



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD, HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MEDICO NACIONAL “LA RAZA”,
UNIDAD DE INVESTIGACION MÉDICA DE ENFERMEDADES
INFECCIOSAS Y PARASITARIAS, UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD,
HOSPITAL DE PEDIATRÍA, CENTRO MÉDICO NACIONAL SXXI

**ESTUDIO PILOTO PARA DETERMINAR LA INFECCIÓN POR
BORRELIA BURGENDORFERI EN PACIENTES CON
MANIFESTACIONES CUTANEAS COMPATIBLES CON
ENFERMEDAD DE LYME EN DOS HOSPITALES DEL IMSS DEL
DISTRITO FEDERAL**

TESIS DE POSGRADO PARA OBTENER
EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN DERMATOLOGIA

PRESENTA:

DRA. MARICELA CAMPOS NAVARRO

ASESOR: DRA. MARIA GUADALUPE GORDILLO PEREZ.

INVESTIGADOR MEDICO ADSCRITO A LA UNIDAD DE INVESTIGACION
MÉDICA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y PARASITARIAS, CMN SIGLO

XXI



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 esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

MÉXICO. AGOSTO DEL 2007

ASESOR:

DRA. MARIA GUADALUPE GORDILLO PEREZ.

INVESTIGADOR MEDICO ADSCRITO A LA UNIDAD DE INVESTIGACION
MÉDICA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y PARASITARIAS, CMN SIGLO
XXI

COTUTORES:

DRA. MARIA MAGDALENA LOPEZ IBARRA

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGIA
CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA

DR. EDMUNDO VELAZQUEZ GONZALEZ

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGIA PEDIATRICA
HOSPITAL DE PEDIATRIA
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

INDICE

I.	Resumen	4
II.	Summary	5
III.	Introducción	6
IV.	Justificación.....	14
V.	Objetivos	15
VI.	Material y métodos	16
VII.	Resultados	19
VIII.	Discusión.....	25
IX.	Conclusiones	29
X.	Bibliografía	30
XI.	Anexo I. Encuesta epidemiológica nacional para Enfermedad de Lyme.....	35
XII.	Anexo II. Consentimiento informado	38
XIII.	Anexo III. Algoritmo de descripción general del estudio.....	40
XIV.	Anexo IV. Bandas de proteínas en <i>Western-Blot</i> IgG para <i>Borrelia burgdorferi</i> según su peso molecular de pacientes con borreliosis de Lyme	41
XV.	Anexo 5 Ia. Iconográfica de Eritema migratorio	42
XVI.	Anexo 5 Ib. Iconográfica de Linfocitoma cutáneo	43
XVII.	Anexo 5 II. 1 Iconográfica de Acrodermatitis crónica atrófica.....	44
XVIII.	Anexo 5 II, 2a Iconográfica de Morfea	45
XIX.	Anexo 5 II, 2b Iconográfica de Síndrome de Parry Romberg	46

RESUMEN

Título: “Estudio piloto para determinar la infección por *borrelia burgdorferi* en pacientes con manifestaciones cutaneas compatibles con enfermedad de lyme en dos hospitales del IMSS del distrito federal”.

Objetivo: Determinar la infección por *B.burgdorferi* en pacientes con manifestaciones cutáneas compatibles con Borreliosis de Lyme, en dos hospitales del IMSS del D.F.

Material y Métodos: Estudio piloto realizado de marzo del 2006 a julio del 2007. Se incluyeron 30 pacientes de ambos sexos y cualquier edad, derechohabiente del IMSS, que presentaron manifestaciones cutáneas compatibles con enfermedad de Lyme de acuerdo a los criterios del CDC y que aceptaran firmar la carta de consentimiento informado. Se aplicó la encuesta epidemiológica sobre Enfermedad de Lyme. Se tomó una muestra de sangre venosa periférica para analisis de *Western-blot* para anticuerpos IgG contra *Borrelia burgdorferi*. Se tomó una biopsia de piel, para estudio histopatológico, cultivo y PCR. Se aplicó estadística descriptiva mediante medidas de tendencia central y dispersión, y estadística analítica con chi cuadrada y t de student.

Resultados: De los 30 pacientes incluidos 64.3% presentó correlación en el diagnóstico dermatológico e histopatológico. Catorce (46.66%) pacientes tuvieron infección a *Borrelia burgdorferii*, confirmado con *Western blot*. Los seropositivos tuvieron una edad promedio de 24 ± 17 años, con una proporción (M:F) 1:6. El 21.42 % refirió recordar la mordedura de una garrapata.

Conclusiones: La infección por *Borrelia burgdorferii* se presentó en la mitad de los casos de esta muestra de pacientes mexicanos, por lo que se debe considerar como diagnóstico diferencial y prevenir el desarrollo de afección sistémica irreversible.

Palabras clave: Enfermedad de Lyme, manifestaciones cutáneas.

SUMMARY

Title: A pilot study made to determine the infection by *borrelia burgdorferi* in patients with cutaneous manifestations compatible with Lyme's disease in two different hospitals in the Distrito Federal at the IMSS.

Objective: To determine the infection by *B.burgdorferi* in patients with skin manifestations compatible with Lyme borreliosis .

Patients and methods: A pilot study made from March 2006 to July 2007. It was studied a sample of 30 patients of any age, men and women at two different IMSS hospitals in the DF. who coursed with skin compatible manifestations with Lyme's disease according to CDC criteria, who accepted the study with a signed authorization. All the patients were questioned epidemiologically about Lyme disease. It was taken a venous blood sample for Western Blot Analysis for IgG antibodies against *Borrelia burgdorferii*. and skin biopsy for hystopatollogical study, culture and RCP. The analysis were made with descriptive statistical with measure of central tendency and dispersion, analytical statistical with *chi squared* and *Student's T*

Results: 64.3% of the 30 patients included had relationship with the diagnosis dermatologically and hystopathologically. Fourteen (46.66%) patients had *Borrelia burgdorferii* infection confirmed by western Blot. The seropositive had an average age of 24 ± 17 years, with a proportion (M: F) 1: 6 . The 21.42% had a tick bitten

Conclusions: The infection of *Borrelia burgdorferii* was present in half of the cases of this sample of Mexican patients. It must be consider as a differential diagnosis and prevent the outcoming of the irreversible systemic affection.

Key world: Lyme's disease, cutaneous manifestations.

INTRODUCCION

La borreliosis de Lyme ó Enfermedad de Lyme, es una infección causada por una bacteria con forma de espiroqueta perteneciente al género *Borrelia*, familia Espiroquetacea y del orden Espiroquetales. La variedad más frecuente en los Estados Unidos de América es *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, mientras que en Europa y Asia son *Borrelia afzelii* y *Borrelia garini*. El vector transmisor para el humano es una garrapata del género *Ixodes*, a través de una mordedura. ^[1-3]

La enfermedad de Lyme fue reconocida como entidad independiente en 1976, pero no fue hasta 1981 que Burgdorfer y colaboradores descubrieron la presencia de una bacteria en forma de espiroqueta llamada *Borrelia burgdorferi*, en una ninfa de *Ixodes scapularis*, fecha a partir de la cual se reconoce como agente etiológico. En 1983 las espiroquetas fueron observadas con tinción de plata (Warthin-Starry) en biopsias de piel de eritema crónico migratorio ^[4]. La transmisibilidad de la bacteria a los humanos se lleva a cabo de forma accidental al ser picado por dicha garrapata, pues el ciclo biológico ocurre en mamíferos silvestres. Las garrapatas del género *Ixodes* en Norteamérica son *I. pacificus* e *I. scapularis* y en Europa-Asia (*I. ricinus* e *I. persulcatus*) ^[5]. Estas garrapatas son hematófagas y se alimentan de mamíferos (venados, caballos, ganado bovino, mapaches, zorros, ratón patas blancas, etc.), así como 8 géneros de aves. El venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) alimenta el estadio adulto de la garrapata, pero es incapaz de transmitir *B. burgdorferi* a las garrapatas. ^[5-7]

La borreliosis de Lyme de acuerdo al Centro de control de enfermedades (CDC), en Estados Unidos de América (E.U.A.) es la infección transmitida por vector (garrapatas) más común en Norteamérica. Es una enfermedad endémica en la mayoría de los países europeos y algunos países asiáticos. ^[8,9] La prevalencia con ELISA en EUA es de 1 al 10%

y en Europa del 8 al 27%.^[10,11] En Sudamérica algunos casos clínicos sospechosos han sido reportados.^[12]

En México, el vector *Ixodes* ha sido reportado en diferentes estados de la República Mexicana como son: Baja California, la Península de Yucatán, el Golfo de México y la zona noreste de la República^[13]. En 1990 casos sugestivos de borreliosis de Lyme fueron reportados en Sinaloa y Nuevo León, sin que se haya logrado la confirmación etiológica.^[14]

En 1999, en un estudio de seroprevalencia epidemiológica nacional, se encontró positividad por ELISA en 1.1% de las muestras y se confirmó ésta en 0.3% de las mismas mediante inmunotransferencia. Los sujetos seropositivos fueron ubicados en la zona noreste y centro de la República Mexicana.^[15] El mismo año reportamos los primeros casos neurológicos de la enfermedad en el Valle de México^[16]. En el 2001 Molina y García y cols. dos estudios en pacientes adultos con polirradiculoneuropatía y el otro en pacientes con parálisis facial de hospitales de alta especialidad mostraron una prevalencia de infección por *B. burgdorferi* del 6 y 12% respectivamente superior a la encontrada asociada con los virus Herpes simple tipo I ú II^[16,17].

