmann, Arnold F. et al.: Borreliosis in dogs from southern Connecticut. J. Am. Vet. Med. Assoc., 186(9): 955-959 (1985).

57. Magnarelli, Luis A., Anderson, John F., y Chappell, W. Adrian.: Geographic distribution of Humans, Raccoons, and White-Footed Mice with Antibodies to Lyme Disease Spirochetes in Connecticut. The Yale Journal of Biology and Medicine, 57: 619-626 (1984).
58. Munger, Robert J.: Uveitis as a manifestation of *Borrelia burgdorferi* infection in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc., 197(7): 811 (1990).
59. Osterholm, Michael T., Forfang, Jan C., White, Karen E., et al.: Lyme Disease in Minnesota: Epidemiologic and Serologic Findings. The Yale Journal of Biology and Medicine, 57: 677-683 (1984).
60. Phillips, Tim.: Tick Borne Zoonoses. Pet Veterinarian, 3(2) 18-28 (1991).
61. Piesman, Joseph, Mather, Thomas N., Sinsky, Richard J., et al.: Duration of Tick Attachment and *Borrelia burgdorferi* Transmission. Journal of Clinical Microbiology, 25(3): 557-558 (1985).
62. Rawlings, Julie A., Fournier, Paul V. y Teltow, Glenna J.: Isolation of *Borrelia Spirochetes* from Patients in Texas. Journal of Clinical Microbiology, 25(7): 1148-1150 (1985).
63. Reotutar, Robert.: The ominous spread of *Borrelia Burgdorferi* infection. J. Am. Vet. Med. Assoc., 194(10): 1387-1391 (1989).
64. Roush, James K., Manley, Paul A., y Dueland, R. Tass, Rheumatoid arthritis subsequent to *Borrelia burgdorferi* infection in two dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc., 195(7): 951-953 (1989).
65. Russell, Harold, Sampson, Jacquelyn S., Schmid, George P., et al. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Indirect Immunofluorescence Assay for Lyme Disease. Journal of Infectious Diseases, 149(3): 465-470 (1984).
66. Shope, Robert E.: Epidemiologic Studies. The Yale Journal of Biology and Medicine, 57: 707-709 (1984).
67. Soulsby, E.: Parasitología y Enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7a Ed. Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V. México, D.F. 1988.
68. Spielman, Andrew, Clifford, Carleton M., Piesman, Joseph, et al.: Human Babesiosis on Nantucket Island, USA: Description of the Vector, *Ixodes dammini*, N. SP. J. Med. Entomol., 15(3): 218-234 (1979).

69. Steere, Allen C. y Malawista, Stephen E.: Case of Lyme Disease in the United States; Locations Correlated with Distribution of *Ixodes dammini*. Annals of Internal Medicine, 91(5): 730-733 (1979).
70. Steere, Allen C., Bartenhagen, Nicholas H., Craft, Joseph E., et al.: The Early Clinical Manifestations of Lyme Disease. Annals of Internal Medicine, 99(7): 76-82 (1983).
71. Steere, Allen C., Batsford, William P., Weinber, Marc., et al.: Lyme Carditis: Cardiac Abnormalities of Lyme Disease. Annals of Internal Medicine, 93(1): 8-16 (1980).
72. Steere, Allen C., Gibofsky, Allan., Patarroyo, Manuel E., et al.: Chronic Lyme Arthritis, Clinical and Immunogenetic Differentiation from Rheumatoid Arthritis. Annals of Internal Medicine, 90(6): 896-901B (1979).
73. Steere, Allen C., Grodzicki, Robert L., Craft, Joseph E., et al.: Recovery of Lyme Disease Spirochetes from Patients. The Yale Journal of Biology and Medicine, 57: 557-560 (1984).
74. Steere, Allen C., Grodzicki, Robert L., Kornblatt, Arnold N., et al.: The Spirochetal Etiology of Lyme Disease. The New England Journal of Medicine, 308 (13): 1358-1363 (1983).
75. Steere, Allen C., Hutchinson G.J., Rahn D.W., et al.: Treatment of the Early Manifestations of Lyme Disease. Annals of Internal Medicine, 99(1): 22-26 (1983).
76. Steere, Allen C., Malawista, Stephen E., Bartenhagen, Nicholas H., et al.: The Clinical Spectrum and Treatment of Lyme Disease. The Yale Journal of Biology and Medicine, 57: 453-461 (1984).
77. Steere, Allen C., Malawista, Stephen E., Hardin, John A., et al.: Erythema Chronicum Migrans and Lyme Arthritis. Annals of Internal Medicine, 86(6): 685-698 (1977).
78. Steere, Allen C., Malawista, Stephen E., Newman, James H., et al.: Antibiotic Therapy in Lyme Disease. Annals of Internal Medicine, 93(1): 1-88 (1980).
79. Steere, Allen C., Malawista, Stephen E., Snyderman, David R., et al.: Lyme Arthritis, An Epidemic of Oligoarticular Arthritis in Children and Adults in Three Connecticut Communities. Arthritis and Rheumatism, 20(1): 7-16 (1977).

80. Steere, Allen C., Taylor, Elise., Wilson, Mark L., et al.: Longitudinal Assessment of the clinical and Epidemiological Features of Lyme Disease in a Defined Population. Journal of Infectious Diseases, 154(2): 295-300 (1986).
81. Steere, Allen C.: *Borrelia burgdorferi* (Lyme Disease, Lyme Borreliosis). In: Principles and Practice of Infectious Diseases. Edited by: Mandel G.L., Douglas R.G.Jr. y Bennett J.E. 1819-1826. Churchill Livingstone Inc., N.Y., 1990.
82. Steere, Allen C.: Conference Summary. The Yale Journal of Biology and Medicine, 57: 711-713 (1984).
83. Stiernstedt, Göran T., Granström, Marta., Hederstedt, Bengt., et al.: Diagnosis of Spirochetal Meningitis by Enzyme-linked Immunosorbent Assay and Indirect Immunofluorescence Assay in Serum and Cerebrospinal Fluid. Journal of Clinical Microbiology, 21(5): 819-825 (1985).