

## Infección por *Rickettsia africae*. Tres casos confirmados por reacción en cadena de la polimerasa



José A. Oteo, Aránzazu Portillo, José R. Blanco, Valvanera Ibarra y Sonia Santibáñez

Servicio de Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas. Hospital de La Rioja. Logroño. España.

**FUNDAMENTO Y OBJETIVO:** La fiebre africana transmitida por garrapatas o infección por *Rickettsia africae* es un ejemplo de las numerosas enfermedades importadas que se están registrando en los últimos años. El objetivo de este trabajo fue describir 3 casos de turistas españoles a los que se diagnosticó de infección por *R. africae* tras el regreso de un viaje a Sudáfrica.

**PACIENTES Y MÉTODO:** Se estudió a 3 pacientes con sospecha de rickettsiosis basada en antecedentes epidemiológicos y en manifestaciones clínicas (fiebre, escara y exantema). Para confirmar este diagnóstico se realizó la determinación de anticuerpos (inmunofluorescencia indirecta) frente a *Rickettsia conorii*, así como ensayos de amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del gen *rOmpA* y posterior secuenciación del ADN.

**RESULTADOS:** Se detallan aspectos epidemiológicos y clínicos de esta rickettsiosis. Las técnicas serológicas convencionales como la inmunofluorescencia se han mostrado poco útiles para el diagnóstico microbiológico. En nuestros pacientes el empleo de una técnica de PCR semianidada de un fragmento del gen *rOmpA* ha mostrado una sensibilidad del 100%.

**CONCLUSIONES:** Se presentan 3 casos confirmados de infección por *R. africae*. Las técnicas de PCR y secuenciación son herramientas de utilidad para la confirmación microbiológica de esta infección. Se debe sospechar la fiebre africana transmitida por garrapatas en pacientes que presentan cuadros febriles exantemáticos al regreso de zonas endémicas.

**Palabras clave:** *Rickettsia africae*. Garrapatas. Sudáfrica.

*Rickettsia africae* infection. Three cases confirmed by PCR

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** African tick bite fever or *Rickettsia africae* infection has been recognized as an emerging health problem in the last few years. The aim of this study was to describe 3 cases of Spanish tourists who suffered from *R. africae* infection after visiting South Africa.

**PATIENTS AND METHOD:** Three patients with a suspected rickettsial disease according to epidemiological and clinical manifestations (fever, eschar and exanthema) were studied. Antibodies against *Rickettsia conorii* were determined by IFI assays. Seminested PCR reactions (*rOmpA*) and subsequent sequence analysis of the amplified products were also carried out.

**RESULTS:** Epidemiological and clinical aspects of this rickettsiosis are described. For diagnosis of this rickettsial disease, conventional serological assays (IFI) were less useful than seminested *rOmpA* PCR reactions, which showed a sensitivity of 100% in our samples.

**CONCLUSIONS:** Three cases of *R. africae* infection are reported. PCR and subsequent sequencing of the amplicons are useful for the microbiological confirmation of this type of infection. We must think about African tick-bite fever as a possible diagnosis in patients with a febrile rash after returning from endemic areas.

**Key words:** *Rickettsia africae*. Ticks. South Africa.

Desde hace varios años, y especialmente en la presente década, se ha registrado un aumento espectacular de los viajes internacionales, lo que ha traído consigo grandes implicaciones sanitarias como el aumento de las enfermedades importadas. Uno de los ejemplos de infecciones importadas desde el África subsahariana es la fiebre africana transmitida por garrapatas, conocida en la bibliografía como *African tick bite fever* o infección por *Rickettsia africae*. Este microorganismo, descrito por primera vez como patógeno humano en 1992<sup>1</sup>, es transmitido principalmente por *Amblyomma hebraeum* y *A. variegatum*, garrapatas muy frecuentes en zonas rurales de África, que parasitan el ganado y los ungulados<sup>2</sup>. La mayoría de los pacientes se infectan en Sudáfrica, Botsuana y Zimbabue, además de la Isla de Guadalupe<sup>2-8</sup>. En los últimos años ha aumentado significativamente el número de casos declarados de esta enfermedad en Europa y Norteamérica, y se han comunicado varios brotes epidémicos en viajeros que regresaban de África<sup>2-14</sup>.

