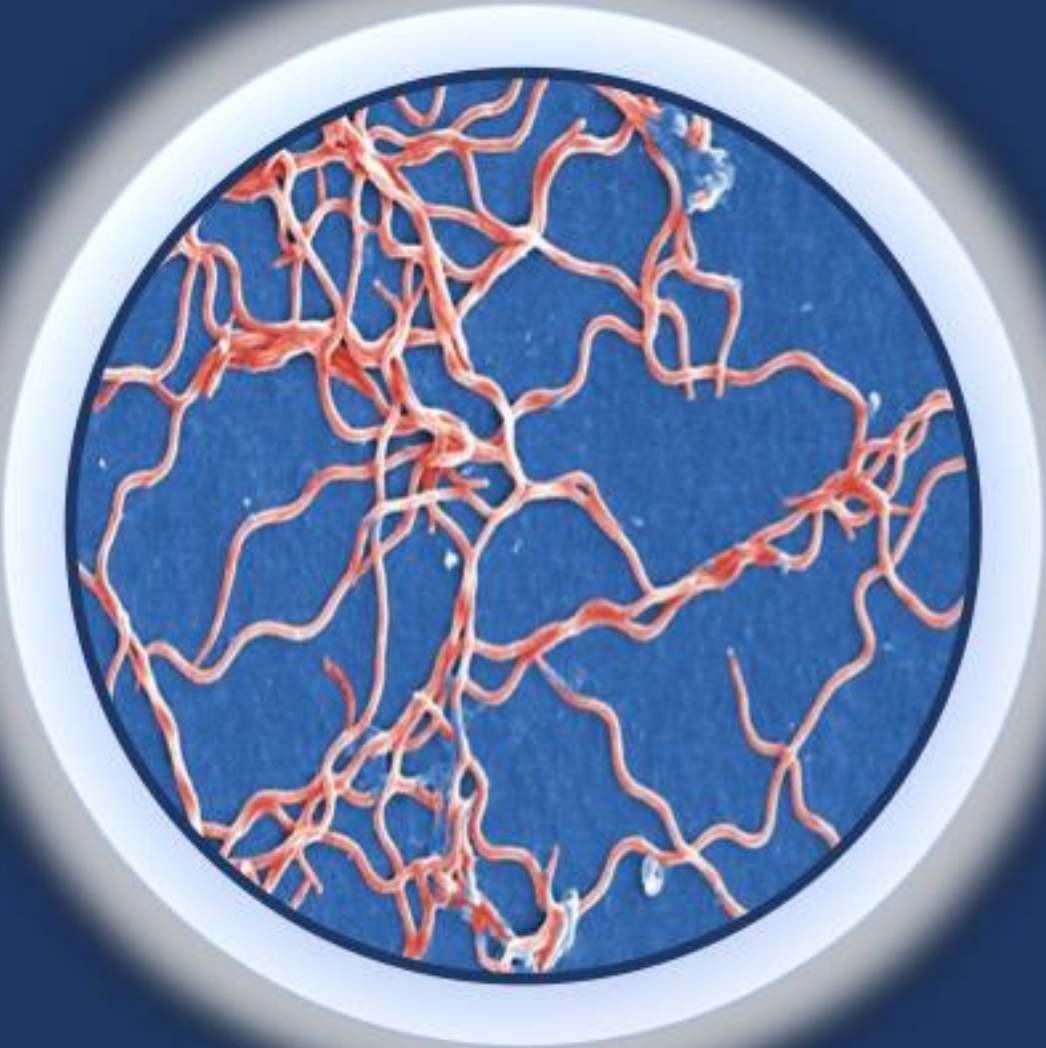


# TEMA 23: ESPIROQUETAS



Lucía Alguacil Román  
Lucía Burgos Díaz  
Madelyne Oxana Meza Villamar

**Microbiología clínica**

Grado en Bioquímica  
Departamento de Biología Molecular  
JMRR-UAM © 2025

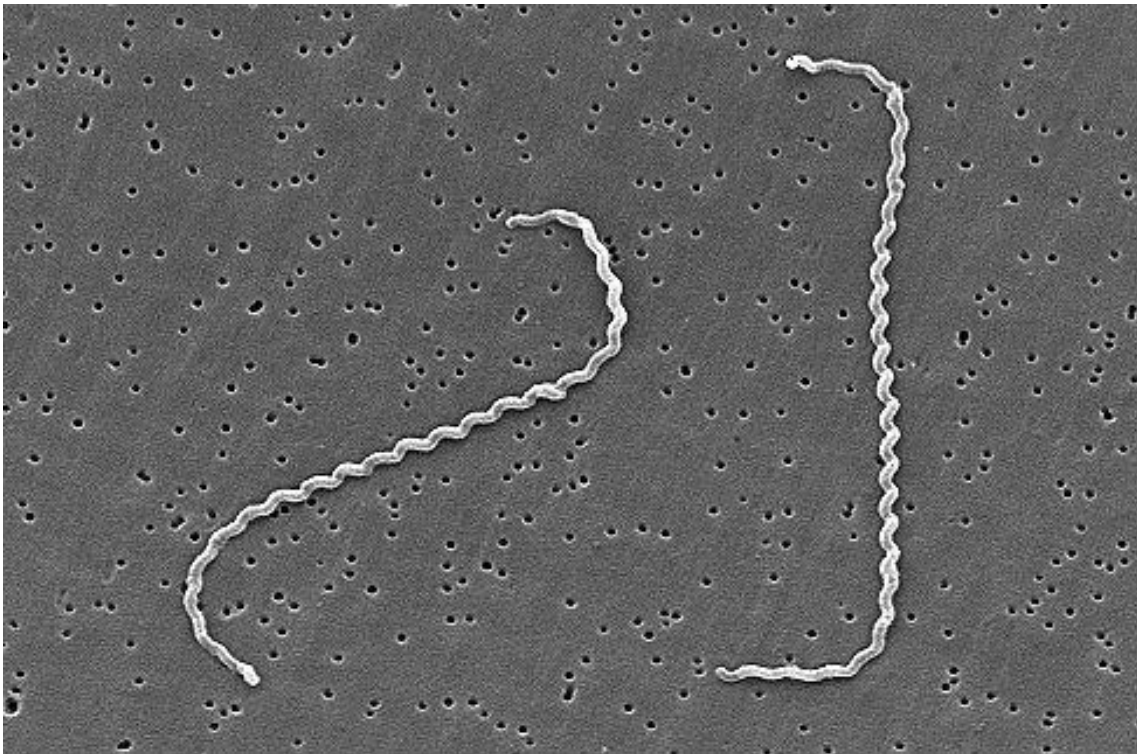
# Índice

1. Introducción .....	2
2. Aspectos clínicos de la infección .....	5
2.1. Enfermedad de Lyme y tropismo de genoespecies .....	7
2.2 Ciclo de vida y diagnóstico .....	7
3. Aspectos inmunopatológicos de la infección por <i>Borrelia</i> .....	10
3.1. La piel como lugar de infección y respuesta inmunitaria .....	10
3.2. Mecanismos de evasión del sistema del complemento .....	12
4. Biología de la variación antigénica .....	14
4.1. Análisis de la variación genética en el locus <i>vlsE</i> .....	19
4.2. Otras consideraciones .....	22
5. Interacción entre <i>B. burgdorferi</i> y la garrapata .....	23
Bibliografía .....	29

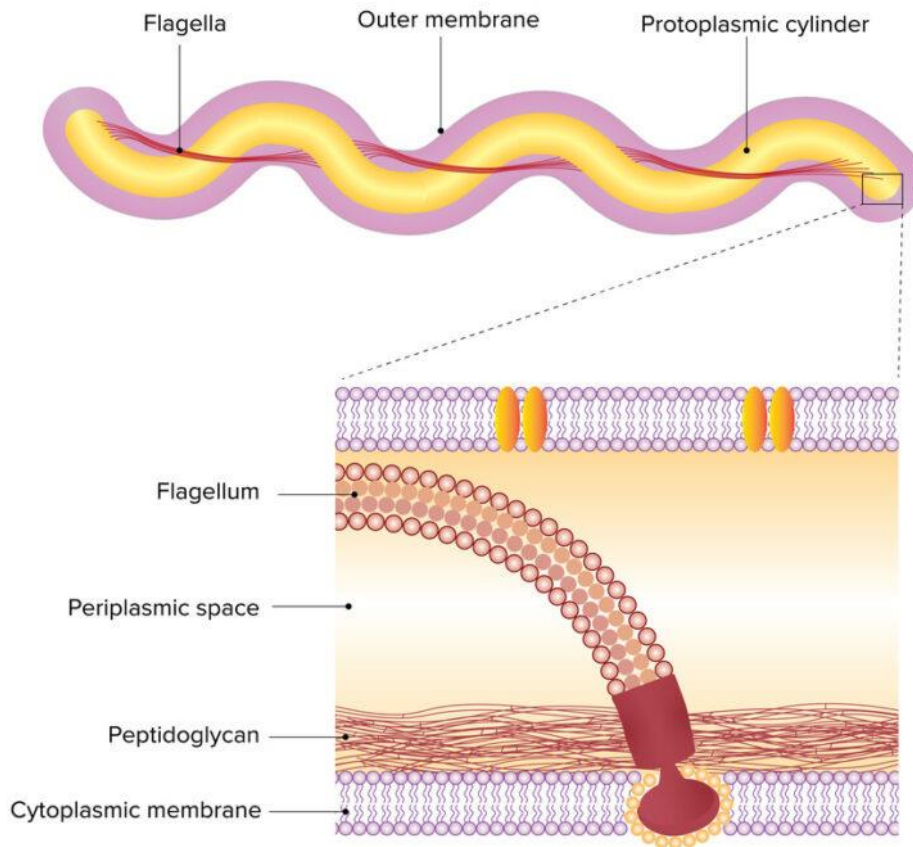
# 1. Introducción

El género *Borrelia* fue nombrado en honor a su descubridor, el biólogo francés Amédée Borrel (1867-1936). Las borrelias son miembros de un filum de las eubacterias que comprende a las espiroquetas. Las espiroquetas no están muy relacionadas con otras bacterias Gram-positivas o Gram-negativas. Recientemente, el género *Borrelia* ha sido renombrado como *Borrelia* en taxonomía bacteriana, pero todavía no es empleada de forma habitual en la literatura científica.

Como otras espiroquetas, las borrelia tienen como características morfológicas: una forma de hélice, y entre la membrana interna y la pared externa tienen un flagelo periplasmático. (Fig. 1 y Fig. 2).



**Figura 1. Microscopía electrónica de barrido (SEM).** Esta imagen revela algunas de las características ultraestructurales exhibidas por dos bacterias *Leptospira interrogans*, cepa-RGA, de forma espiral. Estas dos espiroquetas estaban unidas a un filtro de 0,2 µm. La cepa RGA fue aislada en 1915, por Uhlenhuth y Fromme, de la sangre de un soldado en Bélgica. Public Health Image Library (PHIL), ID #1220. Dominio público.

