



# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original

## Tularemia: una década en la provincia de Soria

Carmen Aldea-Mansilla<sup>a,\*</sup>, Teresa Nebreda<sup>a</sup>, Susana García de Cruz<sup>a</sup>, Eduardo Dodero<sup>b</sup>, Raquel Escudero<sup>c</sup>, Pedro Anda<sup>c</sup> y Ángel Campos<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario de Soria, Soria, España

<sup>b</sup> Sección de Epidemiología, Servicio Territorial de Sanidad y Bienestar Social, Soria, Junta de Castilla y León, España

<sup>c</sup> Laboratorio de Espiroquetas y Patógenos especiales, Servicio de Bacteriología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 19 de agosto de 2008

Aceptado el 27 de noviembre de 2008

On-line el 6 de mayo de 2009

#### Palabras clave:

Tularemia

*Francisella tularensis*

Brote epidémico

### RESUMEN

**Introducción:** La tularemia es una enfermedad descrita en España desde hace una década. El presente estudio analiza los casos en los que se sospechó tularemia, así como los casos probables y los casos confirmados de esta enfermedad en la provincia de Soria, en comparación con los datos referidos a la tularemia en Castilla y León. Estos casos, salvo uno esporádico, se agrupan en 2 brotes epidémicos (años 1997–1998 y años 2007–2008).

**Métodos:** Se estudiaron todos los pacientes (53) con sospecha clínica de tularemia entre los años 1997 y 2008 (estudio retrospectivo de los años 1997 a 1999). El estudio microbiológico se realizó por serología (63 sueros), cultivo de sangre (10 muestras) y cultivo de líquido de absceso de adenopatía (una muestra).

**Resultados:** Durante 10 años se diagnosticaron 19 casos de tularemia en Soria: un caso esporádico en 1996, 5 casos en el brote de 1997–1998 y 13 casos en el brote de 2007–2008. El 95% de los casos tuvo contacto con liebres. La forma clínica más frecuente fue la forma ulceroganglionar (62%). Trece casos se definieron como probables (el 68% con título alto de anticuerpos) y 6 casos se definieron como confirmados (el 32%), 2 por aislamiento de la bacteria y 4 por seroconversión.

**Conclusión:** Los casos de tularemia en la provincia de Soria comparten idénticas características clínicas y epidemiológicas (formas ulceroganglionares, manipulación de liebres) con el brote de los años 1997–1998 en la comunidad de Castilla y León y se diferencian de los casos del brote de los años 2007–2008 en la comunidad (predominio de las formas tifoideas de la enfermedad y relación con el aumento de la población de topillos).

© 2008 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## Tularemia: A decade in the province of Soria (Spain)

### ABSTRACT

#### Keywords:

Tularemia

*Francisella tularensis*

Epidemic outbreak

**Introduction:** Tularemia is a zoonotic disease that has been regularly reported in Spain since 1997. This study analyzes suspected, probable, and confirmed cases of tularemia in the province of Soria, and compares them with tularemia cases recorded in the autonomous community of Castilla y León, which, with the exception of 1 sporadic case, occurred in 2 epidemic outbreaks in 1997/1998 and 2007/2008.

**Methods:** We studied all patients (53) with signs and symptoms of tularemia in the period of 1997 to 2008. Sixty-three serum samples from these patients were tested by a microagglutination assay for antibodies against *Francisella tularensis*; additionally 10 blood cultures and 1 culture of abscess exudate from an enlarged lymph node were carried out.

**Results:** Over the last decade, 19 cases of tularemia have been diagnosed in Soria (1 sporadic case in 1996, 5 associated with an outbreak reported in 1997/98 and 13 associated with an outbreak occurring in 2007/08). In 95% of the cases, previous contact with hares was reported. The ulceroglandular type was most frequently (62%) observed. *F. tularensis* was isolated on blood culture in 2 cases. The remaining patients were diagnosed by serology (4 confirmed cases, 13 probable cases).

**Conclusion:** The cases of tularemia documented in Soria showed clinical and epidemiological features (predominant ulceroglandular clinical presentation and previous contact with hares) identical to the 1997/98 tularemia outbreak in Castilla y León, but contrasted with the 2007/08 outbreak in Castilla y León where typhoidal clinical forms of the disease and a relationship with an increased rodent population (*Myrcrotus* spp) were predominant.

© 2008 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: caldeam@hsor.sacyl.es (C. Aldea-Mansilla).

