

Ehrlichiosis y anaplasmosis humana

José Antonio Oteo^{a,b} y Philippe Brouqui^{b,c}

^aÁrea de Enfermedades Infecciosas. Complejo Hospitalario San Millán-San Pedro-De La Rioja. Logroño. España. ^bMiembros del GP (Grupo de Estudio de Patógenos Especiales de la SEIMC), ESCAR (ESCMID Study Group on *Coxiella*, *Anaplasma*, *Rickettsia* and *Bartonella*) y del European Network for Surveillance of Tick-Borne Diseases (EC QLK2-CT-2002-01293). ^cUnité des Rickettsies. CNRS UMR 6020. Faculté de Médecine. Université de la Méditerranée. Marseille. Francia.

Las ehrlichiosis y anaplasmosis humanas son enfermedades febriles agudas, transmitidas por garrapatas, y que están provocadas por diferentes especies de los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma* (*Anaplasmataceae*). En Europa sólo se han detectado casos de anaplasmosis humana granulocítica (AHG) que está provocada por *Anaplasma phagocytophilum* (denominación que engloba al anteriormente denominado agente de la ehrlichiosis humana granulocítica, *Ehrlichia phagocytophila* y *E. equi*). La AHG guarda paralelismo con la borreliosis de Lyme con la que comparte vector y reservorios. En Norteamérica, además de la AHG, existe la ehrlichiosis humana monocítica causada por *E. chaffeensis* y se han comunicado infecciones por *E. ewingii* en pacientes inmunodeprimidos. Tanto las *Ehrlichia* spp. como *A. phagocytophilum* tienen un tropismo especial por las células sanguíneas y en especial por los leucocitos/plaquetas, y provoca en los infectados una disminución importante de estos elementos. Se debe sospechar una AHG en pacientes picados por garrapatas o que están en su ambiente epidemiológico y que presenten fiebre (seudogripal), leucopenia y trombocitopenia.

Palabras clave: Ehrlichiosis. Anaplasmosis. Garrapata. *Anaplasma phagocytophilum*.

Ehrlichiosis and human anaplasmosis

Human ehrlichiosis and anaplasmosis are acute febrile tick-borne diseases caused by various species of the genera *Ehrlichia* and *Anaplasma* (*Anaplasmataceae*). To date, only cases of human granulocytic anaplasmosis (HGA) caused by *Anaplasma phagocytophilum* (formerly human granulocytic *Ehrlichia*, *Ehrlichia phagocytophila*, and *E. equi*) have been diagnosed in Europe. HGA and Lyme borreliosis are closely related diseases that share vector and reservoirs. In addition to HGA, human monocytic ehrlichiosis caused by *E. chaffeensis* has been reported in North America, as well as cases of infection due to *E. ewingii* in immunocompromised hosts. *Ehrlichia*

spp. and *A. phagocytophilum* have tropism for blood cells, especially leukocytes and platelets, causing a considerable decrease of both components in these patients. HGA should be suspected in tick-bitten patients or those who have visited an endemic area and show symptoms of flu-like fever, leukopenia and thrombocytopenia.

Key words: Ehrlichiosis. Anaplasmosis. Tick. *Anaplasma phagocytophilum*.

Introducción

Con los términos ehrlichiosis y anaplasmosis denominamos a un grupo de infecciones bacterianas transmitidas por garrapatas duras (*Ixodidae*), que afectan al ser humano y a los animales. Son de distribución universal, y están provocadas por diferentes especies de los géneros *Anaplasma* y *Ehrlichia* (familia *Anaplasmataceae*). Taxonómicamente pertenecen al orden rickettsiales (α_1 proteobacteria), y se caracterizan por ser gramnegativas, pleomórficas y de crecimiento intracelular obligado. Una característica que las diferencia de las rickettsias es que se replican en unas vacuolas derivadas de la membrana celular de las células que infectan, principalmente leucocitos y plaquetas. *Ehrlichia* sp. y *Anaplasma* sp. no crecen en los medios de cultivo habituales, y precisan para su crecimiento líneas celulares (células promielocíticas HL-60 y precursores mielomonocíticos). No se tiñen con la tinción de Gram, aunque se pueden poner de manifiesto en las células que infectan, en una especie de agregados citoplasmáticos denominados "móru-las", mediante las tinciones de Wright y Giemsa¹.