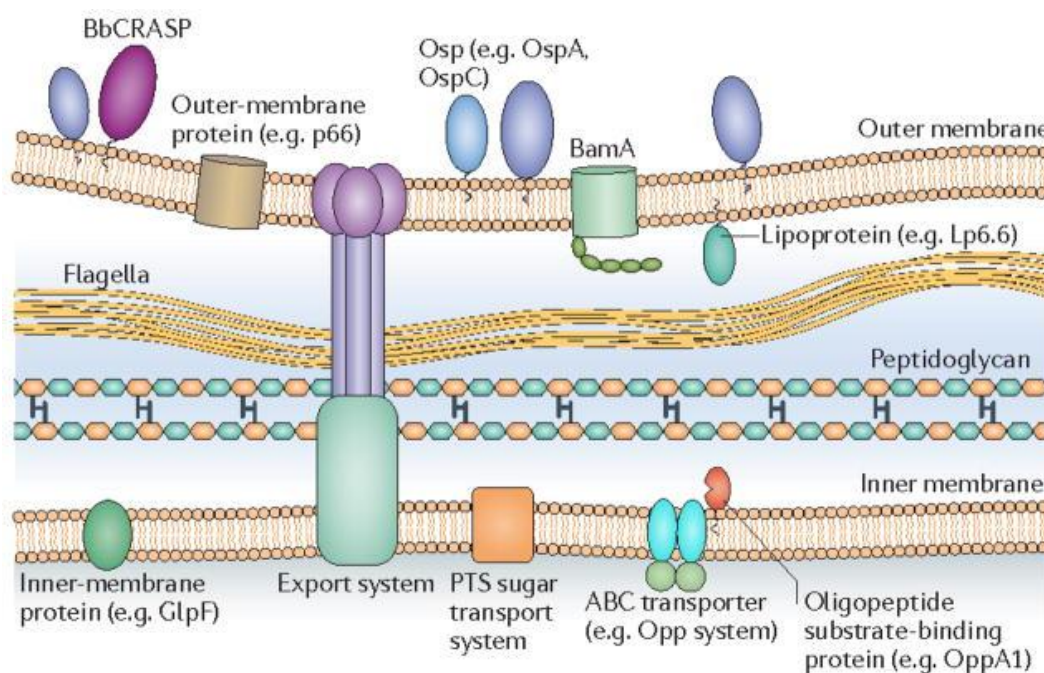


**Figura 2: Esquema anatómico de una espiroqueta, representando su morfología helicoidal y la disposición interna del flagelo periplasmático.** En la parte superior se muestra la estructura general con sus componentes principales: membrana externa, cilindro protoplasmático y flagelos. En la parte inferior, una vista transversal ampliada revela la ubicación del flagelo dentro del espacio periplásmico, entre la membrana citoplasmática y la capa de peptidoglicano. Esta configuración permite el movimiento en espiral característico de las espiroquetas. Imagen ilustrativa basada en representaciones anatómicas de espiroquetas obtenida de Oiseth et al (2025).

La membrana externa es bastante fluida y puede romperse fácilmente. A diferencia de las bacterias Gram-negativas típicas, las *Borrelia* no tienen Lipopolisacárido (LPS) en su membrana externa, la cual es rica en lipoproteínas Omps y BamA. Su longitud es de 30  $\mu\text{m}$  y su diámetro de 0,25  $\mu\text{m}$ . En las figuras 2 y 3 se muestra la estructura de la cubierta celular en la espiroqueta *B. burgdorferi*, donde se puede apreciar el órgano responsable de la motilidad, el flagelo. Este órgano técnicamente se denomina endoflagelo o filamento axial, y su rotación coordinada no solo facilita el movimiento helicoidal, sino que también refuerza la estructura de la célula ante el estrés mecánico. Los filamentos se anclan en los polos de la bacteria a unos motores flagelares (de 7 a 11 en cada extremo)



que son unas complejas nanomáquinas que se encargan de transformar el potencial quimiosmótico en fuerza motriz. Asociados a estos motores se encuentran proteínas capaces de interaccionar con moléculas, atrayentes o repelentes, que van a transmitir estas señales ambientales a los motores responsables de la quimiotaxis de la bacteria.



**Figura 3: Esquema de la envoltura celular de *Borrelia* muestra la membrana externa, los filamentos flagelares, el peptidoglucano y la membrana citoplasmática interna.** La membrana externa contiene lipoproteínas de superficie externa (Osps) en alta densidad y proteínas de membrana externa con estructura de barril  $\beta$ , como BamA, en baja densidad. La membrana interna es rica en proteínas integrales de membrana, muchas de las cuales son transportadores. BbCRASP: proteína adquirente del regulador del complemento; OppA1: permeasa de oligopeptidos A1; PTS: sistema de fosfotransferencia. Imagen obtenida de Radolf et al (2012).

Adicionalmente, las *Borrelia* son bacterias auxótrofas obligadas, lo que significa que no pueden sintetizar por sí mismas la mayoría de los nutrientes esenciales que necesitan para vivir. Esto se debe a que carecen de enzimas para realizar el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa. Por ello, dependen por completo del hospedador para obtener la mayoría de sus nutrientes (aminoácidos, lípidos y cofactores). Su única fuente de energía proviene de la fermentación de azúcares a ácido láctico (vía de Embden-Meyerhof, glucólisis).

Existe una gran especificidad de asociación entre las especies de *Borrelia* y los artrópodos

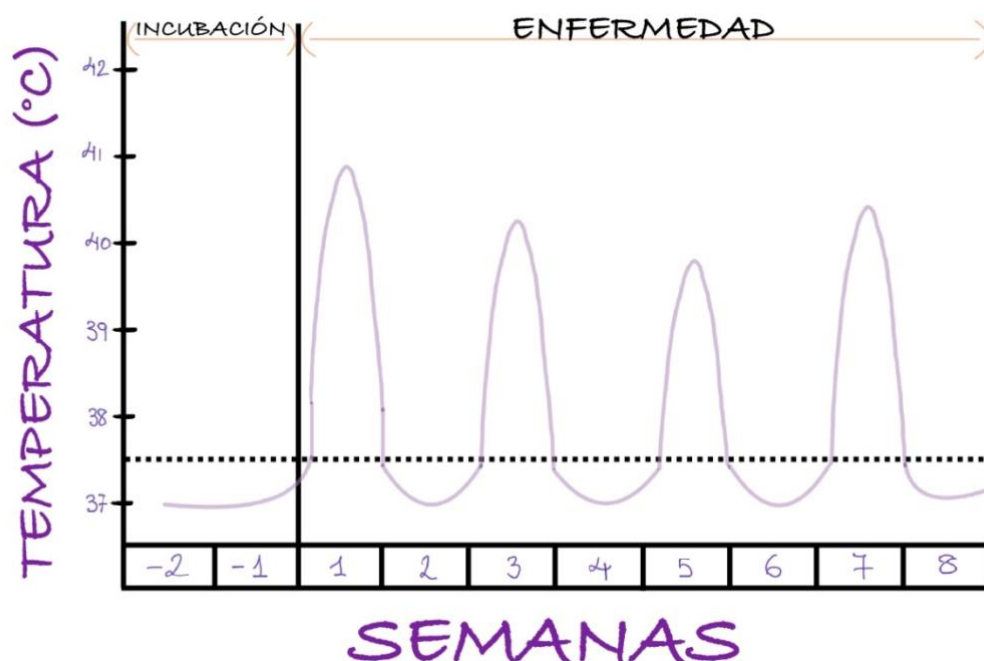
que las transmiten. La transmisión de las espiroquetas de un hospedador vertebrado a otro es dependiente de artrópodos hematófagos.

## 2. Aspectos clínicos de la infección

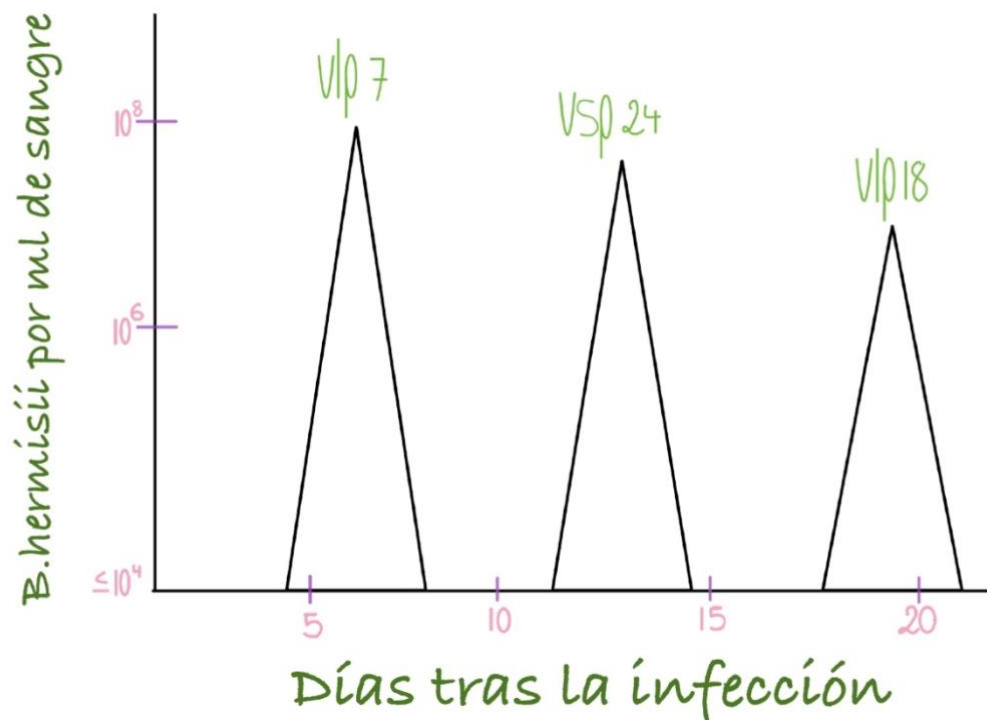
Las borrelias son conocidas por ser causa de las fiebres recurrentes. Existen varias especies de *Borrelia* capaces de producirlas. La aparición de fiebres recurrentes es un signo típico de este tipo de infecciones. Los periodos de fiebre duran 2-3 días y están separados por intervalos de una semana de estar bien (Fig. 4).

Aunque estudios patológicos indican que se produce invasión de tejidos durante la infección severa, la fiebre recurrente es principalmente una infección de la sangre. Durante los picos de fiebre, el número de borrelias en sangre puede llegar a ser de  $10^8/\text{ml}$  (Fig. 5). A causa de la gran cantidad de espiroquetas en la fase febril, el diagnóstico puede realizarse mediante la observación directa de las espiroquetas en una extensión de sangre con tinción de Giemsa.

Cálculos estimativos indican que se necesitan una semana para alcanzar esta densidad de bacterias partiendo de una sola célula.



**Figura 4: Representación gráfica de la temperatura corporal de fiebres recurrentes a lo largo de las semanas.** Las temperaturas corporales se indican en grados centígrados. Figura de creación propia.



**Figura 5: Patrón de variación antigénica de la infección durante la infección de mamíferos con la espiroqueta de fiebre recurrente, *Borrelia hermsii*.** Durante la fase inicial de la infección, se expresa un serotipo predominante (en este caso, Vlp7). Las concentraciones de organismos en la sangre pueden alcanzar  $10^8 \text{ ml}^{-1}$ . El primer serotipo es rápidamente eliminado por anticuerpos específicos de serotipo, y las recaídas posteriores son causadas por espiroquetas que han experimentado variación antigénica hacia diferentes serotipos de Vlp o Vsp (por ejemplo, Vsp24 y Vlp18). Figura de elaboración propia basada en Norris (2006).