En este artículo se describen 3 casos de turistas españoles a los que se diagnosticó de infección por *R. africae* tras el regreso de un viaje a Sudáfrica. Según la revisión de la base de datos PubMed (desde el 1 de enero de 1993 hasta el 24 de septiembre de 2003; «*African tick bite fever*» and «*Rickettsia africae*» and «*Spain*»), ésta es la primera descripción de esta infección en España.

### Pacientes y método

#### Caso 1

Paciente de 46 años con antecedente de linfoma de Hodgkin a los 16 años que precisó esplenectomía y quimioterapia. En junio de 2002 viajó a Sudáfrica (frontera con Botsuana) para participar en un safari de caza. Una semana después apreció la aparición de 2 lesiones papulares levemente pruriginosas en la cara interna del brazo derecho, y sensación febril no termometrada. Tres días después regresó a España, y un día más tarde descubrió una garrapata de pequeño tamaño adherida a la cadera derecha, que extrajo previa manipulación. Cuatro días más tarde desarrolló una escara negra en la cara posterior del muslo izquierdo (12 × 19 mm), rodeada de una lesión eritematosa, acompañada de un cuadro de linfangitis regional y adenopatías inguinales del mismo

Este trabajo ha sido realizado gracias a las ayudas concedidas por el Fondo de Investigación Sanitaria (FIS P1021810 y FIS G03/G057).

Correspondencia: Dr. J. A. Oteo.  
Servicio de Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas. Hospital de La Rioja.  
Avda. Viana, 1. 26001 Logroño. La Rioja. España.  
Correo electrónico: medoteo@saludalia.com

Recibido el 1-10-2003; aceptado para su publicación el 9-11-2003.

lado (fig. 1). Además, se observaron múltiples lesiones papulares diseminadas por todo el cuerpo, algunas de ellas vesiculosas, que respetaban la palma de las manos y la planta de los pies. En el momento de su ingreso el hemograma fue normal y se apreciaban las siguientes alteraciones bioquímicas: aspartatoaminotransferasa (AST) de 60 U/l; alaninaminotransferasa (ALT) de 96 U/l; gammaglutamiltranspeptidasa de 134 U/l; fosfatasa alcalina de 128 U/l, y proteína C reactiva de 50 mg/l. Recibió tratamiento con doxiciclina (100 mg por vía oral cada 12 h) y a las 48 h el paciente se encontraba afebril, con normalización de las alteraciones analíticas y desaparición de las lesiones cutáneas una semana más tarde. El paciente completó 10 días de tratamiento. La serología frente a *Rickettsia conorii*, tanto de la fase aguda como la realizada 4 semanas después, fue negativa. Realizada una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en sangre tratada con ácido etilendiaminotetraacético y en suero de la fase aguda con cebadores previamente descritos<sup>15</sup>, se detectó en ambos casos una banda correspondiente a un fragmento de la región codificante del gen *rOmpA* (530 pb), compatible con la presencia de *Rickettsia* del grupo de las fiebres manchadas (GFM) (fig. 2). La posterior secuenciación de los productos de PCR (Genome Express, Meylan, Francia) reveló un alto grado de identidad con *R. africanae*. No se apreció seroconversión frente a rickettsias del GFM (*R. conorii*, inmunofluorescencia indirecta, BioMérieux).



Fig. 1. Escara y linfangitis de paciente con infección por *Rickettsia africanae*.

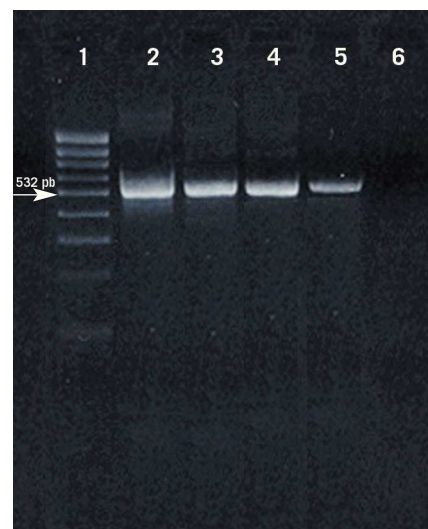


Fig. 2. Reacción en cadena de la polimerasa en muestras clínicas (sangre y suero) de pacientes con infección por *Rickettsia africanae*. Carril 1: marcador de peso molecular Hyperladder IV; carril 2: control positivo de rickettsias del grupo de las fiebres manchadas; carriles 3-5: *R. africanae* (sueros de pacientes); carril 6: control negativo (sin cebadores).