## Introducción

La tularemia es una enfermedad descrita como un problema importante de salud pública en la comunidad de Castilla y León desde hace una década<sup>1-8</sup>. La incidencia de la enfermedad es baja y son muchos los casos esporádicos si bien se han descrito 2 brotes: durante los años 1997 y 1998 y durante los años 2007 y 2008. Estos brotes son diferentes en cuanto a la forma clínica mayoritariamente descrita y en cuanto a las características ambientales; es muy importante la explosión en la población de topillos que la comunidad ha experimentado en los 2 últimos años.

La tularemia es una zoonosis que afecta a mamíferos, aves, peces y anfibios, y sus reservorios principales son los lagomorfos y roedores<sup>9</sup>. El agente etiológico es *Francisella tularensis*<sup>10,11</sup>, un coccobacilo gramnegativo aerobio estricto, catalasa débilmente positiva y oxidasa negativa, muy resistente por su cápsula y una pared celular rica en ácidos grasos y lípidos, por lo que es capaz de permanecer durante semanas en el agua, en el barro y en cadáveres de animales. La familia *Francisellaceae* comprende 2 especies reconocidas: *F. tularensis* y *Francisella philomiragia*<sup>11</sup>. La especie *F. tularensis* tiene 4 subespecies: *F. tularensis tularensis* (tipo A, frecuente en América del Norte); *F. tularensis holarctica* (tipo B, frecuente en Asia y Europa); *F. tularensis novicida*, y *F. tularensis mediasiatica*.

La forma más frecuente de adquisición de la tularemia en humanos es por contacto con tejidos o fluidos corporales de mamíferos infectados o por la picadura de un artrópodo infectado. De forma menos frecuente, la enfermedad se transmite por la mordedura de animales infectados, por inhalación de aerosoles infecciosos o por ingesta de agua contaminada o carne de un animal infectado cocinada inadecuadamente. La mayoría de los casos son esporádicos pero también se pueden producir brotes en cazadores y familiares. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son fiebre, adenopatías regionales y malestar general, y en función de la sintomatología y la localización anatómica afectada hay 6 formas clínicas<sup>11</sup>: ulceroganglionar, ganglionar, oculoganglionar, orofaríngea, neumónica y tifoidea. Actualmente, también se describe una forma intestinal (dolor abdominal, vómitos y diarrea)<sup>7</sup>.

El presente estudio analiza la evolución de la tularemia en la provincia de Soria, contabiliza los casos detectados como sospechosos, probables o confirmados durante una década y compara los datos obtenidos con los datos referidos a la tularemia en la comunidad de Castilla y León.

## Material y métodos

El estudio se realizó en la provincia de Soria, comunidad de Castilla y León. La provincia tiene 90.000 habitantes aproximadamente, cuenta con un complejo hospitalario de tercer nivel y 14 centros de salud, 2 situados en la capital y el resto situados en zonas rurales de la provincia. El estudio comprende casos retrospectivos (casos consignados en 1998 y 1999) y casos prospectivos.

### Pacientes

Se estudiaron todos los pacientes con sospecha clínica de tularemia entre los años 1997 y 2008, tanto hospitalizados como procedentes de centros de salud.

### Muestras

Se incluyeron en el estudio: sueros (únicos o pareados) de todos los pacientes en los que se sospechó tularemia, hemoculti-

vos de pacientes con síndrome febril (extracción de la muestra según criterio del personal facultativo) y líquido de absceso de adenopatía obtenido por punción.

### Diagnóstico microbiológico

Se realizó mediante el cultivo de sangre en el sistema automático BacT/Alert 3D<sup>®</sup> (bioMérieux, Inc., EE. UU.). Los hemocultivos positivos se sembraron en placas de agar sangre (Agar Columbia con sangre de oveja Plus<sup>®</sup> Oxoid, Unipath España S.A., Madrid, España), agar chocolate (Agar Chocolate con Vitox<sup>®</sup> Oxoid, Unipath España S.A., Madrid, España) y agar McConkey (BBL<sup>™</sup> MacConkey Agar<sup>®</sup> Becton Dickinson and Co., Maryland, EE. UU.) y se incubaron a 37 °C durante 24 a 48 h.

Asimismo, el diagnóstico microbiológico se realizó mediante el cultivo del líquido de absceso obtenido por punción de una adenopatía en placas de agar sangre, agar chocolate, agar McConkey y medio de tioglicolato (Thio-D<sup>®</sup> bioMérieux, France) y se incubó durante 5 días a 37 °C.