Afortunadamente, estas enfermedades pueden tratarse con éxito en cualquiera de sus estadios utilizando antibióticos de amplio espectro, administrados oralmente, entre los que figuran la penicilina, la tetraciclina y la eritromicina. No obstante, el tratamiento antibiótico de las fiebres recurrentes puede desencadenar la Reacción de Jarisch-Herxheimer (RJH), una respuesta de tipo inflamatoria, similar a la sepsis, potencialmente fatal causada por la liberación masiva de lipoproteínas tras la lisis de un gran número de espiroquetas.

## 2.1. Enfermedad de Lyme y tropismo de genopecies

La forma más epidémica es causada por *B. recurrentes* que es transmitida por el piojo *Pudiculus humanus*. Existe también la Fiebre Recurrente Endémica, causada por otras especies (p. ej., *B. hermsii* o *B. turicatae*) y transmitida por garrapatas blandas del género *Ornithodoros*, lo que amplía el espectro vectorial de las borrelias.

Esta enfermedad se produce en zonas donde hay un gran apiñamiento de gente y las condiciones sanitarias son deficientes. Brotes de fiebre recurrentes ocurrieron durante la I y II guerras mundiales, y fueron causa de cientos de miles de muertes.

Otra enfermedad causada por estas espiroquetas es la enfermedad de Lyme, cuyo principal agente etiológico es *B. burgdorferi*, que es transmitida por garrapatas del género *Ixodes*.

No obstante, en Europa y Asia, la enfermedad de Lyme no es causada por una sola especie, sino por un conjunto de bacterias denominado *Borrelia burgdorferi sensu lato*, que incluye a *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* y *B. garinii*. Cada una de ellas tiende a afectar diferentes tejidos, y por ende, producir manifestaciones clínicas diferentes; *B. burgdorferi sensu stricto* se asocia más a manifestaciones articulares (artríticas) en EE. UU., mientras que *B. garinii* está ligada a la neuroborreliosis y *B. afzelii* a las manifestaciones cutáneas tardías.

Se trata de una enfermedad infecciosa emergente que se detectó como un brote epidémico de oligoartritis ocurrido a mediados de los años 70 del siglo XX en varias zonas rurales próximas a la ciudad de Lyme (Connecticut, USA) y que afectaba fundamentalmente a niños. La enfermedad de Lyme se caracteriza por la aparición de una lesión en la piel de color rojo, que se desplaza (*erythema migrans*) (Fig. 3), en el sitio donde se produjo la picadura de la garrapata, que posteriormente se va a desplazar a otras localizaciones y va a ser causa de muy diversas manifestaciones (neurológicas, cardiológicas, dermatológicas y artríticas). Sin embargo, se pueden producir afecciones articulares, corazón y sistema nervioso central.

## 2.2 Ciclo de vida y diagnóstico

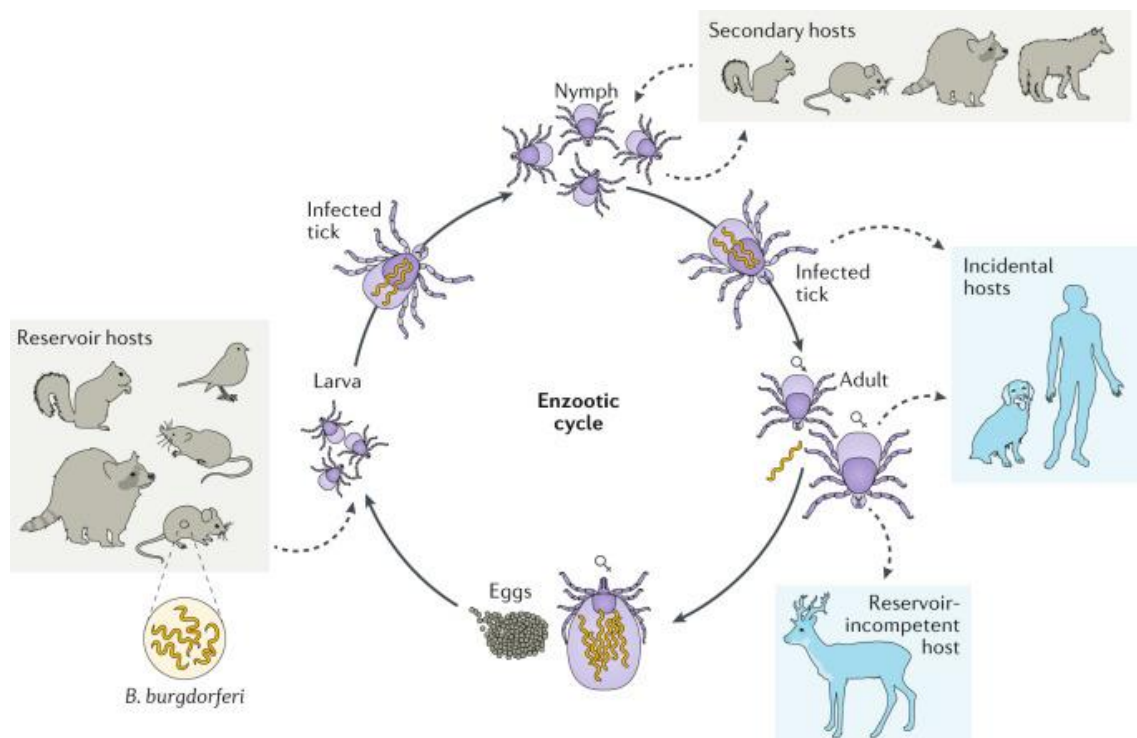
Con anterioridad, en 1921, el médico sueco Arvid Afzelius había descrito el *erythema migrans* como una manifestación clínica posiblemente causada por un agente transmitido



por la garrapata *Ixodes reduvius*. El nombre de la especie cuasante, *B. burgdorferi*, fue puesto en honor a su descubridor Willy Burgdorfer (1982). Contrario a lo que ocurre con las fiebres recurrentes, la bacteria nunca alcanza concentraciones elevadas en la sangre, sino que se mantiene en bajos números en distintos tejidos donde puede persistir por años.

Las espiroquetas causantes de la enfermedad de Lyme están ampliamente distribuidas en las zonas templadas del hemisferio norte. Así, en EEUU se diagnostican unos 400.000 casos al año y en la Unión Europea más de 120.000 casos al año.

En la figura 6 se muestra el ciclo de vida de *B. burgdorferi*. Las larvas de las garrapatas no están infectadas al eclosionar de los huevos. Parece que solo las garrapatas del género *Ixodes* son capaces de mantener a las espiroquetas a través de los diferentes estadios que las larvas van a experimentar hasta llegar a adultos. La infección es adquirida al alimentarse de los reservorios animales, principalmente ratones del género *Peromyscus*, ardillas y pájaros. Estos animales permanecen infectados de forma persistente, pero no desarrollan signos de inflamación.



**Figura 6: Los ciclos de vida de *Ixodes scapularis* y la dinámica de transmisión de *Borrelia burgdorferi*.**

Las flechas sólidas indican la progresión entre los estadios de larva, ninfa y adulto. Las flechas discontinuas señalan las preferencias de hospedador para cada etapa. Se destaca que la infección se adquiere durante las ingestas de sangre, dada la ausencia de transmisión transovárica del patógeno. Figura obtenida de Kurokawa et al. (2020).

En el desarrollo de la garrapata, que dura entre 2-4 años, se distinguen tres estadios: larva, ninfa y adulto, y cada etapa necesita de una ingesta de sangre para completar su desarrollo. Desde el punto de vista clínico, la transmisión de *B. burgdorferi* por la garrapata (*Ixodes*) requiere un tiempo de adhesión mínimo de 24 a 48 horas para que la espiroqueta migre de su intestino a la glándula salival e infecte al hospedador.

Al eclosionar los huevos, las larvas buscan un hospedador para alimentarse, que normalmente serán pequeños mamíferos o pájaros. Es entonces cuando las larvas pueden resultar infectadas por las espiroquetas. Tras alimentarse, se produce la transformación de la larva con seis patas a las ninfas con ocho patas, que se mantienen infectadas por *Borrelia*. A continuación, las ninfas buscan un segundo hospedador para alimentarse, normalmente animales de tamaño pequeño o medio. Esta etapa vuelve a ser una nueva oportunidad para que la garrapata sea infectada por la espiroqueta. La fase ninfa, por su pequeño tamaño y por su abundancia, es considerada la forma con mayor capacidad de transmisión de las espiroquetas a humanos y animales domésticos. Una vez que las ninfas se transforman en adultos, estos buscan un animal grande para hacer su última ingesta de sangre. Las garrapatas adultas se consideran poco importantes para la expansión de *B. burgdorferi*, ya que se alimentan fundamentalmente sobre animales grandes, como los ciervos, que son incompetentes para mantener la multiplicación de la espiroqueta; sin embargo, son importantes para mantener la población de garrapatas, pues éstas se aparean sobre él. Las personas también se consideran hospedadores finales para las garrapatas adultas, al igual que los perros. Después del apareamiento, las hembras, con sus intestinos llenos de sangre, se sueltan del hospedador y proceden a depositar los huevos en el suelo, y poco después mueren.

Estudios serológicos en zonas endémicas indican que las infecciones subclínicas o asintomáticas en humanos son frecuentes. A pesar de la alta disponibilidad de pruebas serológicas como ELISA y Western Blot para la detección de anticuerpos, su utilidad en el diagnóstico temprano es limitada, ya que los anticuerpos tardan semanas en aparecer y la seropositividad en población asintomática es frecuente. Por ello, el diagnóstico temprano se basa frecuentemente en la clínica (detección del *erythema migrans*) y el riesgo de exposición.

### 3. Aspectos inmunopatológicos de la infección por *Borrelia*

La inmunidad mediada por anticuerpos parece desempeñar un papel crítico en la neutralización de la infección de estas espiroquetas.

Los mecanismos efectores que actúan sobre las espiroquetas recubiertas por anticuerpo son el complemento y fagocitos con receptores para C3b y Fc. Se clasifica a *B. burgdorferi* como un patógeno de alta invasividad pero de baja toxicidad (no produce exotoxinas).

Por otro lado, la gran capacidad de movimiento de las espiroquetas, que pueden moverse en los tejidos a velocidades de hasta 4  $\mu\text{m}$  por segundo, les permite evadir a los fagocitos profesionales, que se mueven de una forma relativamente más lenta.

En el hombre, el reclutamiento de linfocitos T al sitio de infección es responsable del enrojecimiento característico del “erythema migrans” asociado a la infección por *B. burgdorferi*. Las artritis y carditis en humanos parecen consecuencia de la infiltración de monocitos, macrófagos, neutrófilos y linfocitos a los lugares donde se encuentra la bacteria. En las fases tardías de la borreliosis, el daño en los tejidos es un fenómeno de inmunopatología, donde la inflamación crónica del huésped, generada por la persistencia bacteriana o sus componentes, es la principal responsable de la lesión.

Para diseminarse, *B. burgdorferi*, se abre camino en la matriz extracelular. Para ello, aunque no tiene capacidad de producir enzimas degradativas de la matriz extracelular, sí que es capaz de apropiarse de proteasas del hospedador tales como el plasminógeno y su activador uroquinasa. Este mecanismo de apropiación permite a la bacteria, que carece de enzimas propias, degradar la matriz extracelular (MEC) y facilitar la diseminación tisular.

También induce la expresión de varias metaloproteinasas por parte de células tanto fagocíticas como no fagocíticas.

