

409

**PALUDISMO IMPORTADO: ESTUDIO DE 20 CASOS**

J.L. Haro González, E. Cañas García-Otero, R. Luque Márquez, C. Regordán Rosado\*, A. de Alarcón González, L. López Cortés y J.M. Flores\*\*

*Servicios de Enfermedades Infecciosas, \*Microbiología y \*\*Cuidados Intensivos. Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla.***Objetivo:** Describir las características de los casos de paludismo importado en nuestro medio.**Método:** Revisión retrospectiva de los casos de paludismo con diagnóstico parasitológico atendidos en nuestro Hospital en el período 1997-2003.**Resultados:** Analizamos 20 casos, 12 en varones, con una edad media de 38,2 años (rango 4-65 años). 16 casos se diagnosticaron en viajeros europeos (8 en turistas, 5 en cooperantes y 3 en desplazados por motivos de trabajo), y 4 en inmigrantes. La infección se adquirió predominantemente en África Occidental (65%). 10 pacientes habían realizado quimoprophilaxis, pero sólo 5 la completaron correctamente. La especie más frecuente fue *P. falciparum* (70%), seguido de *P. vivax* (20%), *P. ovale* (5%) y *P. malariae* (5%); en 1 caso se detectó una parasitación mixta. En 17 pacientes la clínica comenzó tras el regreso del viaje, con un intervalo medio de 33 días (rango 0-242). La fiebre (80%) y la plaquetopenia (45%) fueron los hallazgos iniciales más frecuentes. El intervalo medio entre el inicio de la clínica y el diagnóstico fue de 11 días (rango 0-42), y entre éste y el inicio del tratamiento, de 1 día (rango 1-12). 17 pacientes precisaron ingreso hospitalario (2 en UCI), y 6 de ellos, todos ellos con infección por *P. falciparum*, presentaron complicaciones graves: anemia severa (4), insuficiencia renal (2), coma irreversible (1) coagulopatía (1), falleciendo 1 paciente. En los casos por *P. falciparum* el tratamiento más utilizado fue la combinación de quinina y doxiciclina (10/14). 2 pacientes recidivaron a los 5 y a los 16 meses.**Conclusiones:** En nuestro medio el paludismo afecta fundamentalmente a viajeros a África Occidental, con una baja cumplimentación de la quimoprophilaxis. La especie predominante es *P. falciparum*. La fiebre y la plaquetopenia son los hallazgos iniciales más frecuentes. La evolución es generalmente favorable.

410

**PALUDISMO IMPORTADO: ASPECTOS CLINICOEPIDEMIOLÓGICOS. EXPERIENCIA EN UN HOSPITAL GENERAL**

Z. Zubero, J. Muñoz, J. Baraiaetxaburu, R. Teira, R. Cisterna\*, C. Ezpeleta\* y J.M. Santamaría

*Servicio de Enfermedades Infecciosas. \*Servicio de Microbiología. Hospital de Basurto. Bilbao.***Introducción:** El aumento de la inmigración y de los viajes intercontinentales hace que sea importante conocer la realidad del paludismo importado en nuestro medio.**Objetivos:** Describir los aspectos epidemiológicos y clínicos de los paludismos diagnosticados en la Unidad de Enfermedades Tropicales de nuestro hospital.**Material y métodos:** Estudio retrospectivo de todos los casos diagnosticados de paludismo en el período comprendido entre marzo de 1996 y octubre de 2003.**Resultados:** Se han identificado 69 casos de paludismo de los cuales 35 (50,7%) eran españoles y 34 (49,3%) eran inmigrantes. El número de casos/año se ha mantenido estable para los viajeros (4-5/año) y ha aumentado progresivamente en los inmigrantes. De los 34 inmigrantes 18 (53%) eran recién llegados y 16 (47%) residían en nuestro país y presentaron el episodio tras realizar una visita a su país de

## Sesión 20 Enfermedades emergentes

408

**TENDENCIAS DEL PALUDISMO IMPORTADO EN ESPAÑA. EXPERIENCIA EN UNA UNIDAD DE SALUD INTERNACIONAL (USI) EN VALENCIA**

I. Valero, A. Pavón, M. García, A. Andres, D. García, J.E. Ballester, V. Abril, M. García del Toro, A. Herrera y E. Ortega

*Unidad de Salud Internacional (USI). Consorcio Hospital General Universitario de Valencia***Objetivos:** Analizar las características epidemiológicas y clínicas de todos los paludismos atendidos en nuestra unidad, valorando las tendencias en los últimos años de dicha patología en nuestro país.**Material y métodos:** Estudio observacional retrospectivo sobre los datos obtenidos de las historias clínicas de los casos de paludismos atendidos en la Unidad.**Resultados:** Tenemos registrado un total 65 casos de paludismos, 24,61% del total de dichos casos se presentaron en el último año. La distribución por sexos fue de 42 hombres (64,62%) y 23 mujeres (35,38%). Once de ellos (16,96%) eran inmigrantes, procedentes del continente africano salvo un ecuatoriano; Inmigrantes con residencia en Europa (estancia media 10,5 años) 23 (35,38%). Viajeros 21 (32,37%) todos con destino al África subsahariana. Viajeros con estancias prolongadas 10 (15,38%). Los datos clínicos indicaron que la fiebre estaba presente casi en el 100% de los casos y las mialgias en el 43,08%, la cefalea, diarrea y los vómitos fueron también síntomas comunes. La anemia se presentó en 32 casos (49,23%), trombopenia 30 (46,15%) y la asociación de ambas en un 35,38%. El *Plasmodium falciparum* fue el microorganismo más frecuentemente aislado en 34 pacientes (52,31%). El tratamiento más utilizado fue la combinación de quinina con doxiciclina en 54 casos (83,08%), otros fármacos utilizados fueron: quinina +clindamicina (4 embarazadas), cloroquina+primaquina (1 caso), artesunato (1 caso) y atovaquona+proguanil en 4 casos. Solo se observó un paciente con criterios de malaria grave que requirió UCI siendo la evolución favorable en todos los casos. Respecto a la profilaxis frente a la malaria al iniciar el viaje la mayoría de viajeros turistas e inmigrantes residentes en Europa (44 casos) no tomaron profilaxis o esta fue inadecuada.**Conclusiones:** 1) La malaria importada aumenta de forma progresiva en los últimos años con un importante papel de los casos de inmigrantes residentes en España que vuelven a sus países de origen. 2) La ausencia o mala cumplimentación de la profilaxis así como la falta de un consejo especializado de forma previa al viaje está presente en la mayoría de los casos. 3) La zona de mayor riesgo de adquisición de paludismo en viajeros continua siendo África subsahariana.

origen. 24 eran varones y 10 mujeres con edades comprendidas entre 15 y 46 años (media 23). Todos procedían de África Subsahariana. El agente etiológico fue *P. falciparum* en 32 casos y *P. ovale* en 2. Ninguno de los inmigrantes que visitó su país tomó quimioprofilaxis antipalúdica. Todos evolucionaron favorablemente con el tratamiento y ninguno presentó complicaciones. Entre los viajeros había 27 varones y 8 mujeres y la media de edad era de 28 años (17-59). Los motivos de la estancia en zonas endémicas fueron turismo (21), cooperación (10) y razones laborales (4). El lugar de adquisición de la enfermedad fue África en 19 (54,3%), Latinoamérica en 13 (37,1%) y Asia en 3 (8,6%). La especie de *Plasmodium* identificada fue *P. falciparum* en 20, *P. vivax* en 14 y hubo 1 caso de infección mixta por *P. falciparum* y *P. ovale*. Solo 8 viajeros (23%) habían realizado quimioprofilaxis de forma adecuada. En la evolución 4 casos presentaron uno o más criterios de severidad y no hubo ningún fallecimiento.