La identificación de la bacteria se realizó mediante las pruebas de la catalasa y de la oxidasa, y mediante las pruebas bioquímicas del panel ID GN del sistema automático de identificación Vitek 2 Compact<sup>®</sup> (bioMérieux Inc. EE. UU.). La confirmación de la subespecie se realizó mediante PCR (*polymerase chain reaction* 'reacción en cadena de la polimerasa') y se utilizó el gen que codifica la lipoproteína de 17 kD de *Francisella* (*lprA*) como diana de amplificación, según el protocolo descrito previamente<sup>12,13</sup>.

El diagnóstico serológico se realizó mediante microaglutinación con el método descrito previamente<sup>14,15</sup> y se consideró título positivo si era igual o superior a 1/128.

### Definición de casos

Sobre la base de las definiciones establecidas en los centros de referencia y de la legislación vigente<sup>16-18</sup>, se considera:

Caso sospechoso: paciente con clínica compatible y epidemiológicamente relacionado con factores de riesgo descritos para la enfermedad.

Caso probable: paciente con clínica compatible y criterios de laboratorio de presunción:

- un suero positivo con título elevado de anticuerpos (sin seroconversión documentada) en un paciente sin historia de vacunación frente a tularemia o enfermedad previa;
- detección de *F. tularensis* en una muestra clínica por inmunofluorescencia directa, y
- detección del genoma de *F. tularensis* mediante PCR en muestras clínicas.

Caso confirmado: paciente con clínica compatible y criterios diagnósticos microbiológicos de confirmación:

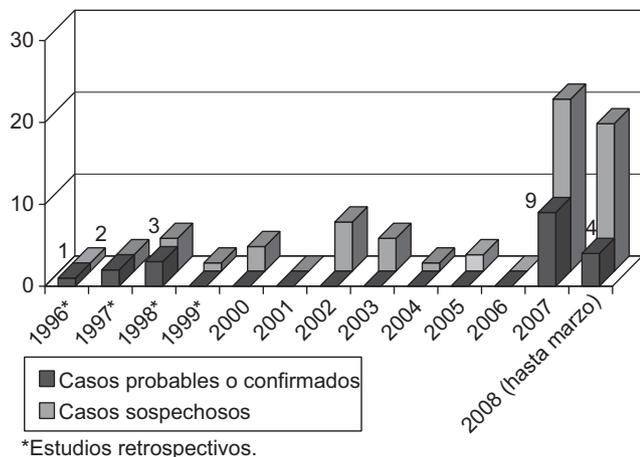
- seroconversión o aumento de 4 o más veces del título de anticuerpos obtenido entre sueros extraídos en un período de tiempo mínimo de 2 semanas, y
- aislamiento de *F. tularensis* en cultivo.

## Resultados

Durante un período de 10 años se estudió un total de 53 pacientes (32 varones y 21 mujeres) con sospecha clínica de tularemia, con edades comprendidas entre 27 y 89 años. Del total de los pacientes, se estudiaron 63 sueros (sueros únicos o pareados), 10 hemocultivos y un líquido de absceso obtenido por punción de una adenopatía.

Se diagnosticaron 19 casos de tularemia (fig. 1). Dieciocho de éstos se agruparon en 2 brotes epidémicos: 5 casos en el brote de los años 1997–1998 y 13 casos en el brote epidémico de los años 2007–2008. Únicamente, en el año 1998, se detectó un caso esporádico perteneciente al año 1996.

Las características epidemiológicas y clínicas de los casos se detallan en la tabla 1. De los 19 casos, 10 fueron mujeres y 9 fueron varones, con edades comprendidas entre 34 y 89 años (media de 59 años). Prácticamente la totalidad de los casos (18 casos [95%]) había tenido contacto con liebres (13 ejemplares como vehículo de contagio de 18 pacientes) (fig. 2) tras actividades de caza o convivientes de cazadores y sólo un paciente que vivía en el



\*Estudios retrospectivos.

Figura 1. Número de casos sospechosos y número de casos probables o confirmados durante una década.