#### 3.1. La piel como lugar de infección y respuesta inmunitaria

En las infecciones transmitidas por artrópodos, como es el caso de la borreliosis de Lyme, además del patógeno y el hospedador, el resultado de la infección también va a depender de factores asociados al vector, en este caso la garrapata. Además, hay que tener en cuenta

que el patógeno va a ser depositado en la dermis, un lugar donde el sistema inmunitario muestra ciertas singularidades.

La garrapata a través de su aparato bucal se ancla a la piel, atravesando la epidermis y entrando en contacto con la dermis (Fig. 7). Lo primero que hace la garrapata es inyectar saliva, algunas moléculas sirven para generar una especie de cemento que sirve para fijar el aparato bucal a la dermis del hospedador. Otras moléculas presentes en la saliva actúan como vasodilatadores, otras favorecen la curación de la herida y también hay moduladores de la respuesta inmunitaria.

Unas tres horas después de la picadura, se observa una acumulación importante de eosinófilos y de mastocitos, que es mayor si la persona ya había tenido picaduras previas de garrapatas. A las 24 horas se produce el reclutamiento de neutrófilos, macrófagos y células dendríticas y se observan reacciones inflamatorias cutáneas.

*Borrelia*, para sobrevivir a esta respuesta inflamatoria va a expresar una serie de lipoproteínas, principalmente en la membrana externa, entre las que se encuentra OspC (*outer surface protein C*). En ausencia de esta proteína, la bacteria es eliminada antes de 48 horas tras la infección. Entre las funciones de esta proteína están la activación del factor de crecimiento del endotelio vascular VEGF (*vascular endothelial growth factor*), lo que facilita la diseminación de la espiroqueta. Además, OspC se une al plasminógeno, lo que le permite a la bacteria degradar la matriz extracelular, favoreciendo su diseminación a través de la dermis. Este proceso es la causa del eritema migrans, que se observa típicamente en las personas infectadas por *Borrelia*, que se manifiesta como un enrojecimiento que se va ampliando de forma circular desde el punto de la picadura a una velocidad de 1-3 cm por día, y que dibuja el proceso de diseminación de la bacteria en la dermis. El eritema es causado por la respuesta inmunitaria suscitada por la presencia de la espiroqueta y que es debida fundamentalmente a linfocitos T y células dendríticas activadas que producen las citoquinas pro-inflamatorias IL-6 e IFN- $\gamma$ . Este proceso puede durar desde unos pocos días a varias semanas.

Sin embargo, *Borrelia* puede modular la respuesta inmunitaria hacia la sobre-expresión de IL-10, lo que produce una supresión de la activación de los macrófagos y una disminución de su actividad fagocítica. También se ha visto que, tras su fagocitosis por monocitos, *Borrelia* induce la apoptosis de los monocitos, resistiendo así de ser eliminada. Por otro lado, *Borrelia* también disminuye la expresión de moléculas MHC-II

Este diagrama ilustra la fisiopatología de la enfermedad de la garrapata (EMG) a nivel celular y molecular. Se muestra la interacción entre la saliva de la garrapata y las células inmunitarias de la piel humana.

**Componentes de la garrapata:**

- Garrapata:** El organismo que transmite la saliva.
- Hipostoma:** La parte de la garrapata que se introduce en la piel.
- Saliva:** El fluido que contiene factores inmunomoduladores.

**Factores de la saliva y sus efectos:**

- IL-8, MCP-1, hBD2, hBD3, LL-37, RNase7, Psoriasin:** Factores que actúan sobre las células de la piel.
- ISL 929/1373:** Factor que induce la producción de ROS en los neutrófilos.
- Salp25D:** Factor que induce la producción de ROS en los neutrófilos.
- Salp15:** Factor que induce la formación de NETs.
- OspC:** Factor que induce la formación de NETs.
- FcγRs:** Receptores que interactúan con los anticuerpos.

**Respuesta inmunitaria y procesos celulares:**

- Neutrófilos:** Células que producen ROS y forman NETs (Cuerpos redondos).
- Macrófagos:** Células que producen ROS y expresan CD38.
- Células dendríticas:** Células que maduran y expresan CD38.
- Formación de NETs:** Proceso en el que los neutrófilos liberan cuerpos redondos.
- ROS:** Especies reactivas de oxígeno que actúan como mediadores de la inflamación.
- IL-10:** Citocina que inhibe la respuesta inmunitaria.
- CD38:** Molécula involucrada en la migración de las DC a los LCs.
- IL-6, TNF-α, MIP-1α, MIP-1β, TCA-3:** Citocinas y factores que actúan sobre los mastocitos.
- IL-22:** Citocina que induce el efecto bactericida.
- IL-1β:** Citocina que induce el efecto bactericida.

**Localización y tipos de células:**

- Células de Langerhans:** Células de la piel que expresan CD38.
- LCs (Langerhans Cells):** Células de la piel que expresan CD38.
- Th2:** Células T helper que interactúan con los LCs.
- Mastocitos:** Células que expresan FcγRs y producen histamina.
- Fibroblastos:** Células que expresan IL-6, TNF-α, CXCL1, TNF-α, MMP-1, -3, -12.
- LT (Linfocito T):** Célula que produce IL-22.
- Vaso sanguíneo:** Estructura que permite la migración de células inmunitarias.

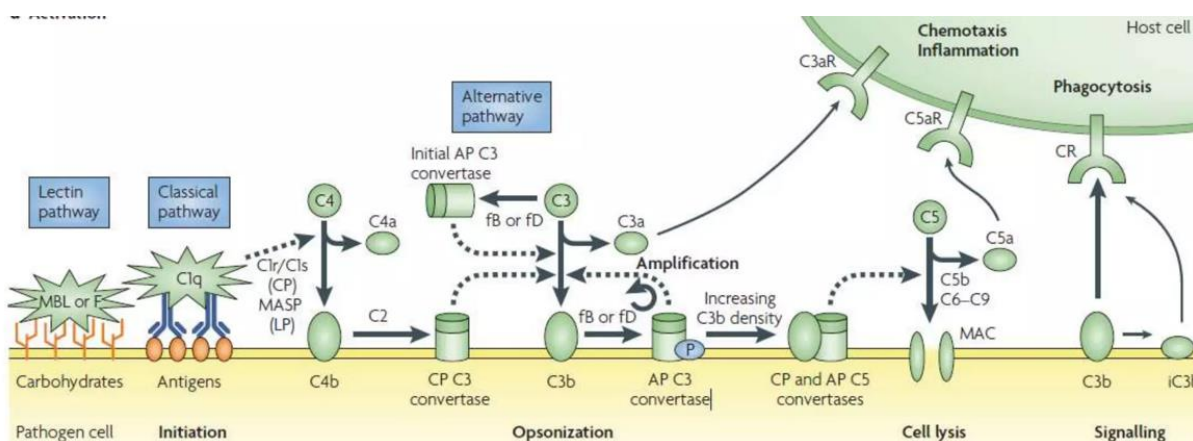
### 3.2. Mecanismos de evasión del sistema del complemento

12



exposición al sistema del complemento ya ocurre en la garrapata al tiempo de la ingesta de sangre.

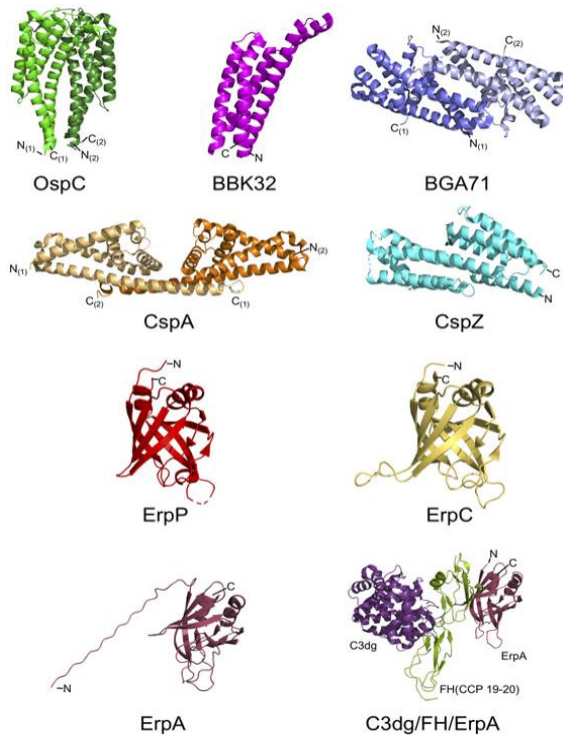
La activación del sistema del complemento ocurre a través de tres vías, la vía clásica, la de las lectinas y la alternativa; si bien, las tres confluyen en el punto en el que se genera la molécula C3b, molécula clave para la activación del resto de componentes de la cascada del complemento (Fig. 8). Así, sobre C3b se depositan los complejos C4b2b y C3Bb, que conforman las convertasas C5. La rotura de C5 en C5a y C5b desencadena la unión secuencial de los componentes C6, C7 y C8 a C5b. Una vez formado el complejo C5b-8, varias moléculas del componente C9 se acomplejan para forman el complejo formador de poro o complejo de ataque (TCC, *terminal complement complex*). Este complejo es el responsable de la formación de poros en la membrana del agente invasor y de producir la lisis celular.



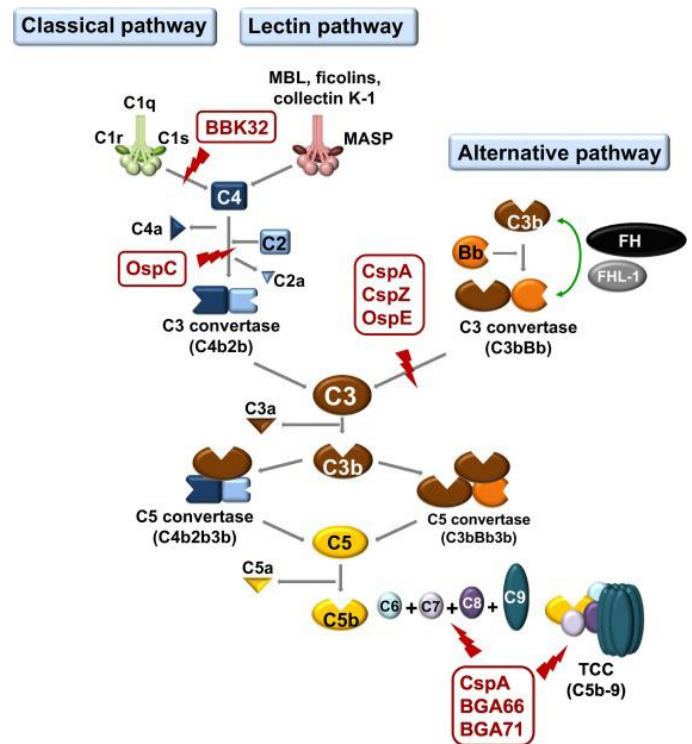
**Figura 8. Activación de las diferentes vías del complemento.** La imagen resume las tres vías de activación del complemento, clásica, de las lectinas y alternativa, y muestra cómo todas convergen en la generación de C3b, punto central de la cascada y clave para la amplificación de la respuesta y la posterior formación del complejo de ataque de membrana. *Imagen obtenida de Lambris et al (2008)*

La figura 9 muestra el gran número de lipoproteínas que posee *Borrelia* para interferir con el sistema del complemento y la figura 10, los pasos de la vía del complemento en los que actúan inhibiéndola. Algunas de estas bloquean los pasos de iniciación, como es BBK2 que inhibe la vía clásica al interactuar con el complejo C1. OspC une C4b e interfiere con la formación de la C3-proconvertasa (C4bC2). La espiroqueta también produce la proteína p43 que inhibe la cascada del complemento al reclutar al factor

regulador del complemento C4BP. CspA, CspZ y ErpA/P unen a los reguladores FH y FHL-1, que actúan bloqueando a las convertasas C3 y C5. *Borrelia* produce al menos cuatro proteínas que bloquean la formación del complejo MAC al bloquear la polimerización de C3; sus nombres son CspA, BGA66, BGA71 y proteína similar a CD59.