**Conclusiones:** 1) El paludismo es una enfermedad cada vez más frecuente en nuestro medio como consecuencia de los viajes a zonas tropicales y fundamentalmente por el incremento de la inmigración. 2) El cuadro clínico suele ser más grave en los viajeros que en los inmigrantes. 3) En el consejo al viajero se debe insistir en un correcto cumplimiento de la profilaxis antipalúdica tanto a los españoles, como a los inmigrantes residentes en nuestro país, cuando viajan a sus lugares de origen.

## 411

### PALUDISMO EN EL ÁREA DEL MARESME (BARCELONA)

J. Fernández Fernández, G. Sauca Subias, L. Force Sanmartí, M.P. Barrufet Barque, R. Boixeda i Viu, E. Vendrell Torra, M. Bartolomé Regue, X. Balanzó Fernández y J.A. Capdevila Morell  
Consorci Sanitari del Maresme. Hospital de Mataró. Mataró.

**Objetivo:** Conocer las características epidemiológicas y clínicas del paludismo en el área del Maresme en la provincia de Barcelona.

**Material y método:** Estudio descriptivo y retrospectivo de los pacientes diagnosticados de paludismo en el Hospital de Mataró entre los años 1982 y 2003. Se analizaron variables epidemiológicas y clínicas.

**Resultados:** Se diagnosticaron 80 casos de paludismo. Se observó un predominio de varones (80%), jóvenes (90% menores de 45 años) y de origen subsahariano (95%, de los cuales 13 eran hijos de inmigrantes pero nacidos en la península). El 65% de los casos se dieron en inmigrantes a la vuelta de un retorno temporal a su país de origen. De entre los pacientes de origen africano se observó una profilaxis correcta únicamente en el 7,4%. El 49% de los casos se diagnosticaron en el período entre agosto y setiembre. El 71% estaban causados por *P. falciparum*, seguido de *P. vivax* (4,4%), *P. ovale* (3,3%) y *P. malariae* (2,2%). En un 8,8% de los casos las parasitemias fueron mixtas, no pudiéndose identificar la especie en un 10%. El grado de parasitación fue igual o inferior al 5% en el 92% de los casos en que se pudo determinar. El síntoma predominante fue la fiebre en el 94,4% de los casos. La mortalidad fue del 2,2% (dos casos, el primero de malaria cerebral y el segundo de fracaso multiorgánico, ambos con parasitemia > al 10%). Se observó un aumento progresivo del número de casos, detectándose tan solo 4 casos en el trienio 1989-1991, y 26 casos en el trienio 2001-2003.

**Conclusiones:** El paludismo es una enfermedad que debido al fenómeno migratorio se ha convertido en una enfermedad emergente en los últimos 20 años. Los datos sobre el escaso cumplimiento de la quimioprofilaxis denotan una falta de información en la población inmigrante sobre las medidas preventivas.

## 412

### PROBLEMAS EN EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL PALUDISMO IMPORTADO

A. Rodríguez Guardado, I. Huerta\*, N. Mendez\*, Y. González\*, F. Pérez\*\* y P. Suárez\*

Unidad de Enfermedades Infecciosas y \*\*Servicio de Microbiología, Hospital Central de Asturias. \*Sección de Vigilancia Epidemiológica, Dirección General de Salud Pública y Planificación.

**Introducción:** El paludismo importado es un problema creciente asociado al aumento del nº de viajes internacionales y a los fenómenos migratorios. El 90% de los viajeros que contraen malaria la manifiestan tras el regreso por lo que su diagnóstico depende de médicos y laboratorios de zonas no endémicas produciéndose retrasos que complican su pronóstico y tratamiento. Por ese motivo nos propusimos estudiar la situación diagnóstica y terapéutica de esta entidad.

**Métodos:** Se revisaron de forma retrospectiva las historias clínicas de los pacientes con un diagnóstico de paludismo confirmado microbiológicamente ocurridos en el Hospital Central de Asturias entre 1998-2003.

**Resultados:** Se diagnosticaron 16 casos de paludismo de los cuales el 50% se produjo en inmigrantes de diversa procedencia (75% de Guinea Ecuatorial) con una estancia media en España de 80 días (rango 4-240 días). El 50% restante correspondía a viajeros, de los cuales el 50% eran inmigrantes que habían viajado a sus lugares de origen, un 25% eran turistas y los restantes correspondían a viajes de cooperación y trabajo con una estancia media en el destino de 39 días (rango 15-72 días). En el caso de los viajeros el destino más frecuente fueron países africanos (62,5%). Cinco de los pacientes fueron evaluados previamente sin que se considerara el diagnóstico de malaria. Los diagnósticos erróneos más frecuentes fueron la infección viral y GEA. La media de retraso del diagnóstico desde el inicio de los síntomas fue de  $44 \pm 36$  días en los inmigrantes recién llegados y de  $6 \pm 4$  días en los viajeros ( $p = 0,0001$ ). El 69% de los casos se etiquetaron de infección por *Plasmodium sp*, el 25% por *P. falciparum* y los restantes de *P. vivax* (1 caso). Los tratamientos instaurados más frecuentes fueron: mefloquina en monoterapia (5 casos) o con doxiciclina (1 caso), quinina más doxiciclina o clindamicina (5 casos), cloroquina (4 casos). Se consideró adecuado en 5 casos. Los motivos más frecuentes de tratamiento inadecuado fueron: ausencia de tratamiento con primaquina en pacientes procedentes de zonas endémicas para *P. vivax* u *ovale* (11 casos), uso de cloroquina en pacientes procedentes de zonas cloroquin-resistentes (4 casos), inadecuada vía de administración (4 casos), duración inadecuada del tratamiento (4 casos).

**Conclusión:** El diagnóstico y tratamiento precoz del paludismo es una asignatura pendiente en muchos de nuestros hospitales. Este hecho es especialmente frecuente en inmigrantes recién llegados que presentan formas paucisintomáticas. Estos datos junto con la previsión del aumento de ésta y otras patologías importadas señalan la necesidad de crear unidades especializadas que garanticen la asistencia, diagnóstico y tratamiento de las mismas.

## 413

### GNATHOSTOMIASIS: ENFERMEDAD EMERGENTE

I. Molina\*, P. Zamarrón\*, M. Díaz\*, B. Manzanedo\*, M.G. Pérez\*, M.C. Turrientes\*, T. Gárate\*\* y R. López-Vélez\*

\*M. Tropical. Serv E. Infecciosas, Serv. Microbiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. \*\*Parasitología. ISCIII. Madrid.

**Objetivo:** *Gnathostoma sp* es un nemátodo endémico en Asia y Centroamérica que se adquiere mediante la ingesta de carne de peces, crustáceos, anfibios, reptiles y aves, cruda o po-

co cocinada. Se presenta como un síndrome de larva migrans con un amplio espectro clínico. Muy recientemente se han notificado casos importados de esta enfermedad en viajeros.

**Material y métodos:** Análisis retrospectivo de 3 casos de gnathostomiasis diagnosticados en una Unidad de referencia.

**Resultados:** Todos los casos habían viajado a una zona endémica (1 a México y 2 a Tailandia) y los tres ingirieron pescado crudo. Manifestaciones clínicas: el caso 1 presentó angioedema palpebral y lesiones cutáneas eritematosas, pruriginosas y migratorias en perine y región lumbar, el caso 2 tuvo crisis recurrentes de abdomen agudo acompañadas de lesiones cutáneas eritematosas y pruriginosas en abdomen y miembros superiores, similares a las del caso anterior, el caso 3 únicamente presentó lesiones cutáneas migratorias muy pruriginosas, también móviles en tórax y espalda. Sólo 1 tuvo eosinofilia periférica. La serología (ELISA) fue positiva en todos. El tratamiento se realizó con albendazol siendo necesaria la asociación de ivermectina en 2 pacientes, con buena respuesta en los 3 casos.