Tabla 1. Características epidemiológicas y clínicas de los casos de tularemia de la provincia de Soria

	Caso 1996 <sup>a</sup>	Brote 1997–1998 <sup>a</sup>	Brote 2007–2008	Total n (%)
<b>Sexo</b>				
Varón		2	7	9 (47)
Mujer	1	3	6	10 (53)
<b>Reservorio y fuentes de infección</b>				
<b>Mamíferos (liebres y ciervos)</b>				
18 (95)				
Manipulación e ingestión	1	5	9	15 (80)
Inhalación			3	3 (15)
<b>Artrópodos/desconocido</b>				
Picadura/arañazo de gato			1	1 (5)
<b>Actividades y profesiones</b>				
Vivir en medio rural	1	5	5	11 (57)
Cazador		1	6	7 (36)
Convivientes de cazador		2	4	6 (31)
<b>Manifestaciones clínicas</b>				
Fiebre		5	13	18 (95)
Lesión cutánea	1	2	8	11 (57)
Adenopatías	1	3	8	12 (63)
Síntomas pulmonares			2	2 (11)
Malestar general		5	13	18 (95)
Astenia	1	5	13	19 (100)
Anemia			2	2 (11)
Dolor articular		2	1	3 (15)
Síntomas intestinales		2	1	3 (15)
Síntomas oculares		1	0	1 (5)
Síntomas orofaríngeos		3	0	3 (15)

<sup>a</sup> Estudio retrospectivo.

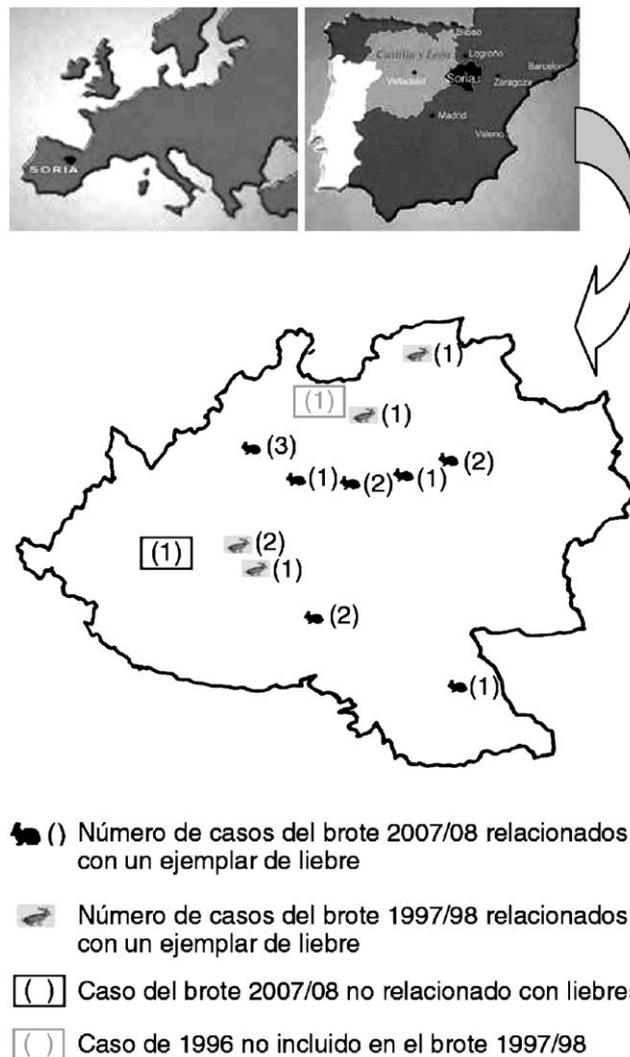


Figura 2. Mapa geográfico de las áreas en las que se produjo el contacto con liebres en los casos de tularemia.

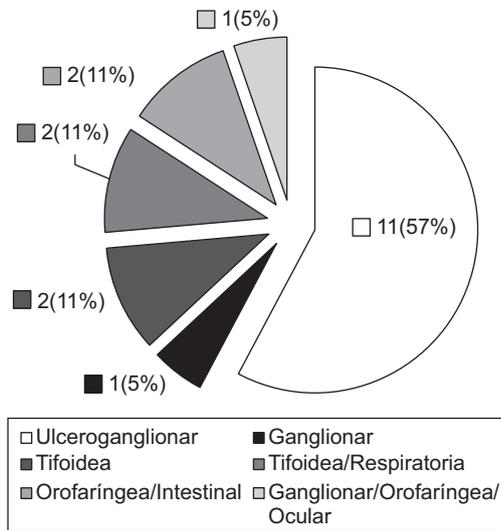
ámbito rural refirió haber tenido una picadura de artrópodo y arañazos de su gato (un caso [5%]). Los síntomas más frecuentes fueron fiebre, malestar general, astenia, lesiones cutáneas y adenopatías. Las distintas formas clínicas de la enfermedad que los casos manifestaron se incluyen en la figura 3. Las formas clínicas más frecuentes son la forma ulceroganglionar o la forma ganglionar (62%), seguidas de las formas tifoidea o tifoidea respiratoria (22%). El resto de las manifestaciones clínicas (síntomas orofaríngeos, intestinales, oculares) fueron minoritarias.