#### Caso 2

Varón de 48 años, sin antecedentes de interés, que acudió junto con el paciente antes descrito a cazar a la misma reserva. En este caso, 10 días después de regresar a España comenzó con fiebre (38,5 °C) y artromialgias generalizadas. Al día siguiente presentó un cuadro de deposiciones diarreas líquidas, sin elementos patológicos, que se autolimitó. Además apreció la aparición de lesiones foliculares y vesiculosas en la cara, el abdomen y las extremidades inferiores, que respetaron, como en el caso anterior, la palma de la mano y la planta de los pies. El paciente desconocía el antecedente de picadura de garrapata. Analíticamente destacaron los siguientes valores: AST de 47 U/l; ALT de 73 U/l y proteína C reactiva de 40 mg/l. Se instauró tratamiento con doxiciclina (100 mg por vía oral cada 12 h durante 10 días), y a las 48 h el paciente se encontraba asintomático. Las alteraciones bioquímicas se normalizaron una semana más tarde. La serología frente a *R. conorii*, tanto de la fase aguda como a las 4 semanas, resultó negativa. Al igual que en el caso anterior, las de PCR en sangre total y suero realizadas en nuestro laboratorio mostraron la presencia de *R. africanae*.

#### Caso 3

Paciente de 33 años sin antecedentes personales de interés que a los 8 días del regreso de un viaje a Sudáfrica (cacería en Zululand) comenzó con sensación de malestar general acompañada de escalofríos y de fiebre de hasta 39,5 °C. Dos días después refirió la aparición de 2 lesiones de aspecto necrótico de aproximadamente 1 cm de diámetro y borde eritematoso en la cara anterior del antebrazo, así como lesiones papulares y vesiculosas en el tórax y la cabeza. En la analítica únicamente destacaba una discreta elevación de las enzimas hepáticas (AST: 118 U/l; ALT: 136 U/l). Se instauró tratamiento con doxiciclina (100 mg por vía oral cada 12 h durante 10 días) y a las 48 h el paciente se encontraba asintomático. La serología frente a *R. conorii* en la fase aguda fue negativa, si bien presentó seroconversión (inmunoglobulina M: 1/256; inmunoglobulina G: 1/256). Las PCR en sangre total y suero realizadas en nuestro laboratorio fueron positivas, con lo que se confirmó la infección por *R. africanae*.

#### Discusión

Las modernas técnicas de cultivo y de biología molecular han permitido implicar nuevas especies de *Rickettsia* en enfermedades humanas. Así, en la última dé-

cada se han descrito nuevas rickettsiosis del GFM provocadas por *Rickettsia mongolotimonae*<sup>16</sup>, *Rickettsia slovaca*<sup>17</sup> y, más recientemente, por *Rickettsia aeschlimannii*<sup>18</sup>. En el continente africano, las especies de *Rickettsia* descritas como causantes de enfermedad son *R. conorii* y *R. africanae*. En la última década se han publicado varios artículos que inciden en la importancia de *R. africanae* como patógeno y describen los factores relacionados con esta enfermedad. Así, según algunos autores no existe una mayor incidencia de infección en relación con el sexo<sup>2,4,8</sup>; sin embargo, Fournier et al<sup>3</sup> señalan que la infección en varones supone el 84,6% de los casos (quizá por el mayor número de varones que acuden a cacerías). La mayoría de los casos se producen en la tercera y cuarta décadas de la vida<sup>2,4,8</sup>. En el 44-61,5% de los casos existe el antecedente de picadura por garrapata<sup>2,3,8</sup>. El