**Figura 9.** Estructuras tridimensionales de proteínas implicadas en la evasión del complemento por la espiroqueta causante de la enfermedad de Lyme. Imagen obtenida de Skare y García (2020)



**Figura 10.** Diagrama esquemático de las cascadas del complemento de los vertebrados y los pasos concretos en los que interactúan las proteínas anticomplemento de *Borrelia burgdorferi*. Imagen obtenida de Lin et al (2020)

## 4. Biología de la variación antigénica

Ya en 1918, Jancso publicó que los aislados del primer ataque y de recurrencias diferían serológicamente.

*B. burgdorferi*, el agente etiológico de la enfermedad de Lyme, es capaz de persistir durante años en pacientes o animales a pesar de la presencia de una respuesta inmunitaria activa.

La variación antigénica es el mecanismo postulado por el que las distintas especies de *Borrelia* son capaces de evadir la respuesta inmunitaria en el hospedador mamífero.

El genoma es relativamente pequeño,  $1,5 \times 10^6$  pares de bases, aunque es uno de los más complejos descritos en bacterias. Está compuesto por un cromosoma lineal de aproximadamente 1 Mb y 21 plásmidos lineales o circulares, que en conjunto contienen 1780 genes. Un porcentaje significativo de estos genes codifica lipoproteínas. El cromosoma lineal contiene la mayoría de los genes “housekeeping” y está relativamente conservado en todas las bacterias del género. Los plásmidos, que codifican para la mayoría de las lipoproteínas de la superficie externa, muestran gran variabilidad en contenido génico en las diferentes cepas y aislados.

Las vías metabólicas de *B. burgdorferi* son bastante limitadas como consecuencia la evolución reduccionista que han experimentado desde la adquisición de su modo de vida parásito. La bacteria es auxótrofa para todos los aminoácidos, nucleótidos y ácidos grasos; carece de genes para las enzimas del ciclo tricarboxílico y la fosforilación oxidativa. La energía la obtienen fundamentalmente de la fermentación de azúcares a ácido láctico a través de la vía de Embden-Meyerhof (glicolisis).

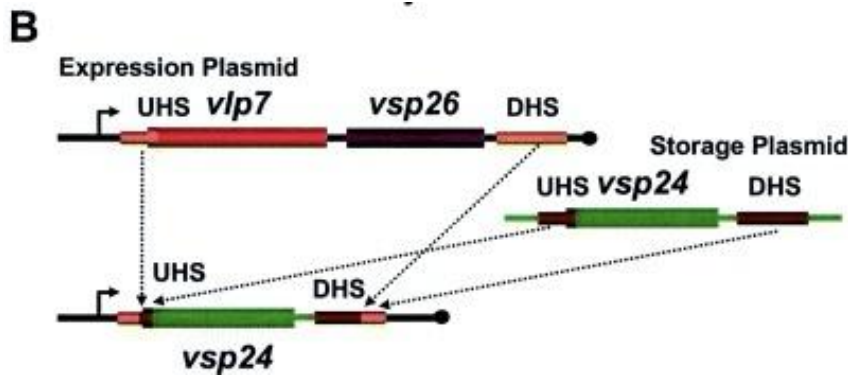
La variación antigénica se ha definido como los cambios en la estructura o expresión de proteínas antigénicas que ocurren durante la infección a una frecuencia mayor que la tasa normal de mutación. Este mecanismo le permite al organismo ir un paso por delante de la respuesta inmunitaria.

La variación antigénica se ha definido como los cambios en la estructura o expresión de proteínas antigénicas que ocurren durante la infección a una frecuencia mayor que la tasa normal de mutación. Este mecanismo le permite al organismo ir un paso por delante de la respuesta inmunitaria.

Un mecanismo complejo de variación antigénica ha sido caracterizado en *B. hermsii*, un pariente de *B. burgdorferi* que causa fiebres recurrentes. Cada ciclo de infección (Fig. 5) es causado por una espiroqueta que produce una forma diferente de lipoproteínas de superficie Vlp (variable large lipoprotein) o Vsp (variable small lipoprotein). El descenso

de la parasitemia ocurre cuando el hospedador produce suficientes anticuerpos frente a la lipoproteína expresada para neutralizar e inducir la eliminación de la bacteria. Las variantes Vlp/Vsp ocurren a frecuencias que van de  $10^{-3}$  a  $10^{-4}$  por célula y generación.

*B. hermsii*, al igual que otras especies del género, tienen un gran número de plásmidos, lineales y circulares, que representan un tercio del tamaño del genoma. En el plásmido HS1 se ha detectado la presencia de 21 genes *vsp* y 38 genes *vlp* que no son expresados, pues, aunque contienen fases de lectura abierta (ORF) y secuencias de unión a ribosoma, carecen de promotores. Las secuencias de estos genes, y de las proteínas codificadas, son muy diferentes salvo en la región 5'. Se han encontrado 59 versiones distintas de los genes *vlp* y *vls*, y se estima que esta colección representa casi la totalidad (90%) de todos los genes de este tipo que posee la bacteria. Estos genes están dispuestos juntos en 10 cúmulos que contienen de 2 a 14 segmentos de genes cada uno. Adicionalmente, los alelos *vlp* se agrupan en cuatro familias principales ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) según su similitud genética (si dos genes se parecen al menos en un 60%, se clasifican en el mismo grupo). La mayoría de los alelos *vlp* y *vsp* contienen en 5' una región de homología de unos 60 pb, llamada UHS (upstream homology sequence), que comprende los 27 nt de la ORF y la secuencia situada por encima de la ORF. Dentro de esta secuencia UHS, existen variaciones en dos nucleótidos centrales que sirven como marcador para ubicar los eventos de recombinación. Por debajo de las ORFs se localiza otra región conservada entre los distintos alelos; esta región consiste en 13 copias de 214 pb, y se denomina secuencia DHS (downstream homology sequence), y se encuentran intercaladas entre los alelos del segmento de gen variable. El único sitio de expresión, que posee una secuencia promotora, se encuentra en un plásmido lineal de 28 kb llamado lp28-1 (Fig. 11). Los procesos de recombinación, causa de la variabilidad antigénica, se van a producir a través de procesos de conversión génica que van a sustituir el gen situado en el sitio de expresión por cualquiera de los otros alelos silenciosos situados en el plásmido HS1. Las secuencias UHS y DHS parecen las responsables de definir los sitios de inicio y final del proceso de conversión.



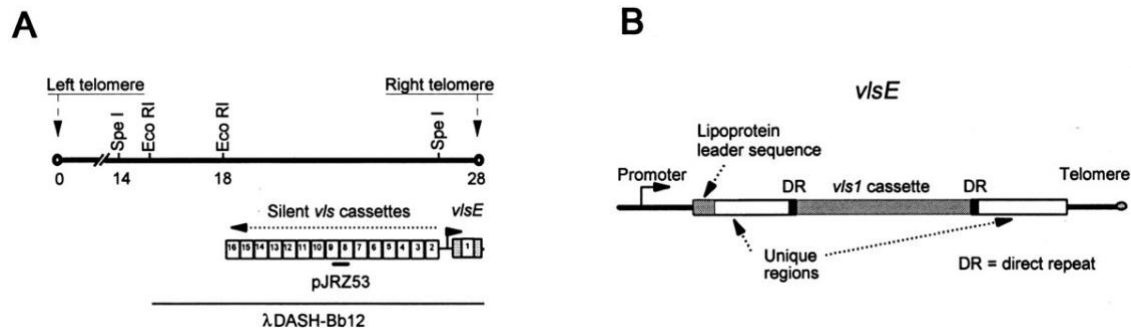
**Figura 11. Mecanismos de variación antigénica en Borrelia.** En *Borrelia hermsii*, la variación antigénica se basa principalmente en un proceso de conversión génica. Este mecanismo implica recombinaciones que utilizan las regiones de homología UHS y DHS, permitiendo sustituir el gen *vlp* o *vsp* presente en el sitio de expresión por alguno de los alelos silenciosa. Imagen obtenida de Norris (2006)

En el caso del agente causante de la enfermedad de Lyme, *B. burgdorferi*, se ha descrito que la variación antigénica ocurre por un mecanismo que implica una conversión génica segmental. En esta espiroqueta existe un locus genético llamado secuencia semejante a *vmp* (*vls*) que tiene cierta similitud con el sistema *vlp/vsp* de *B. hermsii*. Se han identificado un sitio de expresión de *vls* (*vlsE*) y 15 "casetes" silentes *vls* situados sobre un plásmido lineal de 28 kb, cuyos telómeros están covalentemente cerrados. Los "casetes" *vls* son altamente homólogos a la parte central del gen *vlsE* (Fig. 11). El gen *vlsE* se localiza en el telómero del plásmido (Fig. 12). Las cepas de *B. burgdorferi* normalmente exhiben pérdida de infectividad después de 10-17 pases in vitro, lo que coincide con la pérdida de plásmidos. Los eventos de conversión génica implican la sustitución de segmentos aleatorios y de longitud variable de la región central del casete *vlsE* por regiones correspondientes de cualquiera de los casetes silenciosos:

El casete central, denominado *vlsI*, del gen *vlsE* está flanqueado a ambos lados por una secuencia repetida de 17 pb. El casete *vlsI* y el resto de los casetes (*vls2* hasta *vls16*) comparten de 90 a 96% de identidad de secuencia y de 77 a 91,4% de identidad de secuencia predicha de aminoácidos. Los cambios en la secuencia afectan principalmente a seis regiones variables que se localizan en la parte más expuesta y distal de la membrana de VlsE.



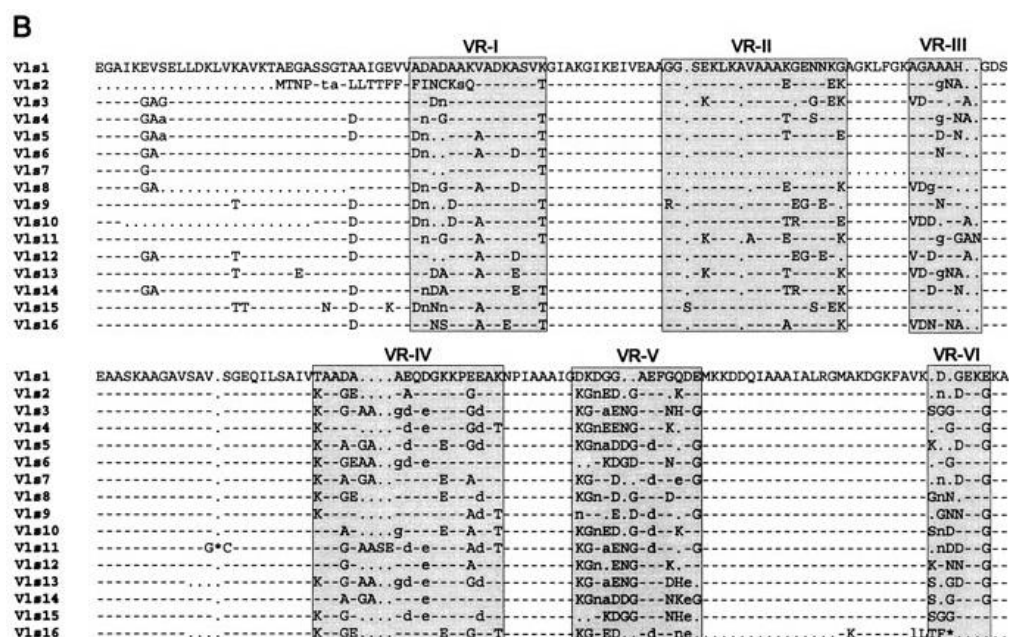
Los 15 casetes adicionales *vls* están orientados en la dirección contraria a *vlsE* y están ordenados en una organización cabeza-cola. Los casetes *vls* contienen la misma secuencia repetida de 17pb a cada extremo.