La descripción de cada uno de los casos de tularemia se detalla en la tabla 2. De los 19 casos, 13 se definieron como probables (68%) y 6 casos se definieron como confirmados (32%). Todos los casos probables se diagnosticaron por tener un título alto de anticuerpos frente a *F. tularensis*. De los casos confirmados, en 5 (83%) se evidenció seroconversión en el título de anticuerpos y en 2 casos (33%) se aisló *F. tularensis holarctica* (tipo B) en los hemocultivos.

**Discusión**

La tularemia es una enfermedad poco frecuente en España. Sin embargo, el brote descrito en Castilla y León durante los años

1997-1998<sup>16</sup> hizo que la enfermedad se considerara enfermedad de declaración obligatoria en España<sup>9,19</sup> y supuso la toma de conciencia de una infección hasta entonces no descrita en ese país.



**Figura 3.** Distribución de los casos en función de la forma o formas clínicas adoptadas.

Campos et al<sup>2</sup> describieron en 1996 de forma retrospectiva el primer caso en la provincia de Soria, lo que confirma la sospecha de que en Castilla y León había tularemia antes del brote de los años 1997-1998. En estos años se detectaron de forma retrospectiva otros 5 casos probables de tularemia en la provincia. Estos casos se asociaron al brote epidémico que afectó a la comunidad de Castilla y León y a pesar de realizarse sólo un diagnóstico serológico probable de tularemia, las pruebas clínicas y la coincidencia en el tiempo hicieron que se considerasen casos «típicos» de tularemia.

Entre los años 1999 y 2006 se estudió en Soria a 17 pacientes por sospecha clínica de tularemia pero no se diagnosticó ninguno (ni como caso probable ni como caso confirmado) de tularemia. Sin embargo, durante esos años en la comunidad de Castilla y León se declararon 26 casos esporádicos de tularemia<sup>19,20</sup> confirmados por serología. Estos datos confirman la actitud alerta de los clínicos en la sospecha de los casos de tularemia y disipan las posibles dudas de un diagnóstico infravalorado de la enfermedad.

Transcurridos 10 años del primer brote de tularemia en Castilla y León, se detectó un nuevo brote de tularemia<sup>7,21,22</sup> en la comunidad (desde junio de 2007 se han detectado casos clínicamente sospechosos). En Soria, los 13 pacientes considerados como casos probables o confirmados de tularemia en 2007-2008 difieren en el tiempo respecto al brote de Castilla y León porque se detectaron a partir de noviembre de ese mismo

**Tabla 2**  
Casos probables o confirmados durante los años 1998 y 2008 (marzo)

Número de pacientes	Sexo	Edad	Forma	Fecha de síntomas	Fecha de suero	Título de anticuerpos	Criterio diagnóstico	Caso
1	M	70	UG	Ene 1996	29-05-1998* 18-01-1999	1/128 1/128	TA	Probable
<i>Brote 1997-1998</i>								
2	M	89	UG	Ene 1998	20-01-1998* 02-07-1998	1/320 1/320	TA	Probable
3	V	72	OF, Int	Dic 1997	05-11-1998*	1/256	TA	Probable
4	M	66	OF, Int	Dic 1997	05-11-1998*	1/1024	TA	Probable
5	V	60	G, OF, O	Oct 1998	06-11-1998* 29-01-1999*	1/8192 1/2048	TA	Probable
6	M	36	UG	May 1998	13-11-1998*	1/1024	TA	Probable
<i>Brote durante 2007 y 2008</i>								
7	V	40	UG	Oct 2007	23-10-2007 21-11-2007	1/2048 1/4096	TA	Probable
8	V	48	UG	Oct 2007	07-11-2007 04-12-2007	1/1024 1/2048	TA	Probable
9	V	51	UG	Oct 2007	16-11-2007 22-01-2008	1/32768 1/4096	TA	Probable
10	V	47	UG	Oct 2007	19-11-2007	1/8192	TA	Probable
11	M	72	UG	Nov 2007	05-12-2007 26-12-2007	1/2048 1/8192	TA	Probable
12	M	53	UG	Dic 2007	17-12-2007 18-01-2008	Negativo 1/512	SC, HC	Confirmado
13	V	66	UG	Dic 2007	08-01-2008 12-02-2008	1/2048 1/4096	TA	Probable
14	V	58	G	Dic 2007	12-12-2007 18-01-2008	Negativo 1/1024	SC	Confirmado
15	M	34	TF	Ene 2008	01-02-2008 10-03-2008	1/512 1/512	TA	Probable
16	M	72	TF	Ene 2008	25-01-2008 07-02-2008	Negativo 1/512	SC	Confirmado
17	M	40	UG	Ene 2008	28-01-2008 05-03-2008	Negativo 1/512	SC	Confirmado
18	M	79	TF, Res	Ene 2008	30-01-2008 05-03-2008	Negativo 1/512	SC	Confirmado
19	V	71	TF, Res	Dic 2007	05-03-2008	1/1024	HC, TA	Confirmado