**Conclusiones:** Ante el incremento de viajes a zonas de riesgo y las costumbres culinarias de ingesta de pescado crudo, la gnathostomiasis ha de sospecharse en pacientes con antecedentes epidemiológicos, clínica compatible y serología positiva, aún en ausencia de eosinofilia.

## 414

### NEUROCISTICERCOSIS E INMIGRACIÓN

B. Manzanedo\*, M.G. Pérez\*, M. Díaz\*, I. Molina\*, P. Zamarrón\*, M.C. Turrientes\*, T. Gárate\*\* y R. López-Vélez\*  
\*M. Tropical Serv. E. Infecciosas. Serv. Microbiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. \*\*Parasitología. ISCIII. Madrid.

**Objetivos:** Estudio descriptivo retrospectivo de pacientes diagnosticados de neurocisticercosis.

**Material y métodos:** 18 pacientes inmigrantes: 11 hombres y 7 mujeres.

**Resultados:** Procedencia: 88% iberoamericanos, 5,5% asiáticos y 5,5% africanos. Media de edad: 33 años (7-45). La clínica de inicio más frecuente fue: crisis comiciales 14/18, cefalea 7/18, parálisis de par craneal 1/18, sensación de inestabilidad 1/18, infarto de tronco 1/18. Eosinofilia en 1/18. Las técnicas de imagen fueron diagnósticas en el 100% (89% TAC y 67% RMN) presentando lesiones activas el 66% e inactivas 44%. La serología específica a *T. solium* fue positiva en el 50%. El 89% recibieron tratamiento con Albendazol, 50% corticoides y 78% antiepilepticos. Se realizó seguimiento medio de 5 años en 15 de los 18 pacientes. 14 tuvieron una buena evolución clínica y 1 presentó una reacción paradójica (infarto de tronco).

**Conclusiones:** La neurocisticercosis es una causa frecuente de crisis epiléptica en inmigrantes procedentes de América latina. Existe una clara relación entre el número (14 pacientes con más de una lesión), estadio evolutivo (12 pacientes con lesiones activas) y localización (8 pacientes con lesiones parenquimatosas) con la aparición de crisis comiciales. El diagnóstico se realiza por criterios epidemiológicos, clínicos y de neuroimagen. Se objetivó mejoría clínica en aquellos pacientes que recibieron tratamiento cisticida.

## 415

### LEPRA E INMIGRACIÓN

M. Díaz, E. Gómez-Mampaso, B. Manzanedo, M.G. Pérez, I. Molina, P. Zamarrón y R. López-Vélez  
Medicina Tropical. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Microbiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

**Introducción:** La lepra es una enfermedad en declive en España que amenaza con resurgir debido al aumento de población inmigrante.

**Material y métodos:** Estudio descriptivo de seis pacientes con lepra atendidos en una unidad de referencia.

**Resultados:** Se trata de 4 varones y 2 mujeres, rango de edad de 24 a 79 años, procedentes de Colombia (2), Guinea Ecuatorial (2), Cuba (1) y Filipinas (1). El tiempo de evolución de las lesiones fue de 2 a 5 años. Se clasificaron los casos como forma lepromatosa (LL) en 3 casos, tuberculoide-borderline (TB) 1 caso, borderline-lepromatosa (BL) 1 caso y tuberculoide (TT) 1 caso. Dos de los casos habían sido diagnosticados de lepra en sus países. Cuatro fueron remitidos desde otros servicios. Se realizó un diagnóstico inicial incorrecto en 4 ocasiones: dermatomicosis, sarcoidosis cutánea, tuberculosis pulmonar y polineuropatía. El nervio más afectado fue el cubital seguido por sural, peroneal y poplitéo. Se realizó tratamiento siguiendo las pautas estándar de la OMS en todos ellos, alargándose en 2 a 18 y 28 meses por lenta respuesta. En 4 se utilizaron quinolonas, 2 presentaron anemia hemolítica por dapsona y 1 eritema nodoso leproso.

**Conclusiones:** La lepra es una enfermedad polimorfa difícil de diagnosticar. Los pacientes que presentamos ilustran formas habituales de presentación de lepra. Se debe sospechar la presencia de lepra en todo paciente inmigrante con lesiones hipopigmentadas o eritematosas anestésicas y afectación de nervios periféricos con engrosamiento neural.

## 416

### DENGUE IMPORTADO EN VIAJEROS

D. Torrús Tendero, J.M. Seguí, I. López-Azkarreta, C. López-Rodríguez, Y. Calero, S. Abad, S. Ezsol, A. Tello y J. Portilla

Servicio de Medicina Interna. Unidad de Enfermedades Infecciosas. Consulta de Enfermedades Importadas y Parasitología Clínica. Hospital General Universitario de Alicante.

**Introducción:** El dengue es una enfermedad reemergente que se observa con frecuencia creciente en los viajeros que retornan de regiones tropicales.

**Objetivo:** Describir nuestra experiencia en el diagnóstico de esta arbovirosis.

**Pacientes y métodos:** Los pacientes entraron en el protocolo del síndrome febril a la vuelta del trópico. Se diagnosticó dengue por historia clínicoepidemiológica compatible, exclusión de otras enfermedades febriles y serología positiva mediante ELISA.

**Resultados:** Durante el año 2002 se diagnosticaron 5 casos compatibles clínicamente con dengue. Los 5 eran varones con edades entre 26 – 62 años. Países de procedencia: Brasil (Río de Janeiro) 2, Puerto Rico 1, Ecuador (Esmeraldas) 1, Antillas francesas 1. Síntomas: fiebre 100%; mialgias 100%; cefalea retroocular 80%; exantema 60%. Leucopenia 100% (media: 2894/mm<sup>3</sup>); trombopenia (< 100.000/mm<sup>3</sup>) 40%. Serología (ELISA) dengue: IgM (+) en el 80% (4/5 casos). En 3 casos se realizó también frotis y gota gruesa que resultaron negativos. Todos los casos evolucionaron favorablemente sin complicaciones. En 2 casos se constató síndrome de astenia post-vírica.

**Conclusiones:** 1) El dengue debe ser considerado en el diagnóstico diferencial del síndrome febril a la vuelta del trópico. 2) La fiebre con cefalea retroocular, exantema cutáneo y leucopenia, junto con una zona geográfica compatible, es muy sugerente de dengue.

## 417

### DIAGNÓSTICO Y CARACTERIZACIÓN DE LAS INFECCIONES IMPORTADAS POR DENGUE EN VIAJEROS

C. Domingo, J. Gascón, S. Puente, R. López-Vélez, A. Téllez, F. de Ory, M. Cabrerizo, N. Reyes, J. de la Fuente, M.P. Sánchez-Seco y A. Tenorio

El diagnóstico de las infecciones por dengue en viajeros que a su regreso de áreas endémicas presentan sintomatología compatible con una infección por dengue facilita la diferen-

ciación de esta patología de otras enfermedades febres importadas. Asimismo, el correcto diagnóstico de estas infecciones puede predecir el riesgo de presentación de dengue hemorrágico en aquellos pacientes que tras una primo-infección puedan sufrir una re-infección al viajar de nuevo a zonas endémicas.

**Objetivo:** Valorar la aplicación combinada de métodos moleculares y serológicos en combinación para el diagnóstico de las infecciones por virus dengue tras un viaje a zona endémica.

**Métodos:** Entre Septiembre de 2002 y Diciembre de 2003, se realizó un estudio prospectivo en 164 viajeros que a su regreso de zonas endémicas presentaban una sintomatología compatible con una infección por virus dengue. En muestras de suero de estos pacientes se realizó una PCR genérica capaz de detectar específicamente los cuatro serotipos de dengue, estudiándose la presencia de anticuerpos IgG e IgM frente a virus Dengue por ELISA indirecto y de captura, respectivamente, empleando reactivos de origen comercial (PanBio, Australia). Las muestras que resultaron positivas por PCR fueron posteriormente secuenciadas y analizadas para la determinación tanto del serotipo como del genotipo del virus causante de la infección.