La primera descripción de una ehrlichiosis humana data de 1953. En Japón se describió el primer aislado de *E. sennetsu* en un paciente con un cuadro clínico similar a la mononucleosis infecciosa. Desde entonces se han relacionado en patología humana nuevas especies de *Ehrlichia* y *Anaplasma* y en la actualidad se considera que las ehrlichiosis (y anaplasmosis) son un problema emergente. En la tabla 1 se muestran las diferentes especies de *Ehrlichia* y *Anaplasma* relacionadas en patología humana.

Epidemiología

En el área occidental son tres las especies de ehrlichias que tienen importancia por su incidencia y potencial gravedad: *E. chaffeensis*, agente productor de la ehrlichiosis humana monocítica (EHM); *A. phagocytophilum* (denominación actual que engloba a los antiguamente denominados: agente de la ehrlichiosis humana granulocítica, *E. phagocytophila* y *E. equi*) productora de la anaplasmosis

Correspondencia: Dr. J.A. Oteo.

Área de Gestión Clínica en Enfermedades Infecciosas. Hospital de La Rioja. Avda. de Viana, 1. 26001 Logroño. España. Correo electrónico: jaoteo@hgr.seris.es

Manuscrito recibido el 25-1-2005; aceptado el 7-2-2005.

TABLA 1. Especies de *Ehrlichia* y *Anaplasma* implicadas en patología humana

Especies de <i>Ehrlichia</i> y <i>Anaplasma</i>	Vector	Distribución geográfica
<i>E. canis</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Mundial
<i>E. chaffeensis</i>	<i>Amblyomma americanum</i> <i>Dermacentor variabilis</i>	Norteamérica, Centroamérica
<i>A. phagocytophilum</i>	<i>Ixodes ricinus</i>	Europa, Norteamérica, norte de África
<i>E. ewingii</i>	<i>A. americanum</i>	Norteamérica
<i>E. sennetsu</i>	Desconocido	Japón, Malasia

humana granulocítica (AHG) (denominada antigua ehrlichiosis humana granulocítica) y *E. ewingii* responsable de un cuadro similar a la AHG en inmunodeprimidos¹. Hasta la fecha no existen datos convincentes de la presencia en Europa de otras ehrlichiosis humanas diferentes a la AHG², si bien la reciente descripción de una nueva especie de *Ehrlichia*, denominada provisionalmente *E. walkerii*, en *Ixodes ricinus* tomados de la superficie corporal de pacientes picados por esta garrapata podría justificar algunos casos dudosos de EHM diagnosticados en Europa³.

La EHM fue descrita en 1987 en Estados Unidos. Aunque en un principio se implicó a *E. canis* (agente productor de la ehrlichiosis monocítica canina) como la bacteria responsable (reacción serológica cruzada), en la actualidad sabemos que el agente causal es *E. chaffeensis*, denominada así por aislarse en Fort Chaffee (Arkansas)⁴. Desde entonces se han comunicado miles de casos de EHM en Estados Unidos. En ese mismo país, en 1994, se describió por primera vez la AHG provocada por *A. phagocytophilum*⁵ y en 1999 se descubrió que *E. ewingii*, un patógeno reconocido como agente causal de ehrlichiosis granulocítica en perros, podía también causar infección en seres humanos con inmunodepresión⁶. Tras estos hallazgos se han descrito en Estados Unidos más de 1.000 casos de AHG, lo que contrasta con los 65 casos descritos en Europa (incluida España) desde su primera descripción en Eslovenia en 1997^{2,7-9}.

En el momento de escribir esta revisión sólo se puede afirmar que *E. canis* es el causante de la ehrlichiosis canina. No obstante, esta ehrlichia, ampliamente distribuida por todo el mundo, y vehiculada por la garrapata marrón del perro, *Rhipicephalus sanguineus*, se ha descrito como patógeno humano en Venezuela¹⁰.

A pesar de que las dianas de *E. chaffeensis* y *A. phagocytophilum* son diferentes (monocitos y granulocitos, respectivamente) presentan un cuadro clínico superponible, por lo que en esta revisión se tratarán ambas entidades en conjunto, señalando las diferencias cuando estas existan. Además, al no existir datos sobre la presencia en Europa de otras ehrlichiosis humanas diferentes a AHG nos centraremos en la descripción de AHG en Europa.

Las ehrlichias y anaplasmas se mantienen en la naturaleza en un ciclo biológico similar al de la borreliosis de Lyme (garrapata-mamífero-garrapata), y los hombres son infectados ocasionalmente por la picadura de diferentes especies de garrapatas duras².