G: ganglionar; HC: hemocultivo positivo; Int: intestinal; M: mujer; O: ocular; OF: orofaríngeo; Resp: respiratoria; SC: seroconversión; TA: título alto; TF: tifoidea; UG: ulceroganglionar; V: varón.

\* Estudio retrospectivo.

año y en ellos se desarrolló una sintomatología de tularemia desde octubre de 2007 hasta marzo de 2008.

En el análisis de la distribución por edad y sexo de los casos probables o confirmados diagnosticados en la provincia de Soria, no se observaron diferencias entre varones y mujeres, lo que contrasta con otros estudios<sup>1,3,8,9</sup>. La media de edad es similar en todos los casos y series descritos en la literatura médica.

Los antecedentes epidemiológicos de contacto o manipulación de liebres<sup>6,9,23</sup> fueron muy importantes en el diagnóstico de los casos pertenecientes al brote de los años 1997–1998. Las formas clínicas de tularemia más observadas en aquel brote fueron las formas ulceroganglionares y las formas ganglionares. El brote actual en Castilla y León se originó tras cambios en diversos factores climatológicos y ambientales (temperaturas más suaves, períodos más secos) así como epidemiológicos (aumento explosivo de la población de topillos *Microtus* spp. en la región, migración de aves, mayor número de actividades al aire libre)<sup>7,21,24,25</sup> y se observó un elevado número de casos con afectación tifoidea tras infección por inhalación<sup>7,24,25</sup>. En contraposición, en la provincia de Soria el brote actual (correspondiente a los años 2007 y 2008) mantiene las características clínicas y epidemiológicas de la «tularemia típica» experimentada durante el brote de los años 1997 y 1998, con un alto porcentaje de formas clínicas ulceroganglionares y con antecedentes de contacto con liebres infectadas como vía de contagio, y no con antecedente de contacto directo con topillos. Los casos descritos en Soria con la forma tifoidea de la enfermedad también tenían antecedentes de contacto con liebres (manipulación con guantes pero sin mascarilla o convivientes de personas que despellejaron liebres). Sólo el caso del paciente que refirió haber tenido picaduras de insectos y arañazos de su gato estaría más relacionado con el contacto con topillos en su casa situada en el campo.

Según lo expuesto, no parece que los casos descritos en la provincia de Soria durante los años 2007 y 2008 estén relacionados con el brote de tularemia en el resto de las provincias pertenecientes a la comunidad de Castilla y León debido a que son casos diferidos en el tiempo, tienen diferentes formas clínicas de la enfermedad y la vía de contagio es diferente. Sin embargo, como todos los pacientes pertenecían al medio rural o realizaban actividades de caza y al haber también un aumento considerable en el número de topillos en la provincia<sup>26</sup>, no se puede descartar la relación entre la epidemia de estos roedores y la mayor tasa de infección de los lagomorfos en la provincia (la plaga de topillos implica una mayor ubicuidad de uno de los reservorios de la bacteria, lo que va a influir en una mayor presencia de la bacteria en las aguas y tierras debido a la contaminación de éstas con orinas, heces y cadáveres de los topillos, hecho que probablemente facilite la infección de otros reservorios, como los lagomorfos). Esta última hipótesis tiene que contrastarse y evaluarse con el tiempo para que se pueda demostrar.