**Resultados:** Se diagnosticó infección reciente en 37 de los 164 pacientes estudiados. En 8 casos se detectó genoma viral por PCR antes de ser detectable la respuesta inmune frente a la infección. El análisis del producto de amplificación obtenido permitió la posterior caracterización del virus causante de la infección en cada uno de los casos. El diagnóstico de la infección reciente en los 29 pacientes restantes se realizó mediante la determinación de la presencia de IgM+. Además, en 18 pacientes se pudo observar la presencia de IgG indicando infección previa por virus Dengue; quedando indeterminado el momento de la infección.

**Conclusiones:** Mediante el uso de métodos de PCR sensibles y específicos se pueden evidenciar las infecciones por dengue en la fase de viremia, cuando aún no existe una respuesta inmune frente a la infección. Por otro lado, la detección del genoma viral permite caracterizar el serotipo y genotipo del virus que causa la infección, lo que facilita llevar a cabo un estudio epidemiológico más completo de este tipo de infecciones. Sin embargo, el análisis serológico es el método de elección para el diagnóstico de dengue en fases posteriores de la infección. Además, el estudio de muestras paradas de suero permite observar la seroconversión en los casos de infección primaria y evidenciar reinfecciones.

## 418

### INFECCIONES IMPORTADAS POR HANTAVIRUS EN VIAJEROS CON FRACASO RENAL AGUDO

C. Domingo, F. de Ory, M.P. Sánchez-Seco, G. Fedele, J.M. Varela, A. Marañés, A. López Montes, P. Balfagón, T. de Miguel y A. Tenorio

**Objetivo:** Las infecciones por Hantavirus son frecuentes en Europa, Asia y América. Sin embargo, los virus Puumala y Dobrava que causan nefropatías agudas, con fiebre y trombopenia en otros países europeos, no parecen circular en España, por lo que estas infecciones no se encuentran habitualmente incluidas en el diagnóstico diferencial de los casos de nefropatía aguda en nuestro país. En este estudio se describe el diagnóstico de dos casos de infección por Hantavirus detectados el último año en viajeros procedentes de áreas endémicas que presentaron sintomatología compatible con una infección por Hantavirus.

**Métodos:** Se realizó el diagnóstico de infección por Hantavirus en el suero de dos pacientes procedentes de Alemania y Rusia que presentaron un cuadro de fracaso renal agudo. En estos pacientes se estudió tanto la presencia del virus mediante un método de amplificación genómica de virus del género Hantavirus, como la presencia de anticuerpos IgM e IgG

específicos por enzimoinmunoensayo (EIA) frente a la nucleoproteína de los grupos antigenicos Puumala (PROGEN), Hantaan (PROGEN) o un ensayo genérico con una mezcla de todos los grupos antigenicos de los Hantavirus (FOCUS).

**Resultados:** En ambos pacientes se detectó la presencia de IgM e IgG frente al grupo antigenico Puumala y al genérico de Hantavirus. En ningún caso fue posible detectar genoma viral en suero, posiblemente debido al tiempo de evolución de los casos en el momento de la toma de las muestras. Ensayos de neutralización posteriores permitirán identificar específicamente al virus causante de la infección, aunque en este momento se puede señalar al virus Puumala como probable responsable de la infección en ambos casos, en base a los datos epidemiológicos y a los resultados de EIA obtenidos de cada uno de los pacientes.

**Conclusiones:** La sospecha de infección por Hantavirus debe considerarse siempre en los casos de nefropatía aguda tras un viaje reciente a países Europeos o Asiáticos, así como en las neumonías en viajeros procedentes de América. Tras la infección por Hantavirus, se desarrollan anticuerpos IgM e IgG que permiten realizar el diagnóstico serológico de los casos. Sin embargo, debido a la existencia de reactividades cruzadas entre diferentes Hantavirus, la correcta identificación del virus que causa la infección requiere la detección y secuenciación del genoma viral presente en el suero agudo o en la orina del paciente, o la realización de ensayos de seroneutralización, que permiten comparar los títulos obtenidos frente a los distintos virus.

## 419

### UTILIDAD DEL ZORRO COMO ANIMAL CENTINELA EN LA INFECCIÓN POR HANTAVIRUS

M.I. Gegúndez, J.L. Serrano\*, L. Lledó, M. Delgadillo, T. Parla, J. Ledesma, M. Beltrán y J.V. Sanz

Dpto. Microbiología y Parasitología, Universidad de Alcalá.

\*Servicio Territorial de Sanidad y Bienestar Social de Soria

**Objetivos:** Estudios seroepidemiológicos previos sobre la infección por Hantavirus en población humana española apuntan la posibilidad de que en nuestro país circulen cepas autóctonas distintas a las conocidas en Europa. Es fundamental el aislamiento de estas posibles cepas a partir de sus reservorios (roedores), lo que implica la realización de trabajos de campo que requieren importantes recursos económicos y humanos. El objetivo de este trabajo es evaluar el papel del zorro como animal centinela para la infección por Hantavirus y su posible utilidad en la determinación de áreas geográficas donde realizar futuras capturas de roedores.

**Material y métodos:** Entre los años 1998 y 2000, se obtuvieron sueros de 310 zorros abatidos en 64 localidades de la provincia de Soria que se agruparon en nueve zonas geográficas. El número de ejemplares capturados por zonas oscilaron entre 86 y 6 ejemplares. Como prueba diagnóstica se empleó una inmunofluorescencia indirecta utilizando como antígenos células Vero E6 infectadas con los virus Seoul y Puumala. Los sueros que resultaron positivos (dilución  $\geq 1:16$ ) fueron confirmados mediante una prueba de western-blot usando como antígeno la proteína N recombinante de los mismos virus (dilución del suero 1:200).

**Resultados:** Once sueros (3,55%) presentaron anticuerpos específicos. Se encontraron sueros positivos en cinco localidades diferentes con seroprevalencias que oscilaron entre el 12,50% y el 6,25% (diferencias no significativas).

**Conclusiones:** Se demuestra la presencia de infección por Hantavirus en zorros de Soria. Debido al pequeño número de zorros incluidos en varias zonas y a no tener información exacta sobre el territorio ocupado por los ejemplares seropositivos, este estudio sólo permite acotar de forma aproximada, emplazamientos donde realizar trampas de roedores. Pensamos que este tipo de trabajos deberían extenderse a otros mamíferos predadores de roedores con áreas de campeo menores.

## 420

## RESPUESTA ANTE LA ALERTA DE CIRCULACIÓN DEL VIRUS WEST NILE EN ESPAÑA

G. Fedele, F. de Ory, M.P. Sánchez-Seco, A. Vázquez, A. de la Loma, F. Simón, S. Ruiz, R. Escosa, C. Aranda, F. Molero, M. Sanz, T. Minguito, L. Hernández, M.A. Bustillo y A. Tenorio

El 03-10-2003 el Sistema de Vigilancia de West Nile (WN) francés notifica al ISCIII un caso de Encefalitis por WN en un turista francés, tres días después de su regreso de una semana de vacaciones en Villajoyosa (Alicante). WN es un flavivirus emergente, africano en su origen, transmitido por mosquitos y que se mantiene en las aves como reservorio. Su período de incubación es de 3-14 días. En los últimos años ha causado brotes esporádicos en la Cuenca Mediterránea y probablemente en España. En 1999 comienza un gran brote epidémico en América del Norte y Central, que causa actualmente miles de infecciones y cientos de muertos cada año.

**Objetivos:** 1) Caracterización epidemiológica del caso. 2) Búsqueda de evidencias de circulación del virus WN en España.