En Europa la principal garrapata implicada en la transmisión de *A. phagocytophila* es *I. ricinus*. La AHG y la

borreliosis de Lyme guardan un estrecho paralelismo, ya que comparten vector, reservorio y como tal, ambiente epidemiológico. Los pequeños mamíferos, en especial *Apodemus sylvaticus*, *A. flavicollis*, *Xores areneus* y especialmente *Clethrionomys glareolus* se han implicado como reservorio de *A. phagocytophilum*. Esta también se ha detectado en grandes mamíferos como cabras, ovejas, caballos, vacas, jabalís y perros. Al igual que sucede en la borreliosis de Lyme, las aves pueden desempeñar un papel importante en la diseminación de la enfermedad^{2,8}. En lo que respecta a la EHM, los ciervos son reservorios de *E. chaffeensis*; el vector más asociado es *Amblyomma americanum* y, en menor medida, *Dermacentor variabilis*.

El contacto con sangre de animales infectados, el empleo de hemoderivados (transfusiones) y la transmisión perinatal son vías excepcionales de adquisición de la enfermedad. La mayor incidencia de estas infecciones se produce en los meses en los que las diferentes especies de garrapatas implicadas en la transmisión de estas bacterias están más activas (primavera-verano y principio de otoño)².

En Europa se han realizado diferentes estudios de prevalencia de la infección por *A. phagocytophilum* en seres humanos y garrapatas^{2,9,11} y en ellos destaca la elevada prevalencia que se encuentra en la garrapata vector (hasta el 45%), y los pocos casos en seres humanos que se diagnostican. A este respecto se ha apuntado que es posible que algunas variedades de *A. phagocytophilum*, como la variante AP-1 descrita inicialmente en Estados Unidos, y que también se ha detectado aquí en España, en *I. ricinus* de La Rioja, no sean patógenas¹².

Patogenia

No se conoce con exactitud la fisiopatología de las ehrlichiosis y anaplasmosis. Al igual que en otras enfermedades transmitidas por garrapatas, las ehrlichias llegan a la sangre tras la picadura de una garrapata. Desde allí infectan a los leucocitos circulantes y a las células del sistema reticuloendotelial¹³. Estos microorganismos penetran en el interior de las células por fagocitosis. Una vez en el interior es posible que inhiban la fusión fagosoma-lisosoma y retrasen la apoptosis celular, facilitando la multiplicación de las bacterias. Una característica de las diferentes especies de *Ehrlichia* y *Anaplasma* es que se aglomeran en el citoplasma formando unas inclusiones que se pueden observar al microscopio óptico, denominadas mórulas. Estas mórulas se forman a los pocos días, y pueden ser observadas fundamentalmente en sangre periférica, pero también en médula ósea, sinusoides hepáticos y/o esplénicos, e incluso en las células del LCR¹. La afinidad de las diferentes especies de este tipo de bacterias por sus células diana es la responsable de las citopenias observadas (leucopenia, trombocitopenia) que en ocasiones pueden provocar grados importantes de inmunodepresión. Este hecho facilita la aparición ocasional de infecciones oportunistas.

Los principales determinantes antigénicos de las ehrlichias son las proteínas de la membrana de superficie. Si bien se cree que la infección confiere una protección duradera frente a nuevas infecciones, se han confirmado casos de reinfección por la misma especie de *Ehrlichia*. Asimismo existen datos de la posible persistencia de estas bacterias en el citoplasma de las células infectadas durante largos períodos de tiempo.

Las ehrlichiosis y anaplasmosis son infecciones sistémicas, por lo que provocan daño en diferentes órganos y sistemas, y pueden encontrarse granulomas y megacariocitosis en médula ósea, necrosis focal hepática y la existencia de un infiltrado linfocítico perivascular que afecta a hígado, meninges, cerebro, corazón, etc.¹³.