Por último, hay que destacar la importancia del diagnóstico microbiológico por serología en la tularemia<sup>3,5,6,12,21,22</sup>. Este hecho se ve propiciado en parte por la dificultad del cultivo, al ser *F. tularensis* una bacteria exigente en sus requerimientos nutricionales y, en parte, por las manifestaciones clínicas inespecíficas, sobre todo en las formas tifoidea, orofaríngea, neumónica u ocular, que retrasan la toma de muestras para cultivo (en el presente estudio se extrajeron hemocultivos a 10 pacientes, y se aisló la bacteria únicamente en 2 pacientes, por lo que la eficacia del cultivo fue sólo del 20%). El diagnóstico indirecto requiere estudio de sueros pareados de las fases aguda y convaleciente de la enfermedad. Este estudio es esencial para clasificar los casos<sup>17,18</sup> y puede representar un sesgo en la valoración de los pacientes afectados de tularemia. Es llamativo que más de la mitad de los casos de tularemia estudiados en Castilla y León durante el brote de los años 1997–1998 se clasifiquen como casos

probables<sup>3,4,6,9,27</sup>, al realizarse el diagnóstico con un título alto de anticuerpos frente a *F. tularensis* en el único suero, o no poder evidenciar una seroconversión al obtenerse las muestras para el diagnóstico tiempo después de manifestarse los síntomas clínicos. Asimismo, en la provincia de Soria, todos los casos detectados en el año 1998 fueron estudios retrospectivos y se clasificaron como casos probables. Este hecho se repite en el brote actual (años 2007–2008) de tularemia en toda la comunidad de Castilla y León y, más en concreto, en los pacientes diagnosticados en la provincia de Soria. A pesar de aumentar el número de casos confirmados por cultivo, por técnicas de detección molecular y por seroconversión, sigue habiendo un alto porcentaje de pacientes clasificados como casos probables por diagnóstico serológico. Por esto, se considera primordial tomar muestras de los pacientes en la fase aguda de la enfermedad ante la mínima sospecha clínica de tularemia y realizar un seguimiento exhaustivo del paciente a fin de obtener segundos sueros para realizar la confirmación del diagnóstico.

A juicio de los autores del presente artículo, las diferencias entre los casos de tularemia acontecidos en la provincia de Soria y los casos de tularemia estudiados en otras provincias de la comunidad de Castilla y León recuerdan la importancia de tener una disposición activa para reconocer las nuevas formas de la enfermedad sin olvidar por eso las formas clásicas y los antecedentes epidemiológicos habituales descritos en el brote de tularemia de los años 1997–1998.

## Financiación

Este estudio ha sido financiado parcialmente por la beca n.º EM03/06 del Instituto de Salud Carlos III.

## Agradecimientos

Los autores del presente artículo agradecen a Emilia Cercenado Mansilla sus inestimables comentarios sobre este manuscrito y a Carlos Aguilar Franco por sus correcciones en la traducción. Asimismo, agradecen la colaboración de los médicos de Atención Primaria y de Atención Especializada de la provincia de Soria.

## Bibliografía

- Anda P, Segura del Pozo J, Díaz García JM, Escudero R, García Pena FJ, López Velasco MC, et al. Waterborne outbreak of tularemia associated with crayfish fishing. *Emerg Infect Dis*. 2001;7:575–82.
- Campos A, Merino FJ, Nebreda T, García-Pena FJ, Sanz-Moncasi P. Diagnóstico retrospectivo del primer caso de tularemia asociado a contacto con liebre en España. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1999;17:417–8.
- Dueñas AI, Ortega M, Garrote I, De Frutos M, Gutiérrez P, García-Pascual A, et al. Diagnóstico de laboratorio y evolución serológica de pacientes con tularemia. *Med Clin (Barc)*. 2000;114:407–10.
- González Quijada S, Rubio Díaz M, Yáñez Ortega JL, Carramiñana Martínez I, Ojeda Fernández E, Lozano García J. Tularemia: análisis de 27 casos. *Med Clin (Barc)*. 2002;119:455–7.
- Gutiérrez MP, Orduña A, Dueñas A, Bratos MA, Almaraz A, Álamo R, et al. Prevalencia de anticuerpos frente a *Francisella tularensis* en la población de Castilla y León con anterioridad a 1997. *Med Clin (Barc)*. 2003;120:97–8.
- Labayru C, Palop A, López-Urrutia L, Avellaneda C, Mazón MA, Alberte A, et al. *Francisella tularensis*: puesta a punto en el diagnóstico microbiológico tras un brote epidémico. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1999;17:458–62.
- Martín C, Gallardo MT, Mateos L, Vian E, García MJ, Ramos J, et al. Outbreak of tularemia in Castilla y León, Spain. *Euro Surveill*. 2007;12: E071108 1.
- 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.
- Eiros-Bouza JM, Hernández B, Labayru C, Vega T, Ruiz-Cosín C. Tularemia. Experiencia desde Castilla y León. En: Picazo J, Bouza E, editores. *Infección* 2002, 1ª ed. Servisistem 2000 S.L. 2002. p. 243–66.
- Chu MR, Weyant RS. *Francisella* and *Brucella*. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editores. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington, USA: ASM Press, 2003. p. 789–97.