**Métodos:** La caracterización epidemiológica se realizó en colaboración con el Sistema de Vigilancia de WN en Francia. Se estudiaron 94 muestras de 80 casos de meningoencefalitis de las Comunidades de Valencia y Murcia y de Andalucía Oriental, así como 971 *pooles* con un total de 17756 mosquitos capturados en tres humedales españoles cubiertos por la Red Temática EVITAR. Como métodos de amplificación genómica se usaron un método genérico de detección de flavivirus y un método específico de detección de WN y como método de detección de anticuerpos IgM e IgG, un ELISA comercial (FOCUS).

**Resultados:** El caso quedó definitivamente caracterizado el 23-10-03, demostrándose que la infección se produjo en el departamento francés del Var, cercano a la Camarga, que sufrió un brote de encefalomielitis equina por WN el año 2000. El sistema de vigilancia francés no había detectado previamente circulación de WN. En ninguno de los *pooles* de mosquitos estudiados se detectó genoma de WN. Sólo un caso de encefalitis demostró anticuerpos IgM en suero; no pudo obtenerse muestra de seguimiento por fallecimiento del paciente, que había viajado recientemente a una región alemana con frecuente circulación de Tick Borne Encephalitis, otro flavivirus con reactividad antigenica cruzada.

**Conclusiones:** 1) No se evidenció la circulación del virus WN en España. 2) El caso índice se infectó en Francia. 3) Los sistemas de vigilancia de WN y otros arbovirus neurotropos requieren combinar la vigilancia de circulación de WN en mosquitos y aves en las áreas de riesgo con la vigilancia y diagnóstico microbiológico de meningoencefalitis no filiadas.

## 421

## NUEVAS ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS EN LA INFECIÓN POR EL VIRUS ÉBOLA

F. Lasala\*, E. Arce\*\*, J.R. Otero\*, J. Rojo\*\*, L. Barrientos\*\*\* y R. Delgado\*

1Laboratorio de Microbiología Molecular, Servicio de Microbiología, Hospital 12 de Octubre, Madrid; 2Instituto de Investigaciones Químicas, CSIC, Sevilla y 3Special Pathogens Branch, CDC, Atlanta, USA

**Introducción:** El virus Ébola (EBOV) produce un cuadro de fiebre hemorrágica que puede alcanzar un 90% de mortalidad. Hasta el momento la mayoría de los brotes han tenido lugar en África y han sido limitados, aunque existe preocupación por la posibilidad de una diseminación más extensa. La ocurrencia de los brotes en áreas remotas y la peligrosidad del manejo del virus en el laboratorio se traducen en un

escaso conocimiento de la biología y patogenia de este virus, para el que no disponemos de vacunas ni tratamiento específico. Nuestro grupo ha caracterizado recientemente al receptor de células dendríticas DC-SIGN como un importante mediador de la entrada del EBOV en la célula. Esta lectina, que reconoce un patrón especial de carbohidratos en la superficie de EBOV y VIH, parece tener un papel importante en la diseminación de la infección.

**Objetivos y materiales:** Utilizando información reciente sobre la estructura de la envuelta y su interacción con receptores, hemos estudiado la actividad de diferentes compuestos frente a EBOV. Estos experimentos se han realizado mediante un sistema de retrovirus recombinantes que permite el estudio funcional de la envuelta de forma segura y por tanto, la evaluación de compuestos que interfieran en el mecanismo de entrada del virus. Presentamos los resultados de dos de estas moléculas.

**Resultados:** Cianovirina N (CV-N) es una lectina natural que presenta alta afinidad por estructuras de azúcares presentes en la envuelta de VIH ( $IC_{50} = 1-9$  nM). Basados en la homología de la envuelta de VIH y EBOV, hemos estudiado la actividad de CV-N frente a EBOV, observando que CV-N es capaz de inhibir eficazmente la entrada de EBOV ( $IC_{50} = 90$  nM). Por otra parte, con objeto de bloquear la interacción de EBOV con el receptor DC-SIGN, hemos diseñado un compuesto multivalente basado en la estructura del dendrímero BoltornTM. Este compuesto, BH-30-SucMan, contiene 32 manosas en su superficie y puede inhibir eficazmente la entrada del virus mediada por este receptor ( $IC_{50} = 337$  nM).

**Conclusión:** La caracterización de los mecanismos y estructuras implicadas en la entrada de virus permite diseñar estrategias terapéuticas frente a nuevas dianas. Por su actividad específica a bajas concentraciones y su mecanismo de acción CV-N y BH-30-SucMan serían buenos candidatos para emplearse, solos o de forma combinada, en diferentes modelos de infección por EBOV.

## 422

## SISTEMAS DE DIAGNÓSTICO DEL SARS: PREPARACIÓN DE 4 RECOMBINANTES Y UN ANTICUERPO POLICLONAL PARA DETECCIÓN DIRECTA E INDIRECTA DE ESTE VIRUS

A.G. Camacho, J. Rojas, A. Rojas y J. Mendoza  
VIRCELL, SL. Polígono Industrial 2 de Octubre. Santa Fe. Granada.

La empresa VIRCELL, SL, interesada en el desarrollo de kits para diagnóstico de enfermedades emergentes, ha desarrollado 4 recombinantes y 1 anticuerpo polyclonal específico del coronavirus responsable del síndrome respiratorio grave y agudo (SARS). En el diseño de los mismos, se ha tenido en cuenta dos antígenos identificados gracias a la semejanza con proteínas ya descritas en otros coronavirus: un primer fragmento corresponde a la proteína S de las espículas, principal diana de la respuesta inmune del coronavirus ya que constituye la corona superficial del mismo, y una proteína que juega un papel esencial en los primeros estadios de la infección. Este fragmento de 620 pb expresa una proteína de 27 kDa que contiene un número importante de epitopos según una predicción teórica realizada mediante el software EMBOSS y una comparativa con proteínas de espícula de otros coronavirus ya caracterizados antigenicamente. En segundo lugar, los 3 fragmentos restantes pertenecen a la proteína N de la nucleocápside, descrita por Krovkin y colaboradores como el antígeno más abundante de este virus, presentándose mayoritariamente en todos los sueros de pacientes enfermos analizados por este grupo (Mol and Cell Proteomics 2.5, 2003). Estos fragmentos denominados N1, N2 y N3 expresan proteínas de 18, 15 y 20 kDa respectivamente y engloban la totalidad de la proteína de la nucleocápside. Los 4 fragmentos escogidos del genoma del virus, fueron amplificados por RT-PCR a partir de su RNA y clo-

nados en los vectores pRSET y pET-15b para llevar a cabo la expresión de los mismos en *Escherichia coli*, utilizando para ello la cepa *Rosetta BL21(DE3 pLysS)* que permite el uso de codones raros utilizados por proteínas propias de sistemas eucariotas. Los recombinantes se expresan en más de un 30% en presencia del inductor IPTG y presentan una cola de 6 histidinas en su amino terminal, lo que ha permitido su purificación a homogeneidad en más de un 98% mediante una columna de Ni 2+. La obtención de estas 4 proteínas recombinantes, nos ha permitido obtener un anticuerpo políclonal a partir de la mezcla de los mismos. Los 4 recombinantes han sido analizados frente a sueros positivos cedidos amablemente por el Dr. Matthias Niedrig del Robert Koch Institut de Berlín, dando un resultado excelente y el anticuerpo obtenido ha sido testado frente a un extracto de células infectadas con el coronavirus del SARS, obteniéndose un patrón positivo tanto para ELISA como para IFI. Estos resultados, han permitido la elaboración de un sistema de diagnóstico indirecto, utilizando los 4 recombinantes en placas de ELISA. Igualmente, en la actualidad, están siendo desarrollados un anticuerpo monoclonal y los mismos 4 recombinantes utilizando en esta ocasión el sistema de expresión de baculovirus en células *Sf9*, para su utilización en sistemas de diagnóstico mediante inmunofluorescencia.