En el 2003 Gordillo y cols, reportan una seroprevalencia con Western- blot de 3.43% y 6.2% en el Distrito Federal y la zona noroeste de México respectivamente^[17]. En el 2005 el mismo grupo reportó que el vector *Ixodes* y *Amblyomma* representa el 54.5% de todas las garrapatas colectadas en 5 estados de la República Mexicana (Nuevo León, Tamaulipas, Durango, Jalisco y Chiapas) y una prevalencia del 5.7% de infección por *Borrelia burgdorferi* sensu stricto en la zona Noreste del país^[18] y a principios del 2007 dos estudios son reportados, uno en pacientes sobre la genotipificación de *Borrelia burgdorferi* de casos con Enfermedad de Lyme adquirida en México y el otro en garrapata infectadas de 5 Estados de la República Mexicana.^[19,20]

Las manifestaciones cutáneas de la Borreliosis de Lyme de acuerdo a los criterios de la CDC, por su historia natural se dividen en dos fases: Borreliosis de Lyme temprana, presente dentro de las primeras 8 semanas después de la mordedura de la garrapata; la cual se subdivide en dos estadios: infección localizada (eritema migratorio y linfocitoma) e infección diseminada (lesiones cutáneas tipo eritema migratorio múltiple, asociadas a neuroborreliosis, artritis, carditis o afección a otros órganos). La Borreliosis de Lyme tardía, aparece 6 meses después de la picadura o incluso años, y se caracteriza por una infección crónica, manifestada por acrodermatitis crónica atrófica (ACA), con posible asociación a manifestaciones de artritis, encefalitis o encefalomiелitis. ^[1,2,6,8,19,21,22]

De acuerdo a la 4ta Conferencia Internacional de Borreliosis de Lyme y según los criterios del CDC, las manifestaciones cutáneas típicas y atípicas se describen como:

Eritema migratorio (EM) es la principal manifestación cutánea de la enfermedad de Lyme, puede aparecer a los pocos días después de la mordedura o incluso 3 meses después. Su incidencia máxima es en los meses de verano y otoño. Se presenta de forma típica como placa única circular, mide desde un centímetro hasta varios decímetros; el eritema inicial es homogéneo pero tiende a desvanecerse de forma centrífuga de manera que culmina en eritema anular, ó bien de forma atípica puede presentar placas múltiples, y conservar un eritema homogéneo. La duración de un eritema migratorio no tratado puede variar de algunos días a cerca de un año, pero por lo general desaparece dentro de 3 a 6 semanas o meses. ^[6,8,21] Tiene predominio por miembros inferiores y en niños el compromiso es facial.

^[22] Un 50% de los pacientes con eritema migratorio presentan manifestaciones generales como mialgias, artralgias, fiebre leve, cefalea y trastornos gastrointestinales. La histología muestra un infiltrado mixto superficial y profundo y las espiroquetas pueden observarse con tinciones especiales como la tinción de Warthin-Starry. ^[4]

El linfocitoma es una manifestación cutánea rara de la etapa temprana de borreliosis de Lyme.^[1] Ésta comienza en las primeras 4 semanas a 6 meses después de la picadura de la garrapata. Puede estar precedido o ser concomitante de eritema migratorio en 25% de los casos, y de forma más rara de ACA o lesiones de esclerosis cutánea. El linfocitoma se presenta predominantemente en lóbulo de la oreja, región del pezón y de la aréola mamaria, constituido por un nódulo solitario, de color rojo azulado, de 0.5 a 2.5 cm de diámetro, generalmente asintomático y a menudo acompañado de linfadenopatía regional. La histología revela un denso infiltrado de linfocitos y un centro germinal en dermis y/o tejido subcutáneo, con tinción de HE,^[1,6,23] y de acuerdo al tipo de linfocitos B ó T, se pueden clasificar como pseudolinfomas cutáneos, en los cuales se encuentran los linfocitomas benigno cutis, reacción nodular por picadura de insectos y el linfocitoma cutis borrelial.^[24,25]

Eritema migratorio múltiple ó Eritema migratorio secundario, representa la diseminación hematogéna de las espiroquetas, cuyas lesiones pueden seguir del eritema migratorio inicial o, aparecer de forma simultánea. Suelen ser placas más pequeñas que el eritema migratorio, anulares u homogéneas y no suelen migrar, van en número de 2 a 36 placas. Su prevalencia es del 17 al 55 % en pacientes con enfermedad de Lyme. De forma característica estos pacientes presentan mayor sintomatología constitucional que el EM primario.^[5,6]

La acrodermatitis crónica atrófica (ACA), es una manifestación cutánea tardía de enfermedad de Lyme con una fase inflamatoria inicial y atrófica posterior. Frecuente en Europa, pero rara en E.U. A^[26]. Solo el 20% tiene antecedente de eritema migratorio no tratado. Aparece 6 meses a 10 años después de la picadura. Predomina en el sexo femenino con un 70%, y en la edad media de la vida. La localización principal son las extremidades inferiores, donde debutan con cambio de coloración rojo azulado en placa, que evoluciona a

espesamiento fibroso en forma de bandas o nódulos indurados, con predilección cubital, que van de 0.5 a 2 ó 3 cm. Puede asociarse a tumefacción edematosa y aumento de tamaño en pies y talones. Las lesiones inflamatorias de ACA pueden persistir durante años o décadas, con una conversión gradual en lesiones cutáneas atróficas, llamadas *seudoescleroderma* que bien puede ser difusa o macular, incluso presentar alteraciones de la sensibilidad. ^[1,5,6]

Otras entidades asociadas:

La esclerodermia, es una entidad clínica asociada a agentes infecciosos, factores hereditarios, químicos, traumáticos y autoinmunidad sin tener evidencias claras de su etiología. Los agentes infecciosos asociados son sarampión, varicela y *Borrelia burgdorferi*. ^[27] Desde 1985 Aberer *et al* reportaron evidencias histopatológicas de similitud entre biopsias de pacientes con acrodermatitis crónica y atrófica y algunas formas de morfea y la detección de anticuerpos para *B. burgdorferi* de 5 de 10 pacientes con morfea. ^[26]

La esclerodermia tiene una incidencia de 2.7 por cada 100,000 habitantes y tiene predilección por el sexo femenino 2-3:1. El pico de mayor presentación es entre 20 y 40 años, los niños suelen ser afectados sólo un 15%. ^[27]

La clasificación general actualmente aceptada la divide en esclerodermia sistémica (cuando involucra órganos internos) y localizada ó morfea (cuando solo afecta piel) y sus variantes son morfea en placas, generalizada, bulosa, lineal y profunda; según Peterson et al. El 5% de las morfeas evolucionan a esclerodermia sistémica. ^[27]

Existe una gran controversia, sobre la asociación de morfea y sus variedades con la Borreliosis de Lyme, por lo que se han realizado múltiples estudios en busca de un consenso.

Uno de ellos fué un metaanálisis de 10 años reportado en el 2002.^[28] En dicho estudio se muestra una asociación con *B. burgdorferi* variable desde 0 a 40% por histología e inmunohistoquímica de los casos de morfea y en un 46-50% en líquen escleroso y atrófico (LEA) . La espiroqueta pudo cultivarse en 5 de 68 biopsias de pacientes con morfea y en ninguna biopsia de líquen escleroso y atrófico. La serología (anticuerpos contra *B. burgdorferi* con ELISA) fue positiva en 0-60% (137 de 588) de pacientes con morfea en Europa y Asia y en E.U.A de 19% (6 de 32). En Europa y Asia, el 0-25% de los casos positivos con el LEA . En la misma región geográfica el 2-11% de la población son asintomáticos y presentan anticuerpos contra *B. burgdorferi*. Por PCR se detectó DNA de *B. burgdorferi* en 0-100% (17 de 82) de pacientes con morfea en Europa y Asia, pero en E.U.A. ninguno de 98 pacientes fue positivo. En líquen escleroso y atrófico el 30% (9 de 28) de pacientes fueron positivos en Europa y Asia, y ninguno de 48 pacientes en E.U.A.^[28]

Esta disparidad de resultados puede tener relación a las subespecies de *B. burgdorferi*, ya que la variedad acrodermatitis crónica atrófica se relaciona con *Borrelia afzelii*. Dicha subespecie es frecuente en la unión Europea, pero muy rara en E.U.A, por lo que se puede concluir como una diferencia regional.^[28]

En 1993 Buechner en Suecia reporta 23 pacientes con diagnóstico clínico e histopatológico de Atrofoderma de Pasini y Pierini (APP), el 38% presentaron anticuerpos contra *B. burgdorferi* y 80% tratados con antibioticoterapia oral, tuvieron una mejoría clínica y no evidenciaron nuevas lesiones activas.^[29]

En el 2000 en Turquía, reportan 12 pacientes con liquen escleroso y atrófico y 10 pacientes con morfea. La PCR para *B. burgdorferi* fue positiva en 6 y 3 casos respectivamente.^[30]

Sin embargo el mismo año en Alemania en 33 pacientes con Morfea la serología y la PCR con genes ospA y rRNA fueron negativas.^[31]