**Figura 12. Estructura del locus *vls* de la cepa B31–5A3 de *B. burgdorferi*.** (A) Representación del plásmido lineal lp28-1 de *B. burgdorferi*, indicando la posición de los casetes *vls* silentes y la ubicación del gen *vlsE* en el extremo telomérico derecho, así como los fragmentos genómicos utilizados en los estudios de hibridación. (B) Estructura de *vlsE*. Imagen obtenida de Zhang et al (1999)

Los casetes *vls* contienen seis regiones altamente conservadas que están interdispersas por seis regiones variables (VR), que difieren en las secuencias tanto de nucleótidos como aminoácidos (Fig. 13).

Como resultado, los mamíferos podrían albergar miles de variantes diferentes en cualquier momento, y, aunque se produce una fuerte respuesta inmunitaria contra las regiones conservadas, los epítomos alterados dificultan el reconocimiento inmunológico eficaz y permiten la persistencia de la infección.



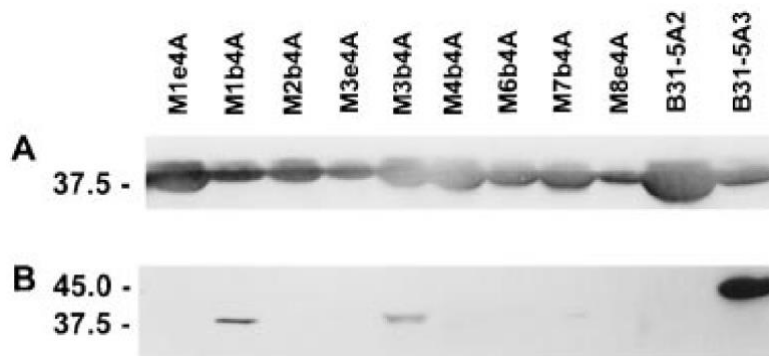
**Figura 13. Estructura del locus *vls* de la cepa B31–5A3 de *B. burgdorferi*.** Alineación comparativa entre la proteína VlsE (alelo *vlsE1*) y los casetes *vls* silenciosos, junto con las Vmps de *Borrelia hermsii*, que muestra el patrón de conservación y variabilidad característico del sistema de variación antigénica. Los residuos coincidentes con VlsE se indican mediante guiones y las sustituciones conservadoras en minúsculas, mientras que las lagunas y los codones de parada se representan con puntos y asteriscos. Las regiones variables (VR-I a VR-VI), responsables de la diversidad estructural utilizada por *B. burgdorferi* para evadir la respuesta inmune, se somborean para resaltar sus diferencias. *Imagen obtenida de Zhang et al (1999)*

#### 4.1. Análisis de la variación genética en el locus *vlsE*

En la figura 13 se ilustra el experimento diseñado para analizar la variabilidad genética del locus. Los clones se designan mediante la combinación del número de ratón (m1 a m8), el tejido-fuente ("e" por oreja, y "b" por sangre), la semana post-infección y una designación de clon (de A hasta P) para los 16 clones derivados de cada aislado.

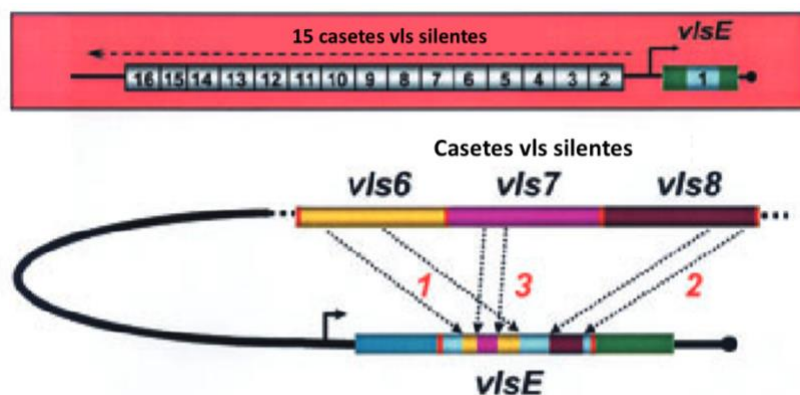
Cuando se comparan con el *vlsE* parental del clon B31-5A3 (alelo *vlsE1*) empleado para el inóculo, los 11 clones aislados de los 8 ratones presentaban múltiples cambios de secuencia en la región *vls* de *vlsE*, haciendo a cada alelo único. Los cambios suponen múltiples diferencias en las secuencias predichas de aminoácidos, estos cambios se encuentran confinados principalmente a las seis regiones variables (Fig. 14). Las secuencias variables de casi todas las posiciones en los 11 alelos *vlsE* pueden ser encontrados en las regiones correspondientes de los casetes *vls* silentes.





**Figura 15. Alteración en la antigenicidad de clones de *B. burgdorferi* aislados de ratones C3H/HeN 4 semanas después de la infección.** Se comparó la reactividad antigénica de 9 clones aislados de ratón (pocillos 1-9) con el clon parental utilizado en la inoculación (B31-5A2) y un clon de baja infectividad (B31-5A3). Para ello, se realizaron dos Western blot utilizando anticuerpo monoclonal dirigido contra la flagelina de *B. burgdorferi* como control positivo en (A), y antisuero contra la proteína de fusión GST-Vls1 en (B). Imagen obtenida de Zhang et al. (1997).

En la figura 16 se ilustra el modelo hipotético postulado para explicar la variación genética del locus *vls*. Las secuencias repetidas directas de 17 pb pueden estar implicadas en el alineamiento de las secuencias *vls* durante la recombinación o en la unión de una recombinasa específica de sitio. Por otro lado, las secuencias conservadas facilitan la recombinación entre las secuencias *vls* expresada y silentes, probablemente por un mecanismo de conversión génica no recíproca. A través de múltiples sucesos de recombinación, porciones del sitio de expresión son reemplazadas por segmentos procedentes de diversos “casetes” *vls* silentes, lo que da lugar a un inmenso número de alelos *vlsE* diferentes.



**Figura 16. Mecanismo genético de variación antigénica de *vlsE* en *B. burgdorferi*.** Los segmentos en la región variable *vlsE* son reemplazados por secciones provenientes de los casetes silentes mediante múltiples sucesos de recombinación. Imagen obtenida de Norris (2006).

Se ha demostrado que la expresión de la proteína VlsE está regulada por un factor de transcripción de la familia YebC, el cual es esencial para la evasión del sistema inmunitario del hospedador, ya que las mutantes que carecen de él son incapaces de infectar ratones inmunocompetentes. Este factor parece responder a señales del entorno, como cambios de temperatura o pH, que la espiroqueta experimenta al pasar de la garrapata al mamífero, aumentando así la producción de VlsE justo cuando la bacteria más necesita poder evadir al sistema inmunitario.

Además, el complejo helicasa RuvAB, que participa en la resolución de uniones de Holliday durante la recombinación homóloga, tiene un importante papel durante la recombinación de vlsE, promoviendo la generación de nuevas variantes durante la infección. La endonucleasa de reparación MutL también ha sido identificada como esencial para el proceso de recombinación, ampliando el conocimiento sobre los factores moleculares implicados en este proceso.

Como un resultado de este proceso de conversión génica segmental, los mamíferos infectados pueden terminar albergando a miles de variantes diferentes, lo que va a crear una gran confusión al sistema inmunitario al querer responder frente a ese gran número de epítomos diferentes que se han creado.

Cabe destacar que, a pesar de esta enorme variabilidad antigénica, tanto VlsE al completo como su región invariable C6 son utilizados como marcador diagnóstico en pruebas inmunológicas para la enfermedad de Lyme, debido a su alta inmunogenicidad y conservación.

#### 4.2. Otras consideraciones

La función de las lipoproteínas VlsE, Vlp y Vsp no se conoce, aunque hay indicaciones de que posiblemente están implicadas en interacciones con el hospedador. Es muy probable que estas lipoproteínas desempeñen funciones claves en aspectos de la infección tales como la colonización, diseminación, adherencia, extravasación y evasión de los mecanismos inmunitarios innatos o adquisición de nutrientes. De hecho, su producción está muy regulada y sólo se producen durante la infección del hospedador mamífero. Se piensa que estas van a ser responsables del tropismo tisular y de las diversas patologías por las diferentes especies de *Borrelia*.

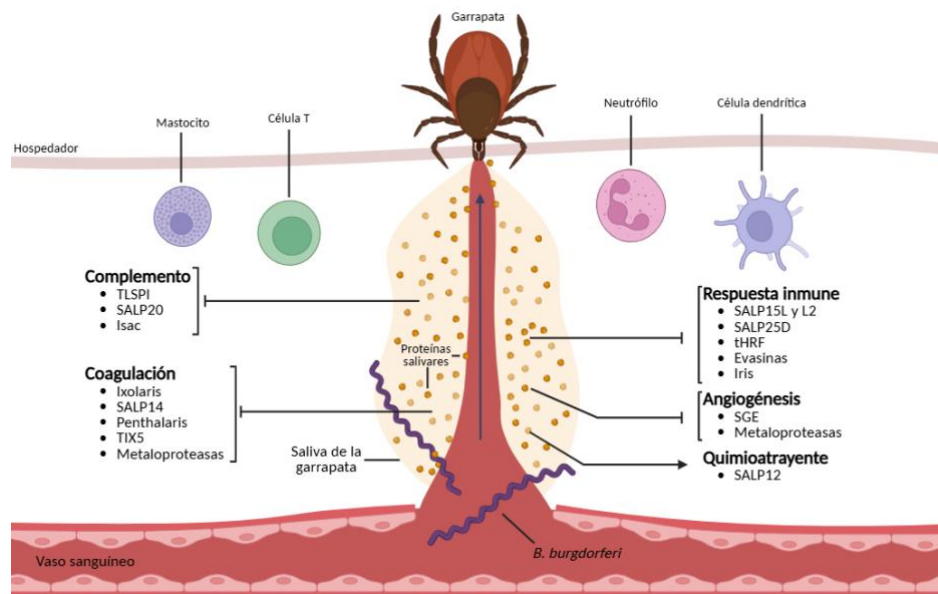


Una cuestión por resolver es cómo estas proteínas mantienen su funcionalidad en el contexto de una variabilidad tan asombrosa como la que ocurre en las VlsE de *B. burgdorferi*. Seguramente relacionado con esta finalidad está el hecho de que la recombinación no afecta a las regiones del gen codificantes de los extremos N- y C-terminales y, además, explica la existencia de regiones conservadas entre las diferentes casetes *vls*.