## 423

### DETECCIÓN DE METAPNEUMOVIRUS HUMANO EN NIÑOS CON INFECCIÓN RESPIRATORIA AGUDA EN GIPUZKOA

D. Vicente, M. Montes, G. Cilla, O. Esnal y E. Pérez-Trallero  
Servicio de Microbiología, Hospital Donostia, San Sebastián.

**Introducción:** El metapneumovirus humano (HMPV) causa infección del tracto respiratorio superior e inferior en niños y adultos. Además ha sido implicado en bronquiolitis graves acompañando al VRS y más recientemente como un cofactor de gravedad en la etiología del SARS. A pesar de las investigaciones actualmente realizadas todavía se desconoce el impacto real de la infección por HMPV. El objetivo de este trabajo es actualizar nuestra previa experiencia con la infección por HMPV en niños.

**Pacientes y métodos:** Durante el período Octubre 2002-Mayo 2003 se investigó la presencia de HMPV en niños menores de 3 años con infección respiratoria aguda (>80% infección respiratoria baja). En este período se investigaron 471 muestras de aspirado nasofaríngeo (ANF) correspondientes a 440 niños de los que 306 requirieron hospitalización. Los ANF se cultivaron en las líneas celulares MDCK, A-549 y LLC-MK2 (shell vial). Se extrajo RNA de todas las muestras con fenol-cloroformo que fue convertido a c-DNA con iniciadores aleatorios. Se realizó PCR para detección de VRS (A y B), influenza (A y B) y parainfluenza. La detección de HMPV se realizó mediante PCR convencional amplificando un fragmento de 450 bp del gen codificador de la proteína F y posterior secuenciación de los amplicones (ABI 3100, Applied Biosystem).

**Resultados:** HMPV se detectó en 28 niños de los 440 investigados (6,4%). En 22 ocasiones HMPV fue el único virus detectado y en 6 se observó coinfección con VRS. El 75% (21/28) de los episodios sucedió en niños menores de 1 año, y el 32% (9/28) en menores de 3 meses. Aunque los episodios fueron más frecuentes entre Febrero y Abril (18/28), se detectaron casos en todos los meses del período investigado con la excepción de octubre. El 65% de los niños infectados por HMPV presentó afectación del tracto respiratorio inferior, siendo la bronquiolitis el diagnóstico más frecuente (12 casos). Fueron hospitalizados 18 niños, dos de ellos en la unidad de cuidados intensivos (UCI). Cinco de los seis niños que presentaron coinfección con el VRS hospitalizaron al igual que lo hicieron 13 de los 22 niños donde el HMPV fue el único virus detectado, estando entre estos últimos los dos ingresados en UCI. El análisis de las secuencias de 20 HMPV mostró dos grupos (87% de homología entre ambos), presentando cada uno de

ellos una similitud >95% con las secuencias descritas en otras partes del mundo.

**Conclusiones:** El estudio de HMPV en esta última temporada invernal confirma su comportamiento en pasados años y reafirma nuestra creencia de que es una causa frecuente de infección respiratoria baja y hospitalización en niños pequeños. En nuestro medio circulan cepas de HMPV similares a las que se detectan en otras partes del mundo.

## 424

### SEROPREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR ROBOVIRUS ENTRE EL PERSONAL DE LA UNIVERSIDAD DE ALCALÁ

M.I. Gegúndez, L. Lledó, M. Delgadillo, J.A. Orellana\*, D. Camacho\*\*, C. Massa\*\*, J.C. Ocaña\*\* y J.V. Saz.

Dpto Microbiología y Parasitología, Universidad de Alcalá,

\*Centro de Experimentación Animal, Universidad Alcalá,

\*\*Servicios de Prevención, Universidad Alcalá.

**Objetivos:** La infección por robovirus (rodent-borne virus), géneros Hantavirus y Arenavirus, pueden provocar un amplio abanico de manifestaciones clínicas en el hombre. Todas las personas en contacto directo con roedores constituyen un grupo de riesgo respecto a estas infecciones. El objetivo de este estudio es evaluar, entre el personal universitario, la posibilidad de una mayor exposición a robovirus entre las personas que trabajan con roedores de experimentación.

**Material y métodos:** Se analizó el suero de 186 trabajadores que voluntariamente quisieron participar en el estudio. Trabajaban con roedores de experimentación 54 personas (29,03%) y 30 (16,13%) tenían o habían tenido roedores como animales de compañía. Para Hantavirus, se utilizaron un ELISA comercial para IgG (FOCUS) y un western-blot como técnicas de cribaje y confirmación respectivamente. En el caso de los Arenavirus (virus de la coriomeningitis linfocitaria, vLCM), se realizó una prueba de inmunofluorescencia indirecta utilizando como antígeno células Vero E6 y células L929 infectadas con el vLCM.

**Resultados:** Cuatro personas (2,4%) presentaron anticuerpos específicos frente a Hantavirus. En ningún caso hubo relación con animales de experimentación. Respecto del vLCM, 6 sueros resultaron positivos (3,23%). Tres de ellos tenían contacto con roedores de laboratorio (5,56%), cinco con roedores como animales de compañía (16,67%,  $p < 0,0001$ ) y uno sin contacto con roedores (0,85%).

**Conclusiones:** Trabajar con animales de experimentación no supone un riesgo de infección por estos virus, lo que indica que las medidas de seguridad y control sanitario llevados a cabo en nuestro centro de experimentación animal y las empresas expendedoras de estos animales son adecuados. Por el contrario, el poseer roedores domésticos parece ser un riesgo para la infección por el vLCM. Sin embargo hay que ser cautos al interpretar este dato ya que el número de sujetos analizados es pequeño. Consideramos importante ampliar este estudio para poder confirmar estos resultados y, en su caso, identificar la causa.

## 425

### INCIDENCIA DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR GARRAPATAS EN UN ÁREA SANITARIA DE LA ZONA DE LEVANTE

A. Guerrero, F. Gimeno, J. Colomina y M. Molina

Servicio de Microbiología, Área de Diagnóstico Biológico, Hospital de La Ribera, Alcira-Valencia.

**Objetivos:** Las enfermedades transmitidas por garrapatas en España incluyen: fiebre botonosa mediterránea, fiebre recurrente endémica, tularemia, babesiosis, borreliosis de Lyme, ehrlichiosis, y una nueva enfermedad denominada DE-BONEL/TIBOLA, siendo las tres últimas las consideradas

como emergentes. Existen pocos datos epidemiológicos regionales sobre la incidencia de cada una de ellas. Por ello, el objetivo de este estudio fue conocer la incidencia de las enfermedades transmitidas por garrapatas en un área sanitaria de la zona de Levante.

**Materiales y métodos:** El estudio se realizó en el Área Sanitaria 10 de la Comunidad Valenciana, con un población dependiente de 235.000 habitantes. Se analizaron retrospectivamente los 5 últimos años, durante los cuales se detectaron 675 pacientes con sospecha clínica de enfermedades transmitidas por garrapatas. Se aceptó como criterios diagnósticos de dichas enfermedades: sospecha o documentación de picadura de garrapata, con clínica y analítica compatible, junto con exclusión razonable de otras enfermedades. Para establecer el diagnóstico microbiológico, se emplearon técnicas serológicas, cultivos bacterianos, frotis de sangre periférica o PCR según el agente etiológico a estudio. Se revisaron las historias clínicas de todos aquellos pacientes con hallazgos microbiológicos.