Desde 1987 hasta el 2000 los estudios han mostrados resultados controversiales con la serología, la Inmunofluorescencia e histología de esclerodermia asociada a *B. burgdorferi*. Recientemente con el empleo de la técnica de PCR la incidencia reportada es de 26% a 100%, sin embargo otros estudios reportan 0%. Dos posibles hipótesis se proponen, una es la coexistencia de lesiones de morfea propiamente dichas y la asociación a *B. burgdorferi*, por ser un área endémica en Austria, donde sus reportes muestran una alta incidencia de *B. burgdorferi* por biopsia y cultivo. La otra explicación es la subespecies de *Borrelia* asociada, ya que *B. afzelii* y *garini* en menor grado, son cultivadas con mayor frecuencia en ACA, son subespecies europeas, no reportadas en E.U.A, por lo que su asociación en lesiones de morfea es rara en Norteamérica.^[32]

El diagnóstico de la Borreliosis de Lyme, en nuestro medio es un reto tanto por la pobre difusión y conocimiento de sus lesiones cutáneas, así como por el poco acceso a los estudios de biología molecular (PCR) y el bajo aislamiento de sus cultivos. Con el cultivo en medio de Barbour Stoener-Kelly (BSK) para espiroqueta (*B.burgdorferi sensu lato*), de biopsia de piel con EM, se ha informado una sensibilidad del 50% en lesiones primarias, y de hasta 85% en lesiones de EM secundarias. En sangre o plasma se ha encontrado un 48% de sensibilidad, pero muy baja en lesiones crónicas.^[2,33]

El estudio histopatológico de la piel es un auxiliar diagnóstico, en muestras de lesiones de EM, ya que se observan datos inespecíficos como: infiltrado inflamatorio perivascular superficial y profundo, con predominio de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas. Así

como depósitos de mucina y edema de la dermis. Por lo que en busca de un mayor apoyo se realizan tinciones de plata (Warthin-Starry, Dieterle modificado, ó Steiner modificado) ó inmunoperoxidasa, para bacterias espirales.

De acuerdo al CDC y la EUCALB, el diagnóstico serológico de la infección se lleva a cabo mediante la medición de anticuerpos IgG (ELISA), los cuales se elevan a partir de la cuarta semana posterior a la mordedura de la garrapata. Si existe la sospecha clínica y resultan negativos, se debe repetir la determinación 4-6 semanas después. En aquellos casos en que en se encuentren anticuerpos vs *B. burgdorferi*, se debe llevar a a cabo la confirmación serológica mediante Western-Blot, que incrementa la especificidad más de 95%. [34-36]

Esto debido a resultados falsos positivos por una reacción cruzada con otros microorganismos espiroquetales como: Leptospirosis, sífilis, fiebre de las Montañas Rocallosas, etc. [37] Con el advenimiento de la biología molecular, el diagnóstico de la Borreliosis de Lyme ha mejorado al detectar ADN de *B. burgdorferi* (PCR). En biopsias de piel se obtiene una sensibilidad del 75% y una especificidad hasta del 97% en pacientes con EM, y en pacientes con manifestaciones tardías, como acrodermatitis crónica atrófica (ACA), una sensibilidad del 57% y especificidad del 100%. [38,39]

La terapia de elección son los antibióticos: Doxiciclina, amoxicilina y cefuroxima, el tipo de antibiótico, la dosis y el tiempo de tratamiento se indicará de acuerdo a la edad del paciente y manifestación clínica. En estadíos temprano diseminado y tardíos el tratamiento puede extenderse hasta 4 a 6 semanas. Y en los pacientes que presentan la forma diseminada el tratamiento debe ser intravenoso con Ceftriaxona o Penicilina G. [40,41]

JUSTIFICACIÓN

La Enfermedad de Lyme es considerada una enfermedad emergente en nuestro medio, debido al reciente incremento de casos detectados en nuestro país.

Las manifestaciones cutáneas son los signos más frecuentes y aparecen en la etapa temprana de la enfermedad y son accesibles al clínico para el diagnóstico temprano, evitando la progresión de la enfermedad a etapa diseminada ó crónica.

En el Centro Médico Nacional Siglo XXI, existe un grupo de investigadores interesados en la búsqueda a través de serología y PCR de *Borrelia burgdorferi*, agente causal de esta enfermedad. Los cuales desde hace más de 10 años han realizado estudios para determinar la incidencia enfermedad de Lyme en nuestro país.

El creciente reporte de casos de Enfermedad de Lyme en México por contacto con animales portadores de *Ixodes* sp., ya sean comerciales (ganado), migratorios (aves) o de caza, así como el grado y complejidad del compromiso neurológico y multisistémico, nos obliga a descartar esta etiología e investigar que porcentaje ocupa en nuestro medio como agente causal. En este estudio queremos demostrar que las manifestaciones cutáneas son una vía accesible para la detección de esta entidad, y que ante la presencia de lesiones típicas como es el eritema migratorio, el linfocitoma en fase temprana o las lesiones esclerodermiformes en fase tardía, debemos hacer búsqueda intencionada de la bacteria para evitar secuelas.

OBJETIVOS

Objetivo general

1. Determinar la infección por *B.burgdorferi* en pacientes con manifestaciones cutáneas compatibles con Borreliosis de Lyme, en dos hospitales del IMSS del D.F.

Objetivo específico

1. Determinar la frecuencia infección por *B. burgdorferi* en (Eritema migratorio, linfocitoma, acrodermatitis crónica atrófica (ACA), y lesiones esclerodermiformes.
2. Caracterización epidemiológica y clínica de pacientes con manifestaciones cutáneas infectados por *B.burgdorferi*.

MATERIAL Y METODOS

Estudio piloto: de marzo del 2006 a julio del 2007, se tomó una muestra piloto de pacientes derechohabientes del IMSS en dos hospitales del D.F, que presentaron manifestaciones cutáneas compatibles con enfermedad de Lyme de acuerdo a los criterios del CDC. ^[8] La selección de pacientes se realizó en la consulta externa del Hospital de especialidades Centro Médico Nacional la Raza y la consulta externa de Dermatología pediátrica del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Se incluyeron 30 pacientes hombres y mujeres de todas las edades, con diagnóstico de eritema migratorio, linfocitoma, acrodermatitis crónica atrófica o lesiones esclerodermiformes en los cuales no se tuviera algún diagnóstico de certeza y que aceptaron participar en el estudio con carta de consentimiento informado. Se excluyeron a los pacientes que presentaron factor reumatoide, VDRL o anticuerpos antinucleares positivos, o se comprobara otra enfermedad. A todos los pacientes se les aplicó la encuesta epidemiológica diseñada *ex profeso* para búsqueda de factores de riesgo, como antecedentes de mordedura de garrapata, y manifestaciones cutáneas, articulares, neurológicas y cardíacas sugestivas de la enfermedad de Lyme. (Ver ANEXO I)

Desde el punto de vista ético, se siguieron las normas de la Declaración de Helsinki, Finlandia de 1964 y revisada en forma posterior por la Asamblea Médica Mundial de Tokio, Japón en 1975; enmendada en 1983 (con especial atención a la Sección 1, 9-11 libre consentimiento) en Venecia, Italia en 1983; Hong Kong en 1989 y en la XLVIII Asamblea de Summerset West, Sudáfrica en 1996, así como a las Normas de Buena Práctica Clínica (*EC Good Clinical Practices*). De igual forma se apega al reglamento de la Ley General de Salud y a los reglamentos de Instituto Mexicano del Seguro Social en materia de

Investigación en Salud. Todos los pacientes dieron el consentimiento informado por escrito para su participación en el protocolo de investigación. (ANEXO 2).

Los pacientes fueron evaluados clínicamente por dos médicos especialistas en Dermatología, que atienden pacientes adultos en UMAE CMNR y dos Dermatólogos Pediatras en UMAE Siglo XXI pediatría.

Serología. Se les tomó una muestra de sangre venosa periférica (5ml), y se obtuvo suero para análisis por *Western-blot* para determinar anticuerpos IgG contra *Borrelia burgdorferi*, se usó una técnica de *Western blot* comercial MARBLOT STRIP TEST SYSTEM, para detectar antígenos IgG de *B. burgdorferi*, Biotech (Carlsbad, California, U.S.A). Dichos antígenos son separados en presencia de dodecil sulfato de sodio y transferidas a una membrana de nitrocelulosa mediante electrotransferencia. Si los anticuerpos específicos contra proteínas individuales de *Borrelia burgdorferi* están presentes, se fijan a su banda antigénica correspondiente. Se considera que los sueros de pacientes tienen anticuerpos IgG dirigidos contra *Borrelia sp.* si al menos presentan 5 bandas de reacción antígeno-anticuerpo con cualquiera de las proteínas de los siguientes pesos moleculares 18, 23, 28, 30, 39, 41, 45, 58, 66 y 93kDa, según los criterios de diagnóstico serológico del CDC.

Se tomó una biopsia de piel en sacabocado no.4 de una de las lesiones más representativas de cada paciente, tomando parte del borde y centro la lesión. Las muestras fueron fragmentadas en 3 partes una para histología, otra para cultivo y la última para PCR. Las muestras que fueron tomadas fuera del centro de procesamiento, eran conservadas en formol para histopatología, medio BSK-H para cultivo y en nitrógeno líquido para PCR.

Histología. Todas las muestras fueron procesadas con tinción convencional de hematoxilina y eosina, así como tinción de *Warthin-starry* en búsqueda de espiroquetas. En casos de sospecha de linfocitoma cutáneo se utilizó la inmunohistoquímica con los anticuerpos

monoclonales anti CD3+ y CD20. Todas las muestras fueron revisadas por dos patólogos clínicos cegados al diagnóstico, en el departamento de patología de la UMAE Pediatría CMNSXXI.

Cultivo. El cultivo fue realizado en el medio de *Barbour Stoener-Kelly* (BSK-H) especial para espiroqueta.