Se ha observado que la recombinación en *vlsE* ocurre exclusivamente durante la infección en el hospedador mamífero, ya que la conversión génica no ocurre ni *in vitro* ni en la garrapata. Además, pese a que la diversidad en la secuencia genética de *vlsE* se mantiene durante el desarrollo de la garrapata, permitiendo que se transmitan distintas variantes de *vlsE* durante la infección, menos del 1% de las bacterias expresan la proteína mientras todavía se encuentran en la garrapata. Esto apoya la teoría de que la importancia funcional de *vlsE* es mínima fuera de un contexto de infección a mamíferos.

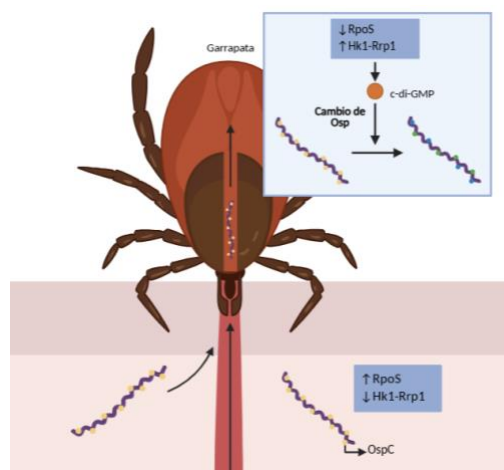
## **5. Interacción entre *B. burgdorferi* y la garrapata**

Cuando la garrapata (*Ixodes scapularis*) se alimenta de un hospedador infectado, esta va a adquirir a *B. burgdorferi* junto a la toma de sangre (Fig. 17). En el proceso, la garrapata inyecta saliva, que contiene un gran número de proteínas. Entre ellas, la proteína SALP25D, que ejerce un efecto anti-inflamatorio local en el sitio de la picadura; además, esta proteína neutraliza las especies reactivas de oxígeno que producen los neutrófilos que acuden. Pero, además, SALP25D, aumenta la eficiencia en la captación de la espiroqueta, posiblemente al tener un efecto protector sobre la bacteria. Por otro lado, la proteína salivar SALP12 tiene un efecto quimioatrayente para *B. burgdorferi*, lo que aumenta la cantidad de espiroquetas que son captadas por la garrapata.



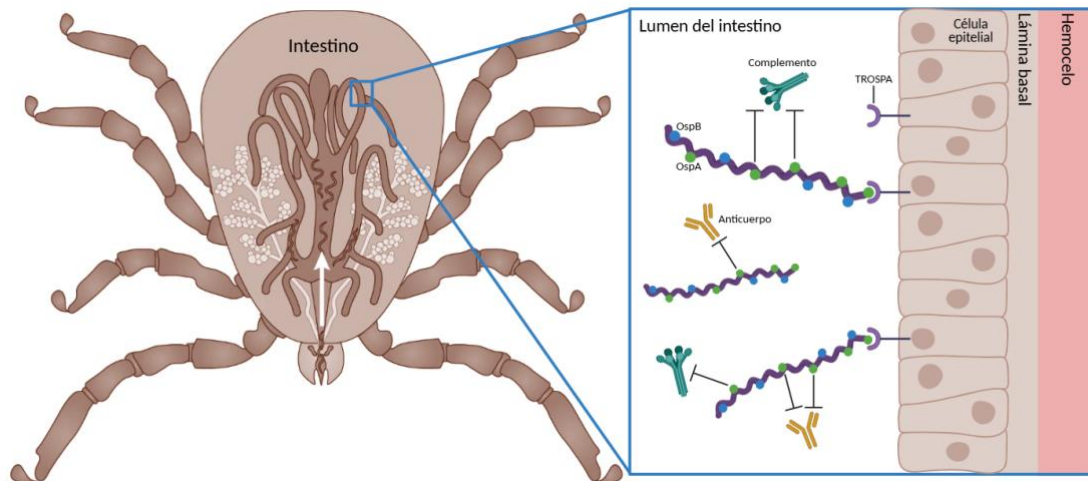
**Figura 17. Adquisición de *Borrelia burgdorferi* por la garrapata *Ixodes scapularis*.** Durante la hematofagia en un hospedador infectado, la garrapata ingiere a *B. burgdorferi*. Simultáneamente, la secreción de proteínas salivares actúa sobre el sitio de la picadura mediante la inhibición de la respuesta inmune, la coagulación y la angiogénesis. Estas moléculas crean un entorno favorable que facilitan tanto la alimentación de la garrapata como la atracción por quimiotaxis de la bacteria. Adaptado de Kurokawa et al. (2020) mediante BioRender.

Una vez que *B. burgdorferi* está en la garrapata, la activación de Hk1-Rrp1 y la represión de RpoS dan lugar a una producción del dinucleótido cíclico c-di-GMP, que actúa como señal para la expresión de las proteínas de superficie (Fig. 18).



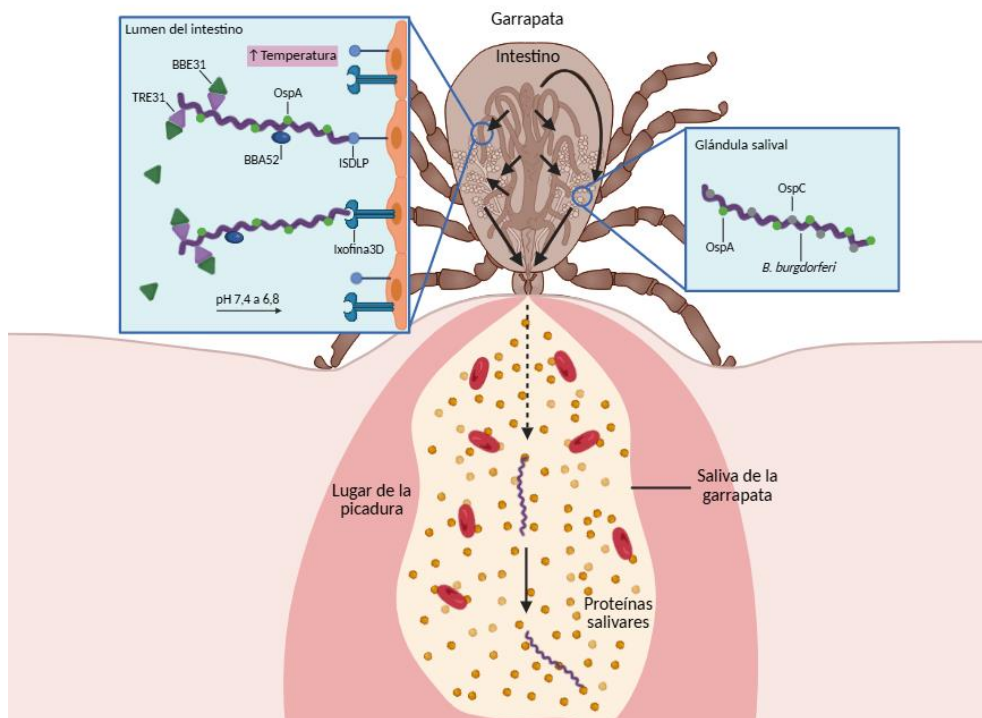
**Figura 18. Adaptación molecular de *B. burgdorferi* tras la entrada en el vector.** La entrada de *B. burgdorferi* en la garrapata induce la regulación positiva de Hk1-Rrp1 y la regulación negativa de RpoS, lo que resulta en la producción del segundo mensajero c-di-GMP. Este modula la expresión de proteínas en la superficie de la bacteria, produciendo un cambio en las proteínas Osp que permite la colonización y persistencia en el intestino de la garrapata. Adaptado de Kurokawa et al. (2020) mediante BioRender.

Las espiroquetas se adhieren al epitelio intestinal de la garrapata donde permanecerán hasta la siguiente ingesta de sangre por parte de la garrapata (Fig. 19). *B. burgdorferi* expresa las proteínas de superficie OspA y OspB, que la protegen de los efectos dañinos de componentes presentes en la sangre. OspA interacciona específicamente con el receptor TROSPA, localizado en la superficie de las células epiteliales intestinales.



**Figura 19. Adhesión de *B. burgdorferi* al intestino de la garrapata.** Las lipoproteínas de superficie OspA y OspB protegen a la espiroqueta frente a los anticuerpos y el sistema de complemento ingeridos en la sangre del hospedador. La interacción entre OspA y el receptor intestinal TROSPA facilita la colonización y el anclaje de *B. burgdorferi* al intestino de la garrapata. Adaptado de Kurokawa et al. (2020) mediante BioRender.

Para que *B. burgdorferi* pueda ser transmitida a un nuevo hospedador, la bacteria debe migrar a las glándulas salivares. En respuesta a cambios ambientales (por ejemplo, el aumento de temperatura producido por la ingesta de sangre) va a promover la expresión de nuevas proteínas de superficie, como son BBA52 y BBE31 (esta interacciona con la molécula TRE31 de la garrapata), que permiten a la bacteria atravesar la capa epitelial, y migrar a través del hemocelo hasta las glándulas salivares (Fig. 20). Otras proteínas importantes de la garrapata son Ixofin3D y ISDLP, que interaccionan con la espiroqueta y posiblemente contribuyen a su salida del intestino. Una vez fuera del intestino, las proteínas OspA y OspC son importantes para la entrada en las glándulas salivares.

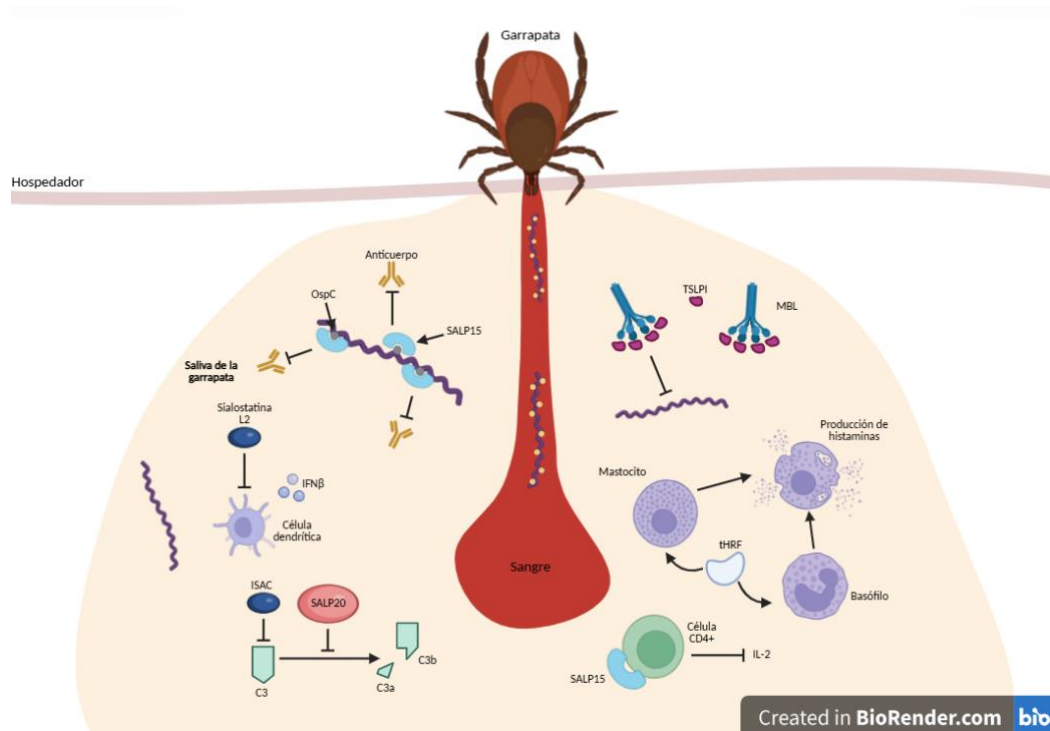


**Figura 20. Mecanismo molecular de transmisión de *B. burgdorferi* al hospedador vertebrado.** Los cambios en las condiciones de temperatura y pH durante la hematofagia actúan como señales para que las espiroquetas inicien su transición hacia formas infectivas. Este proceso implica el desprendimiento del epitelio intestinal, lo que permite que las bacterias migren a través del hemocelo hacia las glándulas salivales. Allí, la bacteria expresará OspA y OspC, que promueven la adhesión a las glándulas salivales y facilitarán la diseminación en el hospedador vertebrado. Adaptado de Kurokawa et al. (2020) mediante BioRender.

