

Nuevo caso de tularemia autóctona transmitido por picadura de garrapata

Sr. Editor: La tularemia es una zoonosis producida por *Francisella tularensis*, cuyo mecanismo de transmisión más frecuente es el contacto con productos animales, agua o alimentos contaminados, por inhalación o mediante picadura de artrópodos. En España también se han descrito casos en verano asociados a la pesca del cangrejo de río¹. De las cuatro subespecies existentes, *F. tularensis* subespecie *tularensis* es la más virulenta, con una distribución restringida a América del Norte, aunque recientemente se ha descrito en artrópodos en Europa Central². La presentación clínica depende de la vía de entrada del microorganismo, y las formas ulceroglandular y ganglionar son las más frecuentes cuando la vía de entrada es por picadura de garrapata, de mosquito o por contacto directo con una fuente infectada.

Presentamos un caso de tularemia transmitida por picadura de garrapata, tratada en el Hospital de León. Se trata de un varón de 53 años, que tras picadura de garrapata en zona posterior del cuello, comienza a notar la aparición de bultomas dolorosos en región supraclavicular y laterocervical izquierdas, acompañado de febrícula vespertina intermitente y malestar general. El paciente no mejoró con cefuroxima oral, y se observó abscesificación y drenaje espontáneo de una de las adenopatías. En la exploración destacaba una temperatura de 37,2 °C, bultomas eritematosos en la región supraclavicular izquierda y se palpaban adenopatías dolorosas submandibulares, laterocervicales y supraclaviculares izquierdas. El hemograma, el perfil bioquímico general y la coagulación fueron normales, salvo elevación moderada de reactantes de fase aguda. En la placa de tórax no se apreciaron alteraciones.

Se realizó punción-aspiración de una adenopatía, para extraer 3 ml de material purulento cuyo cultivo para bacterias, micobacterias y hongos resultó negativo. Se biopsió otra adenopatía laterocervical que se informó como linfadenitis granulomatosa abscesificante y necrosante.

Se inició tratamiento con doxiciclina oral durante 15 días, y tras progresión en el crecimiento de las adenopatías durante los 10 primeros días, el paciente mejoró, hasta encontrarse asintomático a las 4 semanas de iniciar el tratamiento. La serología fue positiva para *F. tularensis* a un título de 1/4096 y fue negativa para *Anaplasma phagocytophilum*, *Coxiella*

burnetii, *Borrelia burgdorferi*, *Rickettsia conorii*, métodos no treponémicos para *Treponema pallidum* y VIH. Mediante PCR, utilizando como diana el 16S rRNA¹ y posterior secuenciación del producto, se identificó *F. tularensis* subespecie *holarctica* en pus de adenopatía.

Hasta 1997 la tularemia era una enfermedad no confirmada en España. Es entonces cuando se declaró un brote en Castilla y León de, aproximadamente, 585 casos, asociado a la manipulación de liebres³⁻⁶. Un año después otro brote asociado a la pesca y manipulación de cangrejos de río afectó a 19 pacientes en la provincia de Cuenca¹. Desde entonces casi todos los años se han diagnosticado casos en distintas comunidades autónomas, bien de presentación esporádica o asociados a pequeños brotes⁷.

La picadura de garrapata es la vía de transmisión de tularemia más frecuente en Estados Unidos⁸, y supone hasta el 10% de los casos descritos en la literatura médica⁹. En países como Japón, hasta el 1,2% de los casos descritos documentaban no sólo picadura, sino también manipulación de las garrapatas al ser recogidas de perros infestados¹⁰. En el caso descrito en este trabajo, la localización de la picadura sugiere la implicación de *Dermacentor* sp., género de garrapatas frecuentemente involucrado en la transmisión de la tularemia. En España, de los 627 casos comunicados al sistema EDO entre 1987 y 2004 (información de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica), en uno de ellos se ha informado de transmisión por esta vía¹¹, si bien esta forma era ya sospechada en nuestro país¹². Hay que tener en cuenta que *F. tularensis* puede transmitirse entre garrapatas por vía transovárica y persistir en la naturaleza sin necesidad de un reservorio animal infectado, lo que favorece la posibilidad de su transformación en agente endémico.

Es importante resaltar la importancia de incluir *F. tularensis* en el diagnóstico diferencial de los procesos transmitidos por garrapatas, además del establecimiento de medidas de vigilancia medioambiental que incluyan la determinación de la evolución del porcentaje de garrapatas infectadas en las zonas endémicas y la vigilancia de la mortalidad de mamíferos silvestres. Así podremos detectar la reactivación de los focos endémicos y adelantarnos a la aparición de nuevos brotes que permitan establecer las medidas sanitarias necesarias para una correcta identificación temprana de casos y adoptar las oportunas de medidas de control.

Agradecimientos

A la Dra. Luisa Sánchez Serrano, del Centro Nacional de Epidemiología del Instituto de Salud Carlos III, por la aportación de datos del Sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria, y al Dr. Mostaza, del Servicio de Medicina Interna del Hospital de León por su colaboración. Este trabajo ha sido financiado por la Red Temática de Investigación Cooperativa EBATRAG (G03/057) del Fondo de Investigación Sanitaria, Instituto de Salud Carlos III.