Exámen molecular. La extracción de DNA se realizó con el kit QIAGEN, para extracción en muestras de tejido. Se amplificó por PCR un fragmento del gen *flagelar* de *B. burgdorferi*.

El procesamiento de las muestras se realizó en la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades infecciosas y Parasitarias (UIMEIP) de la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAЕ) Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Los pacientes considerados como caso, además de los criterios de la CDC fueron aquellos con serología positiva para *B.burgdorferi* confirmada por *Western-blot*. Se les ofreció tratamiento con Doxiciclina por 21 días y se citaron 1 mes después de finalizado el tratamiento para evaluar remisión de la enfermedad, con una nueva toma de suero para *Western-blot*. (ANEXO 3)

El análisis de los resultados se realizó con estadística descriptiva mediante medidas de tendencia central y dispersión, y estadística analítica con chi cuadrada y t de student.

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 30 pacientes que cumplieron los criterios del CDC de manifestaciones cutáneas compatibles con enfermedad de Lyme. La edad promedio fue de 23 ± 15 años, con una proporción del sexo masculino vs femenino (M:F) 1:5. La zona geográfica de donde provenían los pacientes estudiados fue el 80% del centro del país (México D.F, Hidalgo, Edo. de México y Puebla), el 13% del sur del país (Oaxaca, Veracruz y Tabasco) y un 7% de Zacatecas. Los principales lugares de exposición de los pacientes seropositivos fueron: México D.F (30%), Hidalgo (26.66%) y Estado de México (16.66%). Clasificado como zona geográfica el 80% de los pacientes estudiados provenían del centro del país (México D.F, Hidalgo, Edo. de México y Puebla), el 13% del sur del país (Oaxaca, Veracruz y Tabasco) y un 7% de Zacatecas. El 26.6 % de los pacientes recordaban haber sido mordidos por una garrapata. Los principales hospederos relacionados fueron: el perro (46.6%), vaca (23.3%), pájaros (6%) y gatos (10%). Las 3 principales ocupaciones en nuestra población fueron trabajos de estudiante (60%), amas de casa (23.3%) y obreros (6.66%). En cuanto al tipo de lesión: 2 pacientes presentaron el tipo agudo de la enfermedad y 28 pacientes la tardía. De la fase temprana un paciente presentó Eritema migratorio (ANEXO 5, Ia) y otro más linfocitoma (ANEXO 5, Ib). La fase tardía se manifestó como lesiones esclerodermiformes: 1 liquen escleroso y atrófico, 1 atrofoderma de pasini y pierini, 3 Síndrome de Parry Romberg (ANEXO 5, 2, b), y 23 morfea localizada (ANEXO 5, II, 1,2a). (Cuadro 1)

Cuadro I: Características demográficas y clínicas de pacientes con criterios de Enfermedad de Lyme

Características generales	Pacientes n=30
Edad media	Promedio 23.65 ±15
Mujeres	25 (83.34%)
Hombres	5 (16.66%)
Lugar de exposición	
Mexico D.F	9 (30%)
Hidalgo	8 (26.66%)
Estado de México	5 (16.66%)
Zacatecas	2 (6.66%)
Veracruz	2 (6.66%)
Puebla	2 (6.66%)
Tabasco	1 (3.33%)
Oaxaca	1 (3.33%)
Antecedente de mordedura de garrapata	8 (26.66%)
Hospederos	
Perro	14 (46.6%)
Vaca (borregos)	7 (23.3%)
Pájaros	6 (20%)
Gato	3 (10%)
Ocupación	
-Estudiante	18 (60.1%)
-Ama de casa	7 (23.33%)
-Obrero	2 (6.66%)
-Comerciante	1 (3.3%)
-Peon de granja	1 (3.33%)
- Médico	1 (3.33%)
Manifestaciones cutáneas de Lyme	
<u>Tempranas</u>	
Eritema migratorio	1 (3.33%)
Linfocitoma	1 (3.33%)
<u>Tardías</u>	
Morfea	23 (76.67%)
Síndrome de Parry Romberg	3 (10%)
Atrofodermia de pasini y pierini	1 (3.33%)
Liquen escleroso y atrófico	1 (3.33%)

De los 30 pacientes incluidos 46.66% tuvieron serología positiva para *Borrelia burgdorferii*, mediante *Western blot*. (Cuadro 2).

La edad promedio de los pacientes positivos para *Borrelia burgdorferii*, fue de 24.8 ± 17 , con una proporción hombre vs mujer 1:6. En cuanto al antecedente de mordedura de garrapata, el 21.42 % de los pacientes recordaban haber sido mordidos. Los principales hospederos relacionados fueron: el perro (50%), vaca (28.57%) y los pájaros (21.42%). Las 3 principales ocupaciones en nuestra población fueron trabajos de estudiante (50%), amas de casa (35.71%) y obreros (14.3%). 2 pacientes tenían lesiones tempranas, 1 Eritema migratorio y 1 linfocitoma; y 12 pacientes tenían lesiones tardías (esclerodermiformes), 1 liquen escleroso y atrófico, 1 atrofoderma de pasini y pierini, 2 síndrome de Parry Romberg, y 8 morfea localizada. Otras manifestaciones extracutáneas fue la afección articular en un 28.6%, sin artritis. Se observó una correlación clínica de las las lesiones dermatológicas con la histopatológica del 64.28% por medio de Hematoxilina y eosina, sin lograr evidenciar las espiroquetas con tinción de Warthin-Starry en ninguno de los casos. El linfocitoma se reportó por medio de inmunohistoquímica con CD3 + y CD20. El eritema migratorio reportó una dermatitis perivascular superficial, con intenso infiltrado de predominio eosinofílico. Las lesiones esclerodermiformes, reportaron una epidermis aplanada, con pérdida de anexos y aumento de las fibras de colágena en dermis. De los reportes no compatibles clínico-histológico fueron en relación a una dermatitis perivascular superficial inespecífica.

(Cuadro 2).

El estudio serológico de Western-blot mostró en el 50% de los casos un predominio en la detección de las bandas de proteínas 93 Kd, 66 Kd, 58 Kd y 41Kd. El 42% mostraron la banda 45 y 23 kd. El 28% fue para la banda 39 Kd. Algunos casos presentaron la de 30.

Los resultados de los tejidos enviados para cultivo y PCR, se encuentran en proceso y se tomarán como extensión del presente estudio piloto.

Cuadro 2: Casos de infección por *Borrelia Burgdorferi*

Pacientes	Casos positivos N = 14
Edad	Promedio: 24.8 ± 17
Mujeres Hombres	12 (85.7%) 2 (14.3%) Relac: 1:6
Lugar de exposición	
Mexico D.F	4 (28.57%)
Hidalgo	4 (28.57%)
Estado de México	2 (14.3%)
Veracruz	2 (14.3%)
Zacatecas	1 (7.14%)
Puebla	1 (7.14%)
Tabasco	1 (7.14%)
Antecedente de mordedura de garrapata	3 (21.42%)
Hospederos	
Perro	7 (50%)
Vaca (borregos)	4 (28.57%)
Pájaros	3 (21.42%)
Ocupación	
-Estudiante	7(50%)
-Ama de casa	5 (35.71%)
-Obrero	2 (14.3%)
Manifestaciones cutáneas de Lyme	
<u>Tempranas</u>	
Eritema migratorio	1 (7.14%)
Linfocitoma	1 (7.14%)
<u>Tardías</u>	
Morfea	8 (57.14%)
Síndrome de Parry Romberg	2 (14.3%)
Atrofodermia de pasini y pierini	1 (7.14%)
Liquen escleroso y atrófico	1 (7.14%)
Afección articular	4 (28.57%)
Correlación histopatológica	9 (64.28%)

Del total de la muestra estudiada 93.3% fueron lesiones en relación a la etapa tardía de la enfermedad, tipo esclerodermiformes. De las cuales se confirma la infección en 42.8% de los casos. Por subtipos la infección se presentó en 34.78% de las morfeas, 66.6% en Sd. Parry Romberg, Liquen escleroso y atrófico, así como atrofodermia de pasini y pierini 100%. (Cuadro 3).

Cuadro 3. Infección en lesiones esclerodermiformes.

	No	Porcentaje
Lesiones esclerodermiformes	28	100%
Infección	12	42.85%
Subtipos		Infección por subtipo
Morfea	23(82.14%)	8 (34.78%)
Sd. Parry Romberg	3 (10.7%)	2 (66.6%)
Atrofodermia de pasini y pierini	1 (3.57%)	1 (100%)
Liquen escleroso y atrófico	1 (3.57%)	1 (100%)

Se realizó un análisis de asociación entre los pacientes con infección y los no infectados, con el objetivo de valorar la significancia estadística de las variables, utilizando la prueba exacta de fisher y chi cuadrada. (se considera significativo el valor de la $p \leq 0.05$). Ninguna de las variables epidemiológicas presentó significancia estadística en esta muestra

(Cuadro 4).