período de incubación es de 6 a 8 días, con un intervalo de 3-12 días<sup>2,3,19</sup>. A diferencia de la fiebre botonosa, en el 54-83% existe más de un punto de inoculación (de 3 hasta 30)<sup>2,3,19</sup>, cuestión que se explica por la gran avidez del vector de esta infección por picar a los humanos. La picadura se produce en la mayoría de los casos en las extremidades inferiores (62-77%)<sup>2,3</sup>. En el 81-100% de los pacientes existe febrícula o fiebre<sup>2,3,8</sup>. Las adenopatías están presentes en el 17-100%<sup>2,3,8,19</sup> y la linfangitis en el 33%<sup>19</sup>. En el 15,4-46% de los pacientes se hace patente la presencia de un exantema que tiene la peculiaridad de tener elementos vesiculares (no observados en la fiebre botonosa)<sup>2,3,8,19</sup>. Otras manifestaciones son mialgias (61,5-87%), artralgias (50%), hepatomegalia (83%) y estomatitis aftosa<sup>2,3,8,19</sup>. La evolución de los pacientes es favorable en el 100% de los casos, inclu-

TABLA 1

#### Propuesta de criterios diagnósticos para la infección por *Rickettsia africanae*

- A. Evidencia directa de infección por *R. africanae* mediante cultivo y/o reacción en cadena de la polimerasa
- B. Presencia de datos clínicos y epidemiológicos altamente indicativos, tales como múltiples escaras en los puntos de picadura y/o linfadenitis regional y/o exantema vesicular y/o presencia de manifestaciones clínicas similares en otros viajeros que regresaron de la misma área endémica (África subsahariana o isla de Guadalupe)  
Y además: serología positiva frente a rickettsias del grupo de las fiebres manchadas
- C. Presencia de datos clínicos y epidemiológicos altamente indicativos de una rickettsiosis del grupo de las fiebres manchadas, tales como fiebre y/o exantema cutáneo y/o una única escara en el punto de picadura tras el regreso de un área endémica (África subsahariana o isla de Guadalupe)  
Y además: Serología positiva frente a *R. africanae* (seroconversión o presencia de inmunoglobulina M  $\geq$  1/32), con un valor más elevado que frente a *Rickettsia conorii* en al menos 2 diluciones, y/o un Western blot o adsorción cruzada que muestre anticuerpos específicos frente a *R. africanae*

Se considera que un paciente está infectado cuando cumple los criterios A, B o C. (criterios diagnósticos de la fiebre africana transmitida por garrapatas del ESCAR)<sup>21</sup>.

so sin tratamiento<sup>2,4,8,19</sup>. Las alteraciones analíticas más comúnmente encontradas son leucopenia, trombocitopenia y aumento de las transaminasas<sup>3,19</sup>, aspecto común con otras rickettsiosis del GFM. Al igual que en otras rickettsiosis, el diagnóstico debe basarse en los antecedentes epidemiológicos y en las mani-festaciones clínicas (fiebre, escara y exantema), y para su confirmación se precisa el cultivo del microorganismo, la amplificación de su ADN y/o la presencia de anticuerpos específicos (tabla 1). En nuestros pacientes el diagnóstico se confirmó mediante las técnicas de PCR semianidada (realizada en nuestro laboratorio y pendiente de publicación) y secuenciación del gen *rOmpA*, común a las especies de *Rickettsia* del GFM. Además, en un paciente (caso 3) se apreció seroconversión mediante la determinación de anticuerpos (por inmunofluorescencia indirecta) frente a *R. conorii*. A este respecto, es sabido que existe reacción cruzada entre las rickettsias del GFM, por lo que la determinación de anticuerpos frente a *R. conorii* puede ser de utilidad en los laboratorios en los que no se dispone de técnicas específicas de biología molecular. No obstante, en los pacientes con infección por *R. africae* la administración temprana de doxiciclina inhibe la seroconversión y, cuando ésta sucede, es más tardía que en los pacientes con infección por *R. conorii*<sup>21</sup>.