La transmisión de *B. burgdorferi* al hospedador mamífero es favorecida por la actividad de varias proteínas salivares de la garrapata (Fig. 21). Durante la picadura, la garrapata secreta varias proteínas destinadas a facilitar la ingesta de la sangre, y que también le ayudan a *B. burgdorferi* a su transmisión. El sistema del complemento, además de actuar como sistema de defensa inmunitario para restringir el crecimiento de *B. burgdorferi*, también dificulta la ingesta de la garrapata. Así, las proteínas salivares ISAC, SALP20 y TSLPI inhiben la activación del complemento, lo que redunda en una mayor supervivencia de *B. burgdorferi*. La sialoestatina L2 es un inmunosupresor que bloquea la secreción de citoquinas por parte de las células dendríticas expuestas a *B. burgdorferi*.

Por otro lado, la espiroqueta va a aumentar la expresión de varios genes de la garrapata, entre ellos, *salp15*, un gen que codifica para una proteína de la glándula salivar del 15-kDa. Esta proteína, que interacciona con la OspC, resulta beneficiosa tanto para el vector

como para la espiroqueta, dado que esta proteína tiene un efecto inmunosupresor importante e impide el desarrollo de respuestas inmunitarias específicas que pudieran interferir con el proceso de alimentación del vector al tiempo que impiden una destrucción mediada por anticuerpos de la bacteria (Fig. 21). La razón de este hecho se encuentra en que la proteína salp15, al unirse a OspC, enmascara los epítomos inmunodominantes de la proteína e impide que los anticuerpos reconozcan a la proteína y, en consecuencia, la interacción salp15-OspC protege a la espiroqueta de la muerte mediada por anticuerpos.



**Figura 21. Adaptación al hospedador durante la transmisión de *B. burgdorferi*.** Diversas proteínas salivales secretadas por la garrapata en el momento de la picadura inhiben la activación del sistema inmune, creando un entorno de inmunosupresión local que facilita la supervivencia inicial y diseminación de la espiroqueta en el vertebrado. Adaptado de Kurokawa et al. (2020) mediante BioRender.

Al hacer la garrapata una herida en la piel, inmediatamente se dispara el mecanismo de reparación de heridas con el que cuenta nuestro organismo, que consta de las etapas que solapan: inflamación, formación de tejido y reparación de tejido. En respuesta a la rotura de las venas, se liberan al espacio extracelular adenosina di- y tri-fosfato que estimulan la agregación de plaquetas para inhibir el flujo sanguíneo. La saliva de las garrapatas contiene un apirasa que degrada estos nucleótidos a adenosina monofosfato, inhibiendo la agregación de plaquetas. También otras proteínas salivares (SALP14, TIX, Ixolaris, y Penthalaris) ejercen un efecto anticoagulante.



En la piel residen varios tipos de células inmunitarias (macrófagos, basófilos, células de Langerhans y linfocitos T) que son muy importantes en la protección frente a patógenos invasores. Pero componentes de la saliva actúan sobre estas células, inhibiendo, por ejemplo, la producción de citoquinas por parte de los linfocitos Th1, que son muy importantes para activar una respuesta adaptativa. Así, por ejemplo, la proteína SALP15 se une a los linfocitos T CD4+, inhibiendo su activación y la secreción de IL-2 (Fig. 21).

Además, recientemente se ha identificado otra proteína, IsPDIA3 de la garrapata *Ixodes scapularis*, que facilita la colonización de *B. burgdorferi* en el intestino del vector, modulando la respuesta inflamatoria en el sitio de la picadura y favoreciendo la supervivencia de la espiroqueta.

El conocimiento de la interacción entre moléculas de la espiroqueta con moléculas de la garrapata, o el papel desempeñado por moléculas de las glándulas salivares inoculadas durante la picadura, está sirviendo de base para el desarrollo de vacunas. Así, la inmunización de ratones con OspA induce en estos una respuesta inmunitaria protectora frente a la infección; la razón es que la presencia de anticuerpos frente a OspA conduce a la destrucción de las espiroquetas presentes en el intestino de las garrapatas. Esto llevó al ensayo y aprobación en 1998 por la FDA (“Federal Drug Administration”) de USA de una vacuna para humanos basada en la administración de OspA en hidróxido de aluminio. El problema es que se requiere la inducción de altos títulos de anticuerpos, y para que esto ocurra, la vacuna debe ser administrada de nuevo cada cierto tiempo. Finalmente, la vacuna fue retirada de los mercados 4 años después de su aprobación. Sin embargo, varias vacunas basadas en esta proteína se siguen comercializando para su uso en perros.

## Bibliografía

- Barbour, A.G.** (1990) Antigenic variation in relapsing fever *Borrelia* species. En: Molecular Basis of Bacterial Pathogenesis (B.H. Iglewski y V.L. Clark, eds). pp. 155-176. Academic Press, Inc., California.
- Bernard, Q., Grillon, A., Lenormand, C., Ehret-Sabatier, L., and Boulanger, N.** (2020). Skin Interface, a Key Player for *Borrelia* Multiplication and Persistence in Lyme Borreliosis. *Trends Parasitol.* 36: 304–314.
- Cao, Y., Rosen, C., Arora, G., Gupta, A., Booth, C. J., Murfin, K. E., Cerny, J., Marin Lopez, A., Chuang, Y.-M., Tang, X., Pal, U., Ring, A., Narasimhan, S., & Fikrig, E.** (2020). An Ixodes scapularis Protein Disulfide Isomerase Contributes to *Borrelia burgdorferi* Colonization of the Vector. *Infection and Immunity*, 88(12), e00426-20.
- Castellanos, M., Verhey, T. B., Goldstein, M., & Chaconas, G.** (2022). The Putative Endonuclease Activity of MutL Is Required for the Segmental Gene Conversion Events That Drive Antigenic Variation of the Lyme Disease Spirochete. *Frontiers in Microbiology*, 13, 888494.
- Hovius, J.W.R., van Dam, A.P. and Fikrig, E.** (2007) Tick-host-pathogen interactions in Lyme borreliosis. *Trends Parasitol.* 23: 434-438.
- Kraiczy, P.** (2016). Hide and Seek: How Lyme Disease Spirochetes Overcome Complement Attack. *Front. Immunol.* 7: 385.
- Kurokawa, C., Lynn, G. E., Pedra, J. H. F., Pal, U., Narasimhan, S. and Fikrig, E.** (2020). Interactions between *Borrelia burgdorferi* and ticks. *Nature Reviews Microbiology* 18, 587–600.
- Lambris, J. D., Ricklin, D., & Geisbrecht, B. V.** (2008). Complement evasion by human pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, 6(2), 132-142.
- Lin YP, Diuk-Wasser MA, Stevenson B, Kraiczy P.** (2020). Complement Evasion Contributes to Lyme Borreliac-Host Associations. *Trends Parasitol.* 36(7):634-645.
- Lin, T., Gao, L., Edmondson, D. G., Jacobs, M. B., Philipp, M. T., & Norris, S. J.** (2009). Central Role of the Holliday Junction Helicase RuvAB in *vlsE* Recombination and Infectivity of *Borrelia burgdorferi*. *PLoS Pathogens*, 5(12), e1000679.
- Nagarajan, A., Skufca, J., Vyse, A., Pilz, A., Begier, E., Riera-Montes, M., Gessner, B. D. and Stark, J. H.** (2023). The Landscape of Lyme Borreliosis Surveillance in Europe. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 23, 142–155.
- Nordstrand, A., Barbour, A.G. and Bergstrom, S.** (2000). *Borrelia* pathogenesis research in the post-genomic and post-vaccine era. *Curr. Opin. Microbiol.* 3: 86-92.
- Norris, S.J.** (2006). Antigenic variation with a twist--the *Borrelia* story. *Mol. Microbiol.* 60: 1319-1322.
- Norris, S. J.** (2014). *vls* Antigenic Variation Systems of Lyme Disease *Borrelia*: Eluding Host Immunity through both Random, Segmental Gene Conversion and Framework Heterogeneity. *Microbiology Spectrum*, 2(6), 2.6.27.
- Ohnishi, J., Schneider, B., Messer, W. B., Piesman, J., & De Silva, A. M.** (2003). Genetic Variation at the *vlsE* Locus of *Borrelia burgdorferi* within Ticks and Mice over the Course of a Single Transmission Cycle. *Journal of Bacteriology*, 185(15), 4432-4441.

- Oiseth, S., Jones, L., & Maza Guia, E.** (2025, 27 marzo). *Borrelia*. <https://lecturio.com>.
- Radolf, J. D., Caimano, M. J., Stevenson, B. and Hu, L. T.** (2012). Of ticks, mice and men: understanding the dual-host lifestyle of Lyme disease spirochaetes. *Nat Rev Microbiol* 10: 87-99.
- Skare, J. T. and Garcia, B. L.** (2020). Complement Evasion by Lyme Disease Spirochetes. *Trends in microbiology* 28, 889–899.
- Steere, A. C.** (1989). Lyme Disease. *New England Journal of Medicine* 321(9): 586-596.
- Steere, A. C., & Glickstein, L.** (2004). Elucidation of Lyme Arthritis. *Nature Reviews Immunology* 4, 143-152.
- Strnad, M., Vancová, M. and Rego, R. O. M.** (2024). *Borrelia* (*Borrelia*) burgdorferi. *Trends Microbiol* 32, 1253–1254.
- Zhang, J.-R., Hardham, J. M., Barbour, A. G., & Norris, S. J.** (1997). Antigenic Variation in Lyme Disease *Borrelia* by Promiscuous Recombination of VMP-like Sequence Cassettes. *Cell*, 89(2), 275-285.
- Zhang, Y., Chen, T., Raghunandanan, S., Xiang, X., Yang, J., Liu, Q., Edmondson, D. G., Norris, S. J., Yang, X. F., & Lou, Y.** (2020). YebC regulates variable surface antigen VlsE expression and is required for host immune evasion in *Borrelia burgdorferi*. *PLOS Pathogens*, 16(10), e1008953.

En la red:

- Página web de enfermos por la enfermedad de Lyme en España: <https://alcelyme.org/>
- Vídeo sobre la enfermedad, contada por los pacientes: [https://www.youtube.com/watch?v=Kw4\\_0vL3RLg](https://www.youtube.com/watch?v=Kw4_0vL3RLg)