Cuadro 4: Correlación de casos

Pacientes	No. 30	Posit 14	Neg 16	Valor de p*
Edad en años				
Promedio	23.65	24.8	22.62	NS
Desviación estándar	15.48	17.5	14.8	
Mujeres	25	12	13	NS
Hombres	5	2	3	
Lugar de exposición				
Mexico D.F	9 (30%)	4 (28.57%)	5 (31.25%)	NS
Hidalgo	8 (26.66%)	4 (28.57%)	4 (25%)	
Estado de México	5 (16.66%)	2 (14.3%)	3 (18.75%)	
Zacatecas	2 (6.66%)	2 (14.3%)	0	
Veracruz	2 (6.66%)	1 (7.14%)	1 (6.25%)	
Puebla	2 (6.66%)	1 (7.14%)	1(6.25%)	
Tabasco	1 (3.33%)	0	1(6.25%)	
Oaxaca	1 (3.33%)	0	1(6.25%)	
Antecedente de mordedura de garrapata	8 (26.66%)	3 (21.42%)	5 (31.25%)	NS
Hospederos				
Perro	14 (46.6%)	7 (50%)	7 (43.75%)	NS
Vaca (borregos)	7 (23.3%)	4 (28.57%)	3 (18.75%)	
Pájaros	6 (20%)	3 (21.42%)	3 (18.75%)	
Gato	3 (10%)	0	3 (18.75%)	
Ocupación				
-Estudiante	18 (60.1%)	7(50%)	11 (68.75%)	NS
-Ama de casa	7 (23.33%)	5 (35.71%)	2 (12.5%)	
-Obrero	2 (6.66%)	2 (14.3%)	0	
-Comerciante	1 (3.3%)	0	1(6.25%)	
-Peon de granja	1 (3.33%)	0	1(6.25%)	
- Médico	1 (3.33%)	0	1(6.25%)	
Manifestaciones cutáneas de Lyme				
<u>Tempranas</u>				NS
Eritema migratorio	1 (3.33%)	1 (7.14%)	0	
Linfocitoma	1 (3.33%)	1 (7.14%)	0	
<u>Tardías</u>				
Morfea	23 (76.67%)	8 (57.14%)	15 (93.75%)	
Síndrome de Parry Romberg	3 (10%)	2 (14.3%)	1 (6.25%)	
Atrofodermia de pasini y pierini	1 (3.33%)	1 (7.14%)	0	
Liquen escleroso y atrófico	1 (3.33%)	1 (7.14%)	0	
Afección articular	9 (30%)	4 (28.57%)	5 (31.25%)	NS
Correlación histopatológica	19 (63.33%)	9 (64.28%)	10 (62.5%)	NS

DISCUSION:

Desde 1983 que por primera vez fue detectada una espiroqueta en una biopsia de piel con tinción de plata (Warthin-Starry) en un paciente con eritema migratorio ^[4], se abrió el campo de estudio en relación a las manifestaciones cutáneas en la enfermedad de Lyme.

En los Estados Unidos de América (E.U.A.) presenta una prevalencia de Borreliosis de Lyme con ELISA de 1 al 10% y en Europa del 8 al 27%, según registros del Centro de control de enfermedades (CDC). ^(10,11) En nuestro país es considerada una enfermedad emergente, desde 1999 que se realizó el primer estudio de seroprevalencia epidemiológica nacional, se encontró positividad por ELISA en 1.1% de las muestras y se confirmó ésta en 0.3% de las mismas mediante inmunotransferencia, en la zona noreste y centro de la República Mexicana. ^[15] posteriormente en el 2003 de Gordillo y cols, reportaron una seroprevalencia con *Western-blot* de 3.43% y 6.2% en el Distrito Federal y la zona noreste de México respectivamente ^[17]. En el 2005 se confirmó que el vector *Ixodes* y *Amblyomma* representa el 54.5% de todas las garrapatas colectadas en 5 estados de la República Mexicana (Nuevo León, Tamaulipas, Durango, Jalisco y Chiapas) y una prevalencia del 5.7% de infección por *Borrelia burgdorferi* sensu stricto en la zona Noreste del país ^[18] y a principios del 2007 dos estudios son reportados, uno en pacientes sobre la genotipificación de *Borrelia burgdorferi* de casos con Enfermedad de Lyme adquirida en México y el otro en garrapata infectadas de 5 Estados de la República Mexicana, ^[19,20] Fue publicado otro estudio en el 2007 que evidencia la infección de *B. burgdorferi* por histología, serología y examen molecular. En el cual se incluyeron 4 pacientes que viajaron a zonas forestales (Tres, en el parque la Marquesa en el Estado de México y uno más en Quintana Roo) fueron picados por garrapata y contrajeron la infección, ^[41] con lo que se puede comprobar que la Borreliosis de Lyme es endémica en algunas zonas del país.

Se observó que el rango de pacientes infectados fue de 5 a 60 años, pero sí lo analizamos por grupos etarios, en los niños se presentó un promedio de edad de 8 ± 3 y en los adultos el promedio de edad fue de 37 ± 5 . Como lo reportado por Fahrer y col. que en 1991 encontraron, en Europa, una curva bimodal en la edad de exposición y presentación de la enfermedad en donde la población en riesgo es mayor, entre los 10 a 14 años de edad, y de los 20 a los 40 años de edad, sin precisar el motivo de este comportamiento ^[17]. En esta muestra el 80% de los pacientes estudiados provenían del centro del país (México D.F, Hidalgo, Edo. de México y Puebla), el 13% del sur del país (Oaxaca, Veracruz y Tabasco) y un 7% de Zacatecas. Sin embargo en el centro del país se observó una prevalencia del 37% comparada con un porcentaje mayor al 50% en la zona norte y sur del país. Estos resultados pueden ser debidos al tamaño de muestra o a lo reportado por Gordillo y col, de la mayor seroprevalencia en el norte del país contra el centro.

De los pacientes infectados con *B. burgdorferi* el 21.4% reportaron la mordedura por garrapata, lo que estuvo en relación a la historia natural de la enfermedad, ya que igual que Gary P. Wormser y cols, ^[40] quienes reportaron una asociación del 22%, la gran mayoría de los pacientes no recuerdan haber sido picados por la garrapata, previo al inicio de sus lesiones. Todos los pacientes estuvieron expuestos ha animales domésticos, en la mayoría de los casos el perro. La infección por *Borrelia burgdorfer* como lo describe Hayes y cols ^[3] es endémica en zonas geográficas específicas, donde además de los habitantes propios del lugar, puede asociarse a una exposición de tipo ocupacional (ganadería, veterinaria, agricultura y campismo), en esta muestra el 50% de los sujetos eran estudiantes que acuden a zonas de recreación como zoológicos, parques forestales y zonas de campismo.

Dentro del espectro clínico de manifestaciones de la enfermedad de Lyme la afección cutánea es la vía de identificación más accesible, ya que el eritema migrans presente en la etapa temprana se considera un signo patognomónico de la enfermedad.

En relación a las manifestaciones clínicas encontramos que dos pacientes presentaron la etapa aguda de la enfermedad y ambos fueron positivos, mientras que en el grupo de pacientes con lesiones tardías la infección se presentó en el 48.5%. Que si bien no se pudo obtener una significancia estadística por el tamaño de la muestra.

Desde 1985 Aberer et. al reportaron evidencias histopatológicas de similitud entre biopsias de pacientes con acrodermatitis crónica y atrófica y algunas formas de morfea con la presencia de anticuerpos para *B. burgdorferi* de 5 de 10 pacientes con morfea. ^[26] En el momento actual a nivel mundial es controversial esta asociación de las lesiones tipo esclerodermiformes o morfea (subtipos: morfea, sd. Parry romberg, atrofodermia de pasini y pierini, etc), ya que en Europa se ha detectado una asociación con amplio rango desde 0 a 40% por inmunohistoquímica ^[26]. La serología (anticuerpos contra *B. burgdorferi* con ELISA) fue positiva en 0-60% (137 de 588) de pacientes con morfea en Europa y Asia y en E.U.A de 19% (6 de 32). En Europa y Asia, el 0-25% de los casos positivos con el LEA. Por PCR se detectó DNA de *B. burgdorferi* en 20% (17 de 82) de pacientes con morfea en Europa y Asia, pero en E.U.A. ninguno de 98 pacientes fue positivo. En liquen escleroso y atrófico el 30% (9 de 28) de pacientes fueron positivos en Europa y Asia, y ninguno de 48 pacientes. ^[28] Por lo que se ha considerado como una diferencia regional, ya que la especie *Borrelia afzelli* es predominante en Europa, no así en E.U.A. En nuestro estudio encontramos que en el grupo de pacientes con lesiones esclerodermiformes presentó un porcentaje de infección del 48.3%, muy similar al registro de los países Europeos, a pesar de tener más cercanía con los E.U.A. Lo que da pie a investigaciones futuras, para

determinar las subespecies de *Borrelia* y sí el factor genético tiene alguna influencia sobre el desarrollo de ciertos genotipos de *borrelia*, pues en México tenemos una fuerte ascendencia europea.

Esta muestra presentó afección extracutánea en el 28.5%, caracterizado por afección articular.

Es interesante que la correlación clínica entre los dermatólogos para el diagnóstico de esta enfermedad fue del 64.2% en relación a los reportes histopatológicos. Lo que puede estar relacionado con la baja experiencia en el reconocimiento de las manifestaciones cutáneas de la enfermedad. Por lo que este estudio puede ser el inicio de una descripción más detallada de la expresión clínica en pacientes mexicanos y puede servir de guía a los médicos especialistas.

En los hallazgos histológicos llama la atención que la tinción de plata Warthin-starry, fue negativa en todos los casos seropositivos. Lo que puede estar en relación a la etapa de la enfermedad, ya que de los 14 pacientes positivos, 12 se encontraban en la etapa tardía, donde la sensibilidad de este estudio es muy baja como lo reporta Brent Leed y cols que han encontrado la presencia de la espiroqueta solo en el 40% de los casos. ^[42]

Dressler y cols reportaron en los casos con enfermedad temprana la presencia de anticuerpos evidentes en las bandas de proteínas de 41 kDa (flagelar) y 23 kDa (OspC, proteína de membrana externa y la 93 Kd a infección tardía ^[42]. En nuestra muestra de pacientes el estudio serológico de Western-blot mostró en el 50% de los casos un predominio en la detección de las bandas de proteínas 93 Kd, y 41Kd. El 42% mostraron la banda 23 kd. Lo que correlaciona las dos etapas clínicas en dichos pacientes.