Cristian Teijo-Núñez^a,
Raquel Escudero-Nieto^b,
María Isabel Fernández-Natal^c
y Pedro Anda-Fernández^b

^aServicio de Medicina Interna. Hospital de León. ^bLaboratorio de Espiroquetas y Patógenos Especiales. Servicio de Bacteriología. Centro Nacional de Microbiología. ISCIII. Majadahonda. Madrid. ^cServicio de Microbiología. Hospital de León. España.

Bibliografía

- Anda P, Segura del Pozo J, Díaz JM, Escudero R, García-Peña FJ, López MC, et al. Waterborne outbreak of tularemia associated with crayfish fishing. *Emerg Infect Dis*. 2001; 7 Suppl:575-82.
- Gurycova D. First isolation of *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* in Europe. *Eur J Epidemiol*. 1998;14:797-802.
- Instituto de Salud Carlos III. Centro Nacional de Epidemiología. Brote de tularemia en Castilla y León. *Boletín Epidemiológico Semanal*. 1997;5:249-52.
- Eiros JM, Rodríguez-Torres A. Tularemia. *Rev Clin Esp*. 1998;198:785-8.
- Pérez-Castrillón JL, Bachiller-Luque P, Martín-Luquero M, Mena-Martín FJ, Herreros V. Tularemia epidemic in Northwestern Spain: clinical description and therapeutic response. *Clin Infect Dis*. 2001;33:573-6.
- Montejo M, Pérez-Irezabal J, González de Zarate P, Aguirrebengoa K, Vicente JM, Martínez E, et al. Tularemia: report of 16 cases in the Castilla-Leon community. *Rev Clin Esp*. 1998;198:794-8.
- Blanco JR, Gutiérrez C, Zabalza M, Salcedo J, Erdozain I, Oteo JA. Clinical microbiological case: sore throat and painful bilateral cervical lymph nodes. *Clin Microbiol Infect*. 2001;7:637-8, 654-6.
- Klock LE, Olsen PE, Fukushima T. Tularemia epidemic associated with the deerfly. *JAMA*. 1973;226:140-52.
- Craven RB, Barnes AM. Plague and tularemia. *Infect Dis Clin North Am*. 1991;5: 165-75.
- Ohara Y, Sato T, Homma M. Arthropod-borne tularemia in Japan: clinical analysis of 1,374 cases observed between 1924 and 1996. *J Med Microbiol*. 1998;35:471-3.
- Alkorta N, Aguirrebengoa K, Pérez-Irazabal J, Ibarra S, Motejo M. Tularemia adquirida por picadura de garrapata en Castilla y León. *Rev Clin Esp*. 2000;9:528-9.
- Oteo JA, Martínez de Artoledo V, Casas JM. Tick-borne diseases in Spain. En: Abstract book 6th International Congress for Infectious Diseases; 1994 Praga.

TABLA 1. Comparación de valores de absorbancia entre los 156 sueros hemolizados y no hemolizados a los que se les realizó determinaciones serológicas por EIA

Test	Sueros positivos						Sueros negativos					
	n	Cut-off positivo	Rango de absorbancia		Δ Absorbancia ^d	p ^e	n	Cut-off negativo	Rango de absorbancia		Δ Absorbancia	P
			Hemolizados	No hemolizados					Hemolizados	No hemolizados		
AgHBs	8	0,080 ^a	0,097-3,506	0,087-3,392	0,016 ± 0,069	0,52	27	0,080 ^b	0,026-0,058	0,023-0,059	-0,0001 ± 0,05	0,87
Anti-HBs	10	0,133 ^a	0,292-4,000	0,348-3,905	-0,03 ± 0,089	0,33	19	0,133 ^b	0,036-0,127	0,045-0,101	0,055 ± 0,018	0,20
Anti-HBc	8	0,568 ^c	0,036-0,395	0,022-0,402	0,0135 ± 0,025	0,19	25	0,694 ^b	0,939-1,659	0,980-1,658	-0,004 ± 0,103	0,83
Anti-HCV	8	0,376 ^a	3,011-4,000	3,110-4,000	-0,014 ± 0,14	0,79	19	0,376 ^b	0,031-0,121	0,029-0,087	0,001 ± 0,008	0,75
Anti-HIV 1/2	8	0,484 ^a	2,514-3,729	2,812-3,677	-0,056 ± 0,17	0,36	24	0,436 ^b	0,043-0,135	0,042-0,091	-0,0185 ± 0,090	0,53

^aValor mínimo de absorbancia para considerar el resultado positivo.
^bValor máximo de absorbancia para considerar el resultado negativo.
^cValor máximo de absorbancia para considerar un resultado positivo.
^dMedia ± diferencias de absorbancia entre sueros hemolizados y no hemolizados.
^eTest de probabilidad pareado.