## Agradecimiento

Queremos agradecer a la Dra. Fátima Bacellar, del Centro de Estudos de Vectores e Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Saúde de Portugal, la cesión de los controles positivos de *Rickettsia* sp.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kelly PJ, Matthewman LA, Beati L, Raoult D, Mason P, Dreary M, et al. African tick-bite fever: a new spotted fever group rickettsiosis under an old name. *Lancet* 1992;340:982-3.
- Raoult D, Fournier PE, Fenollar F, Jensenius M, Prioe T, De Pina JJ, et al. *Rickettsia africae*, a tick-borne pathogen in travelers to sub-Saharan Africa. *N Engl J Med* 2001;344:1504-10.
- Fournier PE, Roux V, Caumes E, Donzel M, Raoult D. Outbreak of *Rickettsia africae* infections in participants of an adventure race in South Africa. *Clin Infect Dis* 1998;27:316-23.
- Jensenius M, Hoel T, Raoult D, Fournier PE, Kjelshus H, Bruu AL, et al. Seroepidemiology of *Rickettsia africae* infection in Norwegian travelers to rural Africa. *Scand J Infect Dis* 2002;34:93-6.
- Tissot-Dupont H, Cornet JP, Raoult D. Identification of rickettsiae from ticks collected in the Central African Republic using the polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg* 1994;50:373-80.
- Beati L, Kelly PJ, Matthewman LA, Mason PR, Raoult D. Prevalence of rickettsia-like organisms and spotted fever group rickettsiae in ticks (Acari: ixodidae) from Zimbabwe. *J Med Entomol* 1995;32:787-92.
- Parola P, Jourdan J, Raoult D. Tick-borne infection caused by *Rickettsia africae* in the West Indies. *N Engl J Med* 1998;338:1391.
- Jensenius M, Fournier PE, Vene S, Hoel T, Hasle G, Henriksen AZ, et al. African tick bite fever in travelers to rural sub-equatorial Africa. *Clin Infect Dis* 2003;36:1411-7.
- Raoult D, Roux V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:694-719.
- Brouqui P, Harle JR, Delmont J, Frances C, Weiller PJ, Raoult D. African tick bite fever: an imported spotted rickettsiosis. *Arch Intern Med* 1997;157:119-24.
- Jensenius M, Hasle G, Henriksen AZ, Vene S, Raoult D, Bruu AL, et al. African tick-bite fever imported into Norway: presentation of 8 cases. *Scand J Infect Dis* 1999;31:131-3.
- Ericsson CD, Long J, Septimus E. African tick-bite fever: a case report. *J Travel Med* 1997;4:197.
- Fournier PE, Beytout J, Raoult D. Tick-transmitted infections in Transvaal: consider *Rickettsia africae*. *Emerg Infect Dis* 1999;5:178-81.
- Marschang A, Nothdurft HD, Kumlien S, Von Sonnenburg F. Imported rickettsiosis in German travelers. *Infection* 1995;23:94-7.
- Regnery RL, Spruill CL, Plikaytis BD. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. *J Bacteriol* 1991;173:1576-89.
- Raoult D, Brouqui P, Roux V. A new spotted-fever-group rickettsiosis. *Lancet* 1996;348:412.
- Oteo JA, Ibarra V, Blanco JR, Martínez de Artola V, Márquez FJ, Portillo A, et al. Dermacentor-borne necrosis erythema and lymphadenopathy. A new tick-borne disease. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:327-31.
- Raoult D, Fournier PE, Abboud P, Caron F. First documented human *Rickettsia aeschlimanii* infection. *Emerg Infect Dis* 2002;8:748-9.
- Caruso G, Zaslo C, Guzzo F, Granata C, Mondardini V, Guerra E, et al. Outbreak of African tick-bite in six Italian tourists returning from South Africa. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21:133-6.
- Fournier PE, Jensenius M, Laferl H, Vene S, Raoult D. Kinetics of antibody responses in *Rickettsia africae* and *Rickettsia conorii* infections. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002;9:324-8.
- ESCMID Study Group for *Coxiella*, *Anaplasma*, *Rickettsia* and *Bartonella* (ESCAR). Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe [en prensa]. *Clin Microbiol Infect* 2004.