CONCLUSIONES:

La prevalencia de infección por *Borrelia burgdorferii* en la mitad de los casos de esta muestra de pacientes, demuestra la presencia de los dos estadios de la enfermedad de Lyme en pacientes mexicanos. Los médicos ante la presencia de estos rasgos cutáneos agudos o tardíos, deben considerar como diagnóstico diferencial y prevenir el desarrollo de afección sistémica y los estadios crónicos e irreversibles de la borreliosis de Lyme.

BIBLIOGRAFIA

1. McGinley-Smith Daniel E, Tsao Sandy S. Dermatoses from ticks. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49(3): 363-392.
2. Escudero-Nieto R, Guerrero-Espejo A. Enfermedades producidas por *Borrelia*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005; 23 (4): 232-40.
3. Hayes, Edward B, Piesman J. Current Concepts: How can we prevent Lyme disease?. *N Engl J Med* 2003; 348 (24): 2424-2430.
4. Neubert U. Etiology of erythema migrans disease and Lyme disease. Review and results of personal study. *Hautarzt* 1984; 35 (11): 563-70.
5. Allen C. Steere, Jenifer Coburn, Lisa Glickstein. The emergence of Lyme disease. *J Clin Invest* 2004; 113 (8): 1093-1101.
6. Eva Asbrink, Anders Hovmark. Borreliosis de Lyme. En: Irwin M. Freedberg, Arthur Z. Eisen, Klaus Wolff, K. Frank Austen, Lowell A. Goldsmith, Stephen I. Katz, et al, editores. Fitzpatrick: Dermatología en Medicina General. Quinta Edición. Distrito Federal, México: Paramericana; 2001. p. 2456-2467.
7. Steere AC. Lyme disease. *N Engl J Med* 1989; 321: 586-595.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for test performance and interpretation from the second national conference on serologic diagnosis of Lyme disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1995; 44: 590.
9. JA Salinas-Meléndez, S Galván de la Garza, VM Riojas-Valdés, A Wong-González, R Ávalos-Ramírez. Antibody detection against *Borrelia burgdorferi* in horses

- located in the suburban areas of Monterrey, Nuevo León. Rev Latinoam de Microbiol 2001; 43 (4): 161-164.
10. Fahrer H, Van der LSM, Sauvain MJ, Gern L, Zhioua E, Aeschliman A. The prevalence and incidence of clinical and asymptomatic Lyme borreliosis in a population at risk. J Infect Dis 1991; 163: 305-310.
 11. O'Connell S, Granstrom M, Gray JS, Stanek G. Epidemiology of European Lyme borreliosis. Zentralbl Bakteriologie 1998; 287: 229-40.
 12. Guzmán L, Neira O. Lyme disease in Chile. J Rheumatol 1993; 20: 774-775.
 13. Hoffmann A. Monografía de los Ixodoidea de México. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat. 1992; 23:240-286.
 14. Maradiaga-Ceceña MA, Llausás-Vargas A, Barguera-Heredia J, Kumate-Rodríguez J. Eritema crónico migratorio asociado a artritis. Enfermedad de Lyme o una variante. Rev Mex Reumatol 1991; 6: 61.
 15. Gordillo-Pérez G, Torres J, Solórzano-Santos F, Cedillo R, Tapia-Conyer R, Muñoz-Onofre. Serologic evidences suggesting the presence of *Borrelia burgdorferi* infection in Mexico. Arch Med Res 1999; 30:64-68.
 16. Gordillo PG, Estrada G, Solórzano SF, Torres LJ. Confirmación de neuroborreliosis de Lyme por métodos serológicos y moleculares en el Valle de México. Los Cabos B. C.; Congreso de Neurología 1999. Oct 30- Nov 2.
 17. Gordillo-Pérez G, Torres J, Solórzano-Santos F, Garduño-Bautista V, Tapia-Conyer R, Muñoz-Onofre. Estudio seroepidemiológico de borreliosis de Lyme en la Ciudad de México y el noreste de la República Mexicana. Sal páb méx 2003; 45 (5): 351-355.

18. Gordillo-Pérez G, Vargas Margarita, Rivera Alejandra, Solórzano Fortino, Muñóz Onofre and Torres Javier. Infection of ticks from the Northeast of Mexico with *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. 10th International Conferencia on Lyme Borreliosis and other Tick-borne disease. Viena, Austria. September 2005. 11-15. www.iclb2005.com
19. Gordillo-Pérez G, Covarrubias Yatzaret, Vargas Margarita et al. Prevalencia de infección por *Borrelia burgdorferi* de Ixodidos distribuidos en 5 estados de la República Mexicana. XXXII Congreso Asoc Mex Infectología. Aguascalientes México. 7-10 marzo 2007; Vol 27: S42.
20. Gordillo-Pérez G, Benoit Jaulhac, Solórzano Santos Fortino. Genotipificación de *Borrelia burgdorferi* sensu lato de muestras clínicas de pacientes con Borreliosis de Lyme en la República Mexicana por medio de la PCR en tiempo real. XXXII Congreso Asoc Mex Infectología. Aguascalientes México. 7-10 marzo 2007. Vol 27: S56.
21. Asbrink E. Cutaneous manifestations of Lyme borreliosis. Clinical definitions and differential diagnoses. Scand J Infect Dis Suppl 1991; 77: 44-50.
22. Malane MS, Grant-Kels JM, Feder HM Jr, Luger SW. Diagnosis of Lyme disease based on dermatologic manifestations. Ann Intern Med 1991; 114 (6): 490-498.
23. Sood, Sunil K. Lyme disease. Pediatr Infect Dis J 1999; 18 (10): 913-925.
24. Claudia Colli, Bernd Leinweber, Robert Mullegger, Andreas Chott, Helmut Keri, Lorenzo Cerroni. *Borrelia burgdorferi*-associated lymphocytoma cutis: clinicopathologic, immunophenotypic, and molecular study of 106 cases. J Cutan Pathol 2004; 31: 232-240.

25. Ploysangam T, Breneman DL, Mutasin D.F. Cutaneous pseudolymphomas. *J Am Acad Dermatol* 1998; 38 (6 pt 1): 877-95.
26. DiCaudo DJ, Su WP, Marchall WF, Malawista SE, Barthold S, Persing DH. Acrodermatitis chronica atrophicans in the United States: clinical and histopathologic features of six case
27. Sehgal, Virendra N, Srivastava G, Aggarwal-Ashok K, Behl P, Choudhary M, et al. Localized Scleroderma/morphea. In *J Dermatol* 2002; 41(8): 467-475.
28. Weide B, Walz T, Garbe C. Is morphoea caused by *Borrelia burgdorferi*? A review. *Br J Dermatol* 2000; 142 (4): 636-44.
29. Buechner SA, Ruffli T. Atrophoderma of Pasini and Pierini. Clinical and histopathologic findings and antibodies to *Borrelia burgdor* in thirty-four patients. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30 (3): 441-6.
30. Özkan, Atabey, Fetil, Emel, Erkzan, Verda, et al. Evidence for *Borrelia burgdorferi* in morphea and lichen sclerosus. *International Journal of Dermatology*. In *J Dermatol* 2000; 39(4): 278-283.
31. Weide B, Chittek B.S, Klyszcz T, Schuz K, Stark M, Rassner G, et al. Morphoea is neither associated with features of *Borrelia burgdorferi* infection, nor is this agent detectable in lesional skin by polymerase chain reaction. *Br J Dermatol* 2000; 143: 780-785.
32. J R Goodlad, M M Davidson, P Gordon, R Billington, D O Ho-Yen. Morphoea and *Borrelia burgdorferi*: results from the Scottish Highlands in the context of the world literature. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2002; 55: 374-378.
33. Aguero-Rosenfeld M, Wang G, Schwartz I, Wormser G. Diagnosis of Lyme Borreliosis. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18 (3): 489-509.

34. Hauser U, Lehnert G, Wilske B. Validity of Interpretation Criteria for Standardized Western Blot (Immunoblot) for Serodiagnosis of Lyme Borreliosis Based on Sera Collected Throughout Europe. *J Clin Microb* 1999; 25: 31-4.
35. Tittton CR, Sand NM, Manak M. The Western Immunoblot for Lyme Disease: Determination of sensitivity, Specificity, and Interpretive Criteria with Use Commercially Available Performance Panels. *Clin Inf Dis (Suppl)* 1997; 25: 31-4.
36. Dressler F, Whalen AF, Reinhardt NB, Steere AC. Western Blotting in the Serodiagnosis of Lyme Disease *J Infec Dis* 1993; 167: 392-400.
37. Magnarelli AL, Miller NJ, Anderson FJ. Cross-Reactivity of Nonspecific Treponemal Antibody in Serologic Test for Lyme Disease. *J Clin Microb* 1990; 28: 1276-79.
38. Schwartz I, Wormser J, Schwartz D, Cooper P, Weissensee A, Gazumyan E, et al. Diagnosis of early Lyme disease by polimerase chain reaction amplification and culture of skin biopsies from erythema migrans lesions. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 3082-3088.
39. Ledue BT, Collins FM, Craig W. New Laboratory Guidelines for serological Diagnosis of Lyme Disease: Evaluation of the Two-test Protocol. *J Clin Microb* 1996; 34: 2343-50.
40. Wormser G, Ramanathan R, Nowakowski J, Mckenna D, Holmgren D, Visintainer P, et al. Duration of Antibiotic Therapy for Early Lyme Disease Duration of Antibiotic Therapy for Early Lyme Disease. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Ann Intern Med* 2003; 138 (9): 697-704.
41. Wormser G, Nowakowski J, Nadelman R. Treatment of Early Lyme Disease. *Ann Intern Med* 2004; 140 (7): 577-578.