Interferencia de la hemólisis en las determinaciones serológicas

Sr. Editor: Actualmente se acepta que los sueros hemolizados o sueros lipémicos no son convenientes para realizar estudios serológicos¹. Sin embargo, existen guías de laboratorio e instrucciones de los propios fabricantes con información contradictoria sobre este tema: en una se advierte del uso de estos sueros y en otras se acepta. En este trabajo analizamos los resultados obtenidos con 156 sueros pertenecientes a reclusos del Centro Penitenciario de Granada recibidos en nuestro laboratorio para estudio serológico de hepatitis B (AgHBs, anti-HBs, anti-HBc), hepatitis C (anti-VHC) y de VIH (anti-VIH 1/2) ensayados en ausencia y presencia de hemólisis como detallamos seguidamente.

Se recogieron 5 ml de sangre en tubos con gel separador de polietileno tereftalato (Terumo, Venojet II, Terumo Europa, Leuven, Bélgica) y se centrifugaron a 1.500 g durante 15 min; 0,5 ml de estos sueros se alicuotaron en tubos de polipropileno. Los tubos de polipropileno y los tubos con gel separador (con el suero restante y el gel con la capa de células rojas) se congelaron a -20 °C. Después de 18 h en el congelador, las muestras se descongelaron a temperatura ambiente y la barrera del gel separador se perforó con ayuda de una varilla de vidrio de 2 mm de diámetro para favorecer el paso de hemoglobina al suero. Agitamos vigorosamente y finalmente se volvió a centrifugar de nuevo el suero. El suero en los tubos con gel separador perforado después de este proceso mostraba un color rojo, que indicaba paso de hemoglobina. Las determinaciones AgHBs, anti-HBs, anti-HBc y anti-VIH se realizaron con los tests Enzygnost Dade-Behring (Marburg, Alemania), y para el caso de anti-VHC

se utilizó Elisa Test System Ortho HVC3.0 (Ortho Clinical Diagnostics Inc Raritan, Nueva Jersey).

Seguindo las instrucciones de los fabricantes. Las muestras se dispensaron directamente utilizando un procesador de muestras Genesis Robot 150 (Tecan AG, Hombrechtikon, Suiza) y, posteriormente, la reacción inmunoenzimática y la lectura de absorbancia se realizó en un procesador de ELISA BEP III (Dade Behring).

La evaluación del efecto de la hemólisis en los tests serológicos realizados se hizo comparando los resultados cuantitativos (medidos en absorbancia) obtenidos para sueros hemolizados y sus correspondientes no hemolizados. Para evitar la variabilidad interensayo cada determinación de suero hemolizado y su pareja no hemolizado se ensayaron en la misma microplaca.

Encontramos una total concordancia en los resultados cualitativos de los 156 sueros hemolizados y no hemolizados. Tampoco encontramos diferencias significativas (test T pareado) en las medidas de absorbancia de los 156 sueros hemolizados y no hemolizados (tabla 1).

La hemólisis es un punto de interés en la química clínica, pues su presencia puede causar resultados engañosos y la sobreestimación de algunos analitos (p. ej., hidroxibutirato deshidrogenasa, aspartato transaminasa creatina, bicarbonato, potasio)²⁻⁴. La hemólisis también puede interferir en los ensayos nefelométricos de proteínas de suero⁵ y en los inmunoensayos de fluorescencia polarizada de gentamicina y vancomicina^{6,7}.

Los posibles mecanismos de interacción de la hemólisis en los enzimoanálisis (EIA) pueden darse en la reacción antígeno-anticuerpo, en la reacción de detección o en la medida del color. Sin embargo, los ensayos de EIA heterogéneos, que incluyen un

paso de lavado, son probablemente menos propensos a mostrar interferencias con la hemólisis⁸.

No hemos encontrado ningún estudio sistemático que analice la posible influencia de la hemólisis en los ensayos serológicos. Los datos de este estudio muestran que la hemólisis no interfiere significativamente en los resultados de los EIA heterogéneos utilizados en este estudio. Sin embargo, al existir en la práctica clínica una enorme variedad de inmunoensayos y de sistemas de detección de reacción antígeno-anticuerpo⁹, no es posible generalizar estos hallazgos; así, cada técnica debería ser evaluada para comprobar que la hemólisis no interfiere en los resultados de los tests empleados.

*Javier Rodríguez-Granger,
 Enrique Camacho-Muñoz,
 Antonio Sampedro
 y Manuel Rosa-Fraile*
 Servicio de Microbiología. Hospital
 Universitario Virgen de las Nieves.
 Granada. España.

Bibliografía

1. Carpenter AB. Enzyme-linked immunoassays. En: Rose NR, Conway de Macario E, Fahey JL, Folds JD, Lane HC, Nakamura RM, editors. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 5th ed. Washington: American Society for Microbiology; 1997. p. 20-9.
2. Boyanton BL Jr, Blick KE. Stability of twenty-four analytes in human plasma and serum. Clin Chem. 2002;48:2242-7.
3. Devgun MS. Delay in centrifugation and measurement of serum constituents in normal subjects. Clin Physiol Biochem. 1989;7:189-97.
4. O'Leary BJ. Interference due to haemolysis in routine photometric analysis- a survey. Ann Clin Biochem 1998;35:128-34.
5. Bossuyt X, Blanckaer NT. Evaluation of interferences in rate and fixed-time nephelometric