11. Penn RL. *Francisella tularensis* (tularemia). En: Mandell GS, Bennett JE, Dolin R, editores. *Enfermedades infecciosas. Principios y práctica.* 6ª ed. Madrid, España: Elsevier SA; 2006. p. 2674–86.
12. De Carvalho IL, Escudero R, García-Amil C, Falcao H, Anda P, Nuncio MS. *Francisella tularensis*, Portugal. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:666–7.
13. Karhukorpi EK, Karhukorpi J. Rapid laboratory diagnosis of ulceroglandular tularaemia with polymerase chain reaction. *Scand J Infect Dis.* 2001;33:383–5.
14. Brown SLMF, Klein GC, Jones WL. Evaluation of a Safranin-O stained antigen microagglutination test for *Francisella tularensis* antibodies. *J Clin Microbiol.* 1980;11:146–8.
15. Massey ED, Mangiafico JA. Microagglutination test for detecting and measuring serum agglutinins of *Francisella tularensis*. *Appl Microbiol.* 1974;27:25–7.
16. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Brote de tularemia en Castilla y León. *Boletín Epidemiológico Semanal.* 1997;5:249–52.
17. Commission Decision of 17 July 2003 amending Decision No 2119/98/EC of the European Parliament and of the Council and Decision 2000/96/EC as regards communicable diseases listed in those decisions and amending Decision 2002/253/EC as regards the case definitions for communicable diseases (notified under document number C(2003)2301. Official Journal of the European Union. 2003;46.
18. Dirección General de Salud Pública. Manual de Notificación: Sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria. Junta de Castilla y León. Conserjería de Sanidad. Valladolid. 2007.
19. Martín C. Zoonosis no alimentarias en Castilla y León. Año 2004. *Boletín Epidemiológico de Castilla y León.* 2005;21.
20. Martín C. Zoonosis no alimentarias en Castilla y León. Año 2005. *Boletín Epidemiológico de Castilla y León.* 2006;21.
21. Escudero R, Álvarez E, Valverde D, Rodríguez-Tarazona RE, Gil H, Jado I, et al. Resultados de diagnóstico en un brote de tularemia en Castilla y León, España 2007–2008. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26(Espec Congr):220.
22. Garrote I, Arias M, Brezmes P, Pérez L, Sánchez-Borge B, Ballesteros P, et al. Análisis comparativo de las técnicas de aglutinación y ELISA-LPS de *Francisella tularensis* en el diagnóstico de la tularemia humana. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26(Espec Congr):125.
23. Mena FJ, Pérez JL, Martín-Luquero M, Bachiller P, Labayru C, Herreros V. Fiebre, lesiones cutáneas y adenopatías. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 1999;17:143–4.
24. Chocarro A, García I, Asensio N, González A, García G. Nuevo brote de tularemia en Castilla y León. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26(Espec Congr):30.
25. Tenorio A, Rojo S, Nogueira B, Montoya A, Barrio L, García S, et al. Influencia mediática de la plaga de topillos en Castilla y León sobre demanda analítica y resultados de tularemia. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26(Espec Congr):30.
26. B.O.C. y L. nº 61. Orden AYG/556/2007, de 19 de febrero, por la que se declara oficialmente la existencia de plaga de topillo campesino (*Microtus arvalis*) en el territorio de la Comunidad de Castilla y León. 2007.
27. Noval J, Nuño FJ, De la Fuente B, Del Valle A. Tularemia: presentación de cuatro casos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 1999;17:145–6.