42. Gordillo Perez Guadalupe, Torres Javier, Solórzano Santos, Sylvie De Martino, Lipsker Dan. Evidence consistent with *Borrelia burgdorferi* infection in clinical cases with cutaneous manifestations of Lyme disease in Mexico. *Emerging Infectious Diseases* 2007, 13: 1-8.
43. Brent Weed, and Mark D. P. Davis. Lyme disease presenting with multiple erythema migrans lesions: an illustrative case. *Intern J of Dermatology* 2003, 42: 715–712.

ANEXO 1

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Folio:		Fecha:	
Nombre:		Edad:	
Sexo: M (1) F (2) Ocupación:			
Afiliaación:			
Domicilio:			
Tel: Ciudad:		Estado:	
Diagnóstico presuntivo:			
1. Antecedentes.			
a) ¿Ha estado en un área rural en los últimos Seis meses? SI _____ NO		l) Localización de las lesiones: Cara Orejas Cuello Torax Abdomen Miembros sup Infer _____	
Dónde:		m) Las lesiones reaparecen: SI _____ NO	
b) ¿Ha estado en un bosque o zoológico en los últimos 6 meses? SI _____ NO		Cuántas ocasiones:	
Dónde:		n) La forma de las placas es anular: ú	
c) Las lesiones actuales iniciaron antes o después de estar en el área rural, bosque o zoológico. SI _____ NO		Homogénea	
d) ¿Convive con perros, gatos, pájaros en cas? SI _____ NO		o) Las lesiones de piel se asociaron a edema de Miembros inferiores?	
e) ¿Convive con vacas en casa o trabajo? SI _____ NO		p) Ha tenido lesiones mucocutáneas En qué sitio_	
f) ¿Ha viajado a EUA? SI _____ NO		3. Articulaciones:	
g) ¿Ha sido mordido por garrapata? SI _____ NO		a) Tiene datos articulares: SI _____ NO	
h) ¿Cuándo?		b) Tuvo signos articulares: SI _____ NO	
2. Dermatológico		c) Artralgias: SI _____ NO	
a) ¿Tiene lesiones en piel? SI _____ NO		d) Aumento de volumen. SI _____ NO	
b) ¿Tuvo lesiones en piel? SI _____ NO		e) ¿Cuántas artic. están afectadas?	
c) La aparición de la roncha esta relacionada a La picadura de una garrapata? SI _____ NO		f) Artritis: SI NO	
d) Cómo era la lesión en piel? Mácula Placa _____ Nódulo _____ Otros:		Tiempo de inicio de la artritis.	
e) Cuánto media la primer lesión?		4. Cardiovascular:	
f) La lesión en piel se transformó? SI _____ NO		a) ¿Tuvo alteraciones cardiológicas? SI _____ NO	
g) Actualmente es una: Mácula _____ Placa Esclerosis _____ Nódulo _____ Otros		b) ¿Tiene alteraciones cardiológicas? SI _____ NO	
h) El borde de la placa cambió? SI _____ NO		c) Cursó con bloqueo atrioventricular de 2do ó 3er grado (EKG con P-R prolongado). SI _____ NO	
i) Qué coloración tenía o tiene el borde? Rosa _____ Rojo _____ Pálido _____ Desconoce		d) Se realizó EKG: SI _____ NO	
j) El borde es regular? _____ Irregular		e) Requirió de hospitalización. SI _____ NO	
k) El centro de la lesión es: Pálido _____ Rosa Rojo _____ Violáceo _____ Desconoce		f) Requirió hospitalización en eventos previos. SI _____ NO	
		g) ¿Cursó con mareo? SI _____ NO	
		h) ¿Cursó con acúfenos?: SI _____ NO	
		i) ¿Cursó con alteraciones auditivas? SI _____ NO	
		j) ¿Cuáles?	

6. Sistema nervioso:	7. Estudios de Laboratorio
a) ¿Tuvo manifestaciones de sistema nervioso?	Resultados.
SI _____ NO _____	VDRL. SI _____ NO _____
¿Cuáles?	Positivo _____ Negativo _____
b) ¿Tiene manifestaciones de sistema nervioso?	Factor Reumatoide. SI _____ NO _____
SI _____ NO _____	Positivo _____ Negativo _____
¿Cuáles?	Acs antinucleares. SI _____ NO _____
c) Síndrome meníngeo. (Rigidez de nuca, Kerning, Brudzinsky) SI _____ NO _____	Positivo _____ Negativo _____
d) ¿Tuvo cefalea? SI _____ NO _____	IgG SI _____ NO _____
e) Medir fuerza muscular de acuerdo a escala de I a V	Positivo _____ Negativo _____
I: Nula, II: Disminución de fuerza y tono.	IgM SI _____ NO _____
III: Disminución en contra de gravedad. IV: Fuerza disminuida a fuerza opuesta no contra gravedad. V: Normal.	Positivo _____ Negativo _____
e) Alteración. Simétrica. _____ Asimétrica _____	BHC: SI _____ NO _____
f) Debilidad predominante: Distal	Resultado. HB: _____ Leucocitos _____
Proximal _____ Global _____ Mixta _____	Segmentados _____ % Linfocitos _____ %
Sensibilidad _____ Normal (1), Disminuida (2), Aumentada (3).	Monocitos _____ % Eosinófilos _____ %
Localización	Basófilos _____ %
g) Afección a algún par craneal:	Plaquetas _____
SI _____ NO _____	Química Sanguínea:
¿Cuál?	Glucosa: SI _____ NO _____
Tiene parálisis facial. SI _____ NO _____	Resultado:
Unilateral _____ Bilateral _____ Zona afectada _____	Albúmina: SI _____ NO _____
Comisura labial _____ Hemicara _____	Resultado:
Derecha _____ Izq _____	Relación Albúmina/Globulina
Tiempo de evolución	¿Se tomó LCR? SI _____ NO _____
Vesículas dolorosas: SI _____ NO _____	Número de células _____ % PMN
En qué sitio: Cara _____ Tórax _____	MN _____ Glucosa _____ mg/dl
Abdomen _____ Extremidades _____	Proteínas _____ mg/dl. Cloruros _____ mg/dl
Se realizó fondo de ojo: SI _____ NO _____	Tinción de Gram
Hallazgos del fondo de ojo:	Se sugiere solicitar T3 y T4. En caso de parálisis facial y sospecha de enfermedad tiroidea
Ha tenido varicela? SI _____ NO _____	T3 _____ T4 _____
Ha tenido Herpes Zoster? SI _____ NO _____	
s) En qué sitios?	

8. Estudios Radiológicos o Gabinete:	
Rx tórax	SI NO
Reporte:	
Resonancia Magnética:	SI NO
Reporte:	
Electromiografía:	SI NO
Reporte:	
Biopsia de Nervio:	SI NO
Reporte:	
Medicamentos administrados.	
Nombre, dosis y tiempo de administración.	
Médico:	
Tel:	Fax
Domicilio:	
Unidad Médica	
En caso de cualquier duda comunicarse con:	
DRA. MARIA GUADALUPE GORDILLO	
PEREZ Tel: 01 (55) 56276900 ext.22408	
Fax: 01 (55) 56276949.	
UIMEIP, HOSPITAL DE PEDIATRIA DEL CMN	
SIGLO XXI, IMSS, MEXICO DF.	

ANEXO 2

Hoja de consentimiento informado

Título de la investigación: “PREVALENCIA DE INFECCIÓN POR *Borrelia burgdorferi* EN PACIENTES CON MANIFESTACIONES CUTÁNEAS COMPATIBLES CON ENFERMEDAD DE LYME DE HOSPITALES DE ALTA ESPECIALIDAD DEL DISTRITO FEDERAL”

Investigadores: Dra Ma Gpe Gordillo Pérez Dra. Maricela Campos Navarro
Dra. Ma Magdalena Lopez Ibarra Dra. Edmundo Velásquez. Gonzalez

Este documento, tiene por objeto, formalizar y hacer constar el CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA ATENCION MEDICA, entre el paciente, familiar o tutor, o representante legal y este hospital, por la prestación de servicios de salud encomendados al IMSS, en cumplimiento a los artículos 22, de la Ley del Seguro Social; 6º, 59º y 64º, del reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Prestaciones de Servicios de Atención Medica; y a los puntos 4.2 y 10.11, de la Norma Oficial Mexicana NOM.168-SSA 1-1998, del Expediente Clínico publicada en el Diario Oficial de la Federación el día 30 de septiembre de 1999.

INTRODUCCION:

La Enfermedad de Lyme es una enfermedad sistémica que produce manifestaciones en piel, articulaciones y/o Sistema nervioso. La infección en población general del Distrito Federal la hemos reportado y se han identificado pacientes con manifestaciones cutáneas y neurológicas procedentes de zonas suburbanas o boscosas del Distrito Federal. Las manifestaciones cutáneas son las más frecuentes y pueden ser tratadas por su médico para evitar manifestaciones en otros órganos.