**Resultados:** De los 380 pacientes estudiados para borreliosis de Lyme solo 22 mostraron serología positiva para *Borrelia burgdorferi*, aunque ninguno de ellos cumplió los criterios diagnósticos del Grupo Español de Trabajo de Borreliosis de Lyme. De los 110 pacientes estudiados serológicamente para la fiebre botonosa mediterránea solo 6 mostraron serología IgG positiva para *Rickettsia conorii*. De ellos, solo uno reunía criterios diagnósticos (presencia de fiebre, mancha negra y/o erupción cutánea). Un paciente de 9 años cumplía los criterios diagnósticos de la nueva enfermedad DEBONEL/TIBOLA (picadura de garrapata en cuero cabelludo con escara periférica, adenopatía regional y alopecia residual). No se documentó ningún caso de fiebre recurrente, tularemia, babesiosis o ehrlichiosis.

**Conclusiones:** Nuestros datos sugieren que la incidencia de enfermedades transmitidas por garrapatas en el Levante es muy baja. Sin embargo este dato de incidencia puede estar en parte condicionado por una baja concienciación del clínico ante estas enfermedades.

## 426

### DETECCIÓN DE VARIANTES NO PATÓGENAS DE *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM* EN *IXODES RICINUS* DE LA PENÍNSULA IBÉRICA

A. Portillo\*, A.S. Santos\*\*, S. Santibáñez\*, J.R. Blanco\*, V. Ibarra\*, F. Bacellar\*\* y J.A. Oteo\*

\*Hospital General de La Rioja, Logroño, La Rioja, España.

\*\*Centro de Estudios de Vectores e Doenças Infecciosas. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Águas de Moura, Portugal.

**Introducción:** La anaplasmosis humana (AH) (antigua ehrlichiosis humana granulocítica) es una zoonosis emergente transmitida por garrapatas. Estudios previos han detectado una alta prevalencia de infección por *Anaplasma phagocytophilum* (anteriormente, *Ehrlichia phagocytophila*) en *Ixodes ricinus* del Norte de España (La Rioja y País Vasco). Sin embargo, hasta la fecha, en la Península Ibérica sólo se han comunicado casos esporádicos de AH. Estos hechos podrían explicarse por diferencias en la virulencia de distintas variantes de *A. phagocytophilum*.

**Objetivo:** Identificar posibles variantes de *A. phagocytophilum* en *I. ricinus* recogidos en La Rioja mediante la detección de mutaciones en el gen ARNr 16S de *Anaplasma*.

**Material y métodos:** Se analizaron 90 ejemplares de *I. ricinus* (84 adultos y 6 ninfas) recogidos de vacas en Villoslada de Cameros (La Rioja) en noviembre de 2003. El ADN se extrajo individualmente de cada garrapata. Se amplificó por PCR el gen ARNr 16S de *A. phagocytophilum* de las muestras agrupadas (cebadores GE9f y GE10r). Cuando el resultado fue positivo, se repitió la PCR con ADN de ejemplares individuales. Los amplicones obtenidos (919 pb) se secuenciaron en ambos sentidos y por duplicado. En todos los casos se incluyeron controles positivos y negativos adecuados.

**Resultados:** Mediante PCR se obtuvo una banda del tamaño esperado correspondiente al ADN mezcla proveniente de

las 6 ninfas agrupadas de *I. ricinus*. La PCR posterior de cada muestra individual demostró la presencia de *A. phagocytophilum* en una ninfa. El análisis de la secuencia de esta muestra mostró dos mutaciones puntuales en los nucleótidos 76 y 84 (G y A, respectivamente) con respecto a la secuencia del agente de la AH (nº acceso en GenBank U02521). Estos cambios corresponden a la variante 1 (AP-variante 1) descrita en EE.UU. por Massung y cols. Dichas mutaciones no se evidenciaron en el control positivo.

**Conclusiones:** Se ha detectado por primera vez en la Península Ibérica la presencia de AP- variante 1 de *A. phagocytophilum* en *I. ricinus*. Dicha variante no se ha asociado por el momento con AH, por lo que su presencia puede justificar la escasa incidencia de casos clínicos en la Península, en contraste con la alta prevalencia de infección por *A. phagocytophilum* en *I. ricinus*.

**Agradecimientos:** Financiado en parte con ayudas FIS PI021810 y G03/057, M. Sanidad y Consumo, España.

## 427

### PREVALENCIA DE ANTICUERPOS FREnte A *RICKETTSIA TYPHI* Y *RICKETTSIA CONORII* EN LA POBLACION DE LAS ISLAS CANARIAS

M. Bolaños, O.E. Santana, A. Angel-Moreno, J.L. Pérez-Arellano, M. Hernández, L. Serra-Majem, J.M. Limiñana y A.M. Martín-Sánchez

**Objetivos:** Determinar la seroprevalencia de anticuerpos frente a *Rickettsia typhi* y *Rickettsia conorii* en la población de la Comunidad Canaria y los factores epidemiológicos asociados a la infección.

**Material y métodos:** Se analizó una muestra representativa de la población de las Islas Canarias, constituida por 662 sueros de individuos con edades comprendidas entre 6 y 75 años (294 hombres y 368 mujeres). Para la detección de anticuerpos de clase IgG frente a *Rickettsia typhi* y *Rickettsia conorii* se utilizó una inmunofluorescencia indirecta (Bio-Mérieux), considerando positivos los títulos  $\geq 1/40$ . Mediante una encuesta epidemiológica se obtuvieron los datos de edad, sexo, procedencia rural o urbana, nivel socioeconómico y actividad profesional. Para el procesamiento de los datos se empleó el paquete estadístico SPSS 10.0 para Windows, considerando significativo un valor de  $p \leq 0.05$ .

**Resultados:** El 5% de la población presentó anticuerpos frente a *Rickettsia typhi* y *Rickettsia conorii*. Sólo 5 muestras fueron positivas para ambas especies de Rickettsias. La prevalencia encontrada fue igual en hombres que en mujeres y aumentaba con la edad. En el caso de la *Rickettsia typhi* estaba relacionada con la actividad agrícola. La seroprevalencia encontrada (*Rickettsia typhi*) versus (*Rickettsia conorii*) en las distintas islas fue: Gran Canaria: 3%/7%, Tenerife: 2,6%/4,2%, Lanzarote: 2,5%/0%, Fuerteventura: 2,6%/5,3%, La Gomera: 20%/2%, La Palma: 3,6%/3,6% y El Hierro: 21,4%/10,7%.

**Conclusiones:** Aunque con una baja incidencia, nuestros resultados confirmaron la existencia de tifus murino y fiebre botonosa mediterránea en las Islas Canarias, por lo que se debería extremar la vigilancia epidemiológica con el fin de incrementar la detección de casos clínicos.

## 428

### ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO DE LA INFECCIÓN POR *RICKETTSIA TYPHI* EN UN ÁREA RURAL DE ESPAÑA

L. Lledó, M.I. Gegúndez, J.V. Saz, J. Medina y M. Beltrán  
Dpto. Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Alcalá.

**Objetivos:** La información epidemiológica sobre la infección por *Rickettsia typhi* en España es escasa, ya que apenas se han investigado los vectores y los reservorios, y se carece de

datos sobre la prevalencia de la infección en la población general de numerosas regiones. En este estudio se plantea una investigación seroepidemiológica sobre la infección por *R. typhi* en las provincias de Palencia y Burgos, áreas donde predominan los entornos rurales.

**Material y métodos:** Se han estudiado 383 sueros pertenecientes a la población general. La muestra se distribuyó por sexos (52% mujeres, 48% varones) y por edades. La técnica empleada para la detección de anticuerpos específicos frente a *R. typhi* fue la inmunofluorescencia indirecta. Como antígeno se utilizaron células Vero E6 (ATCC 1586) infectadas con *R. typhi* (cepa Wilmington), utilizando como conjugado un suero anti Ig G humana. Se consideraron positivos títulos iguales o superiores a 1:80.

**Resultados:** Se encontraron 29 sueros con anticuerpos específicos, lo que representa una prevalencia del 7,5% (Palencia 8,4%, y Burgos 6%). Por sexos, la prevalencia fue del 5,5% para mujeres y del 9,7% para hombres. La edad media de los seropositivos fue de 49,5 años, con una desviación estándar de 16,5 años. Los títulos oscilaron entre 1:80 y 1:1280.