PROPÓSITO: Determinar la frecuencia de la infección por la bacteria *B.burgdorferi* en pacientes con manifestaciones cutáneas que clínicamente puedan tener la enfermedad llamada Borreliosis de Lyme y que sean derechohabientes del IMSS en hospitales de alta especialidad ubicados en el Distrito Federal.

PROCEDIMIENTO:

Si consiento participar sucederá lo siguiente:

1. Responderé a preguntas sobre mi historia médica, que dura 30 minutos.
2. Me someteré a una exploración física rutinaria y revisarán mi expediente.
3. Me extraerán sangre (5-10ml) del brazo con aguja para estudios serológicos y detectar infección por *B.burgdorferi*.
4. Se tomará biopsia de piel, la cual será utilizada para el estudio histopatológico y confirmar el diagnóstico clínico, un fragmento será para cultivar la bacteria o buscar el DNA de la misma con técnicas de biología molecular. Dicha biopsia se realizará con aplicación de anestésico local, y extracción de 4 mm de piel por medio de un sacabocado, dicha lesión por su diametro no requiere ser suturada, ya que cerrará por segunda intención.

RIESGOS: Mínimo, la punción duele unos segundos y en ocasiones se produce un hematoma (moretón) pero es poco frecuente y la biopsia de piel es tomada por personal

especializado con anestésico y todas las condiciones de asepsia, así como seguimiento hasta su cicatrización.

BENEFICIOS: El compromiso por parte del investigador principal de dar a conocer los resultados de los estudios y posible diagnóstico de su enfermedad, así como obtener el tratamiento completo y específico, para el control de dicho padecimiento; deteniendo así la evolución natural de la enfermedad.

CONFIDENCIALIDAD:

Los resultados de todas las pruebas se discutirán conmigo y se enviarán a su médico tratante. Toda la información epidemiológica y clínica serán confidenciales y serán usadas sólo para apoyo diagnóstico y efectos de la investigación. Mi identidad será mantenida confidencial en la medida que la ley lo permita.

DERECHO A REHUSAR O ABANDONAR EL ESTUDIO.

La participación en el estudio es enteramente voluntaria y será libre de rehusar a tomar parte o abandonarlo en cualquier momento, sin afectar la atención médica futura.

El suscrito (paciente, o en su caso, familiar, tutor o representante) _____, con número de seguridad social (o identificación oficial) _____, en pleno uso de mis facultades mentales y en ejercicio de mi capacidad legal, DECLARO lo siguiente:

- a) Expreso mi libre voluntad para ingresar al protocolo de estudio: “PREVALENCIA DE INFECCIÓN POR *Borrelia burgdorferi* EN PACIENTES CON MANIFESTACIONES CUTANEAS COMPATIBLES CON ENFERMEDAD DE LYME DE HOSPITALES DE ALTA ESPECIALIDAD DEL DISTRITO FEDERAL”; para el efecto de recibir la atención médica requerida, aceptando con ese objeto, cumplir con la normatividad establecida en la ley de Seguro Social y sus reglamentos.
- b) Que el médico DRA. MARICELA CAMPOS NAVARRO, con número de matrícula 9920218, en el servicio de Dermatología me ha proporcionado la información completa sobre mi enfermedad y estado actual, la cual fue realizada en forma amplia, precisa y suficiente, en lenguaje CLARO y SENCILLO, haciéndome saber las opciones, posibles riesgos y complicaciones consistentes en: describir diagnóstico, tratamiento, pronóstico y demás datos que se estimen necesarios, para : TOMA DE SUERO Y BIOPSIA DE PIEL .

Mexico D.F.,__ de _____ del__2007__.

Nombre y firma del paciente, familiar,
Tutor o representante legal

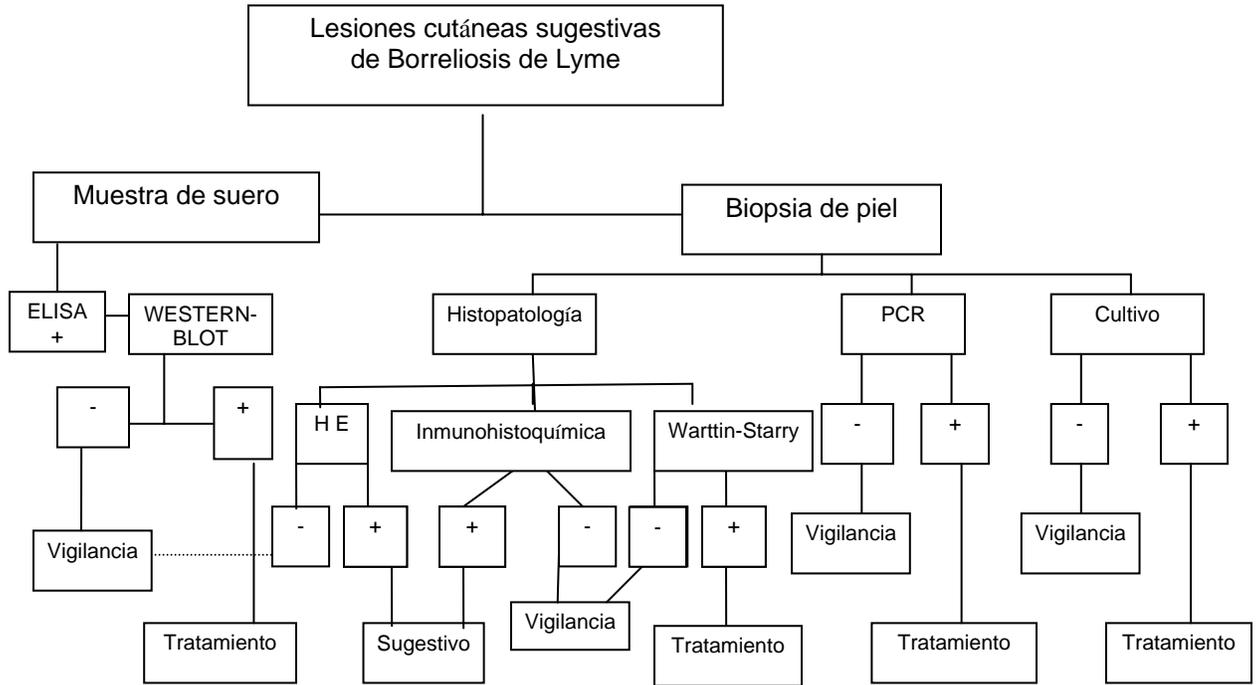
Dra. Maricela Campos Navarro
Nombre y firma del medico
responsable

Nombre y firma del testigo.

Nombre y firma del testigo.

ANEXO 3

ALGORITMO DE DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO



ANEXO 4

Bandas de proteínas en Western Blot IgG para *Borrelia burgdorferi* según su peso molecular de pacientes con borreliosis de Lyme.

	Folio	Edad	Sexo		9	6	5	4	4	3	3	3	2	2	2	1
			F	M	3	6	8	5	1	9	1	0	8	5	3	8
			1	2												
1	613	9		x x	X	X			X	X						
2	616	19	x x			X	X	X								
3	617	13	x x		X	X	X	X								
4	631	8	x x				X		X	X		X				
5	637	10	x x		X		X		X			X				X
6	647	60	x x			X		X	X							
7	648	44	x x			X	X		X					X		X
8	651	40	x x				X		X							X
9	668	6	x x		X		X					X				
10	670	29	x x		X	X										
11	671	33		x x	X	X										
12	682	28	x x					X								X
13	683	44	x x					X	X			X				X
14	693	5	x x		X			X								

ANEXO 5

Registro fotográfico:

MANIFESTACIONES CUTANEAS CLINICAS DE ENFERMEDAD DE LYME

I. MANIFESTACIONES CUTANEAS AGUDAS

A) ERITEMA MIGRATORIO



Placa eritematosa tipo anular, con bordes bien definidos y levemente elevados, no infiltrados. Centro homogéneo levemente hiperpigmentado. Que mide 15 x 13 cm de diámetro.

B) LINFOCITOMA CUTIS



Neoformación tipo nodular, con bordes bien definidos, irregulares, no infiltrada. Superficie levemente eritematosa, de aspecto turgente. Mide 2 x 2.5 cm de diametro.

II. MANIFESTACIONES CUTANEAS DE LYME TARDIAS

1. ACRODERMATITIS CRONICA ATROFICA



Placas tipo escleróticas, con bordes bien definidos hiperpigmentados e irregulares. Centro heterogéneo con hiper e hipopigmentación y levemente deprimido. Miden 10x 4 cm y 2x2 cm.



Placas tipo escleróticas, con bordes bien definidos, levemente hiperpigmentados e irregulares. El centro con predominio de áreas hipopigmentadas heterogeneas. Miden 18x7cm 5x5 cm.

2. OTRAS LESIONES ESCLERODERMIFORMES

A) MORFEA LINEAL



Placa esclerótica tipo lineal, con bordes irregulares, bien definidos, superficie heterogénea, dura, predomina la hiperpigmentación y el eritema. Mide 20 x 12 cm de diámetro.

B) SINDROME DE PARRY ROMBERG



Hemiatrofia facial derecha, secundaria a placa tipo Esclerótica, levemente hiperpigmentada.



Hemiatrofia facial izquierda, constituida por una placa tipo esclerótico y atrofia de tejido celular subcutáneo.



Hemiatrofia facial derecha, secundaria a placa tipo esclerodermiforme
Con superficie levemente hiperpigmentada, así como disminución de
Tejido adiposo circundante.