**Conclusiones:** Se confirma la presencia de infección por *R. typhi* en las dos provincias estudiadas. No se evidencian diferencias estadísticamente significativas por sexo, edad, ni localización geográfica.

## 429

### DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTA A *RICKETTSIA SLOVACA* EN PERROS Y ZORROS EN LA PROVINCIA DE SORIA

L. Lledó, J.L. Serrano\*, M.I. Gegúndez, J.V. Saz, A. González y M. Beltrán

Dpto. Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Alcalá. \*Servicio Territorial de Sanidad y Bienestar Social de Soria.

**Objetivos:** *Rickettsia slovaca*, miembro del grupo de las fiebres exantemáticas, produce un cuadro clínico denominado TIBOLA. Se transmite desde los reservorios al ser humano por la picadura de garrapatas del género *Dermacentor* (*D. marginatus*, *D. reticulatus*). Los cánidos, tanto domésticos como salvajes, tienen un papel importante en la epidemiología de muchas enfermedades infecciosas, como en el caso de ciertas rickettsiosis (*Rickettsia conorii*). El objetivo de este estudio es investigar la presencia de anticuerpos frente a *R. slovaca* en perros y zorros de la provincia de Soria.

**Material y métodos:** Durante los años 1993 a 2000, se obtuvieron 313 muestras de sangre de zorro mediante cacerías, y 73 de perros que acudieron a clínicas veterinarias en la provincia de Soria. La sangre se transportó refrigerada a 4°C al laboratorio y tras la separación del suero, éste se conservó a -20°C hasta su análisis. La técnica utilizada en el estudio fue la inmunofluorescencia indirecta (IFI). El antígeno empleado fueron células Vero E6 (ATCC 1586) infectadas con *R. slovaca* (cepa 246 CDC), y como conjugado suero anti Ig G perro (SIGMA). Los sueros con títulos iguales o superiores a 1:40 se consideraron positivos.

**Resultados:** se detectó la presencia de anticuerpos específicos frente a *R. slovaca* en 21 zorros y en 10 perros, lo que representa una prevalencia del 6.7% y del 13.7% respectivamente (diferencias estadísticamente significativas entre ambos  $p < 0.05$ ). Los títulos oscilaron entre 1:40 y 1:320 en los zorros, y entre 1:80 y 1:1280 en los perros.

**Conclusiones:** Se demuestra la existencia de infección por *R. slovaca* en cánidos domésticos y salvajes de la provincia de Soria. El relevante número de ejemplares (sobre todo perros) con anticuerpos, sugiere que el contacto humano con dichos animales puede suponer un factor de riesgo para adquirir esta infección. Estos datos obligan a seguir investigando para poder establecer la importancia de estos animales en el ciclo epidemiológico de esta bacteria en nuestro país.

## 430

### APROXIMACIÓN AL AGENTE ETIOLÓGICO DE UNA NUEVA ENFERMEDAD TRANSMITIDA POR GARRAPATAS (DEBONEL)

V. Ibarra\*, A. Portillo\*, S. Santibáñez\*, J.R. Blanco\*, A. Orduña\*\* y J.A. Oteo\*

\*Hospital de La Rioja. \*\*Universidad Valladolid.

**Introducción:** En los últimos años venimos observando en La Rioja (al igual que en otras zonas europeas), una afección transmitida por garrapatas:DEBONEL/TÍBOLA, con características epidemiológicas, de vector, clínicas y microbiológicas diferentes a las previamente descritas. Esta afección aparece en los meses fríos del año y está transmitida por *Dermacentor marginatus*. Los rasgos clínicos más destacados son la presencia de necrosis y eritema en la zona de la picadura y la existencia de linfadenopatías regionales dolorosas. Hasta el momento no se ha podido establecer de forma definitiva el agente etiológico, si bien se ha implicado a una rickettsia del grupo de las fiebres manchadas (SFG): *Rickettsia slovaca*.

**Objetivo:** Investigar, mediante técnicas de biología molecular (PCR y secuenciación) las especies de rickettsia presentes en *D. marginatus* retiradas de pacientes que desarrollaron DEBONEL.

**Material y métodos:** Entre Enero de 2001 y Enero de 2004, 20 pacientes acudieron a la consulta con las manifestaciones clínicas anteriormente descritas (DEBONEL). De ellos 8 adjuntaban la garrapata que les había picado. Las 8 fueron identificadas como *D. marginatus* adultos. Todos los ejemplares se procesaron individualmente. Tras la extracción del DNA, se amplificaron por PCR los fragmentos de los genes de *Rickettsia* sp.:*rOmpA* (PCR semianidada), *glta* y 16SrRNA (PCR convencional). Posteriormente se secuenciaron los productos amplificados para determinar la especie.

**Resultados:** En todos los ejemplares estudiados se detectó infección por rickettsias del SFG. Tras la secuenciación del gen *rOmpA* se obtuvo en 5 muestras una secuencia con un 100% de identidad con el mismo gen de *R. slovaca*, y en las 3 restantes se evidenció máxima identidad (98%) con el fragmento del gen *rOmpA* de *Rickettsia* sp. RpA4, DnS14 y DnS28.

**Conclusiones:** Todos los *D. marginatus* retirados de personas que desarrollan DEBONEL están infectados por rickettsias del SFG. Hemos identificado *R. slovaca* y *Rickettsia* sp. RpA4, DnS14 y DnS28. Estos hallazgos sugieren la implicación de más de una especie de rickettsia en la etiología de la enfermedad.

Financiado en parte con ayudas FIS PI021810 y G03/057. M. Sanidad y Consumo, España.

## 431

### SEROPREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *BORRELIA BURGDORFERI* EN CIERVOS DE LOS MONTES DE TOLEDO (CASTILLA LA MANCHA)

J. Ledesma, M.I. Gegúndez, L. Lledó, J.V. Saz y M. Beltrán

Dpto. Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Alcalá

**Objetivos:** La infección producida por *Borrelia burgdorferi* (agente etiológico de la enfermedad de Lyme) es una zoonosis que se transmite desde sus reservorios (principalmente roedores) a través de vectores (garrapatas del género *Ixodes*). Las formas adultas de estas garrapatas suelen encontrarse en animales de tamaño medio-grande como perros, ciervos, cabras..., pudiendo, por tanto, participar en la epidemiología de esta infección. El objetivo de este estudio es investigar la presencia de anticuerpos frente a *B. burgdorferi* en ciervos de los Montes de Toledo.

**Material y métodos:** Durante los años 1997 y 1998 se obtuvieron sueros de 107 ciervos (*Cervus elaphus*) mediante cacerías. Se recogieron datos de sexo, edad, peso y localización geo-

gráfica de los ejemplares. Los sueros se estudiaron mediante inmunofluorescencia indirecta, utilizando como antígeno *B. burgdorferi* (cepa B31) cultivada en medio BSK II. Como conjugado se empleó un suero de ratón anti Ig G de oveja (SIGMA). Se consideraron positivos títulos mayores o iguales a 1:64.

**Resultados:** Se detectaron 42 sueros con anticuerpos específicos frente a *B. burgdorferi*, lo que representa una prevalencia del 39,25% (23,35% para machos, 15,89% para hembras). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ni por sexo, edad, peso ni localización geográfica. Los títulos de los seropositivos oscilaron entre 1:64 y 1:256.

**Conclusiones:** Se demuestra la presencia de infección por *B. burgdorferi* en ciervos de los Montes de Toledo. La elevada prevalencia encontrada, superior a la hallada en otros estudios para estos animales y otros como suidos y lagomorfos, sugiere que el contacto humano con estos animales puede suponer un factor de riesgo para ciertos colectivos como cazadores, campesinos o turistas de la zona.