Manifestaciones clínicas y alteraciones analíticas

La AHG es una enfermedad febril aguda en la que la mayoría de los pacientes recuerdan la picadura de una garrapata en los días o semanas previos. Se han comunicado más casos en varones que en mujeres^{2,8,14}. El período de incubación varía entre 5-21 días (media: 11 días). La mayor parte de los casos europeos se han producido entre abril y octubre (época de actividad del vector) con un pico en julio². Los pacientes se presentan con fiebre de comienzo súbito (> 38,5 °C), malestar general, cefalea, mialgias y artralgias. La exploración física no muestra datos destacables, salvo la presencia ocasional de conjuntivitis y adenopatías. Las megalias no son frecuentes. Además del cuadro seudogripal pueden existir otras manifestaciones clínicas: respiratorias (tos), digestivas (náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, anorexia) y neurológicas (meningitis). La presencia de exantema es más frecuente en los pacientes con EHM y muy rara en la AHG². Más de la mitad de los pacientes requieren hospitalización durante la enfermedad en las series americanas. En la AHG europea las manifestaciones clínicas parecen menos graves, si bien algunos casos de AHG se presentan como una neumonía atípica¹⁵⁻¹⁷. Entre las complicaciones de estas afecciones se han descrito, entre otras, coagulación intravascular diseminada, dificultad respiratoria del adulto, neuropatías periféricas, parálisis facial, pancarditis y rhabdomiólisis. La inmunodepresión (leucopenia) provocada en algunas ocasiones se acompaña de infecciones oportunistas (neumonía micótica), que pueden llevar a la muerte al paciente. En Norteamérica, entre el 0 y el 5% de los pacientes con AHG fallecen, y la mayoría de las muertes se deben a infecciones oportunistas o a enfermedades concomitantes, si bien estos aspectos no se describen en la literatura médica europea².

Aunque los hallazgos de laboratorio (hematológicos y bioquímicos) son inespecíficos, estos pueden ayudar al diagnóstico^{2,14}. Así, la mayoría de los pacientes presentan en la fase aguda de la enfermedad leucopenia y trombocitopenia, además de elevación moderada de las transaminasas (aspartato aminotransferasa y alalino aminotransferasa), lactato deshidrogenasa y proteína C reactiva. Estas alteraciones se suelen resolver en la AHG europea en unos 14 días del inicio del cuadro¹⁴. En los pacientes con AHG que presentan signos meníngeos, el análisis del LCR suele ser normal, a diferencia de los pacientes con EHM en los que se observa pleocitosis linfocitaria, con aumento de proteínas, y mayor prevalencia de clínica neurológica¹⁸. La glucorraquia suele encontrarse en los límites de la normalidad².

Por último, se debe recordar que puesto que los vectores de estas bacterias pueden transmitir otras enfermedades como la borreliosis de Lyme, encefalitis centroeuropea o las babesiosis, se puede dar el caso de que coexista más de una enfermedad en el paciente picado por garrapatas, y observarse manifestaciones clínicas de más de una de ellas¹⁹.

Diagnóstico

Recogida y conservación de las muestras

Para el aislamiento de *A. phagocytophilum* se debe obtener sangre durante la fase aguda de la enfermedad, que es cuando existe la mayor concentración de leucocitos infectados en sangre periférica. La sangre debe ser extraída preferiblemente en tubos de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), y preservada a temperatura ambiente no más de 48 h o congelada a -20 °C antes de la inoculación en los medios de cultivo. La sangre infectada con *A. phagocytophilum* recogida en tubos de heparina también se ha mostrado útil para el cultivo durante 10 días a temperatura ambiente y hasta 13 días conservada a 4 °C. No obstante, se recomienda no utilizar estos tubos ya que comprometen su posterior utilización para la posible amplificación del genoma mediante técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)¹⁴.

Para el diagnóstico serológico se deben tomar al menos dos muestras de suero, una durante la fase aguda y otra a los 14-21 días en la fase de convalecencia. Se debe tener en cuenta que los anticuerpos pueden persistir durante años tras la infección²⁰. Si el suero no va a ser procesado rápidamente es mejor congelarlo¹⁴.

Para la observación de leucocitos infectados lo mejor es preparar las extensiones de sangre periférica inmediatamente después de la extracción de sangre. Deben secarse al aire y conservarse a temperatura ambiente para su observación¹⁴.

Técnicas diagnósticas

Cultivo

Se realiza en muy pocos centros, y para su realización se recomienda un laboratorio con un grado mínimo de seguridad de tipo 3. La línea celular más empleada para el cultivo de *A. phagocytophilum* es la de células promielocíticas leucémicas HL-60. La sangre fresca (100 µl), o 5 ml de la capa leucocitaria de sangre en EDTA congelada previamente a -20 °C debe ser inoculada en frascos de 25 cm² con células HL-60 con una densidad de 2 · 10⁵ células. La infección puede ser comprobada mediante tinciones de Giemsa, y generalmente son visibles mórulas a los 3-7 días de la inoculación^{14,21}.

Serología

La serología es la técnica de laboratorio más utilizada para el diagnóstico microbiológico de estas infecciones. Dentro de las diferentes técnicas serológicas, la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) es la más empleada. En la actualidad se dispone de diferentes antígenos (tabla 2) para el diagnóstico de la AHG, que bien son preparados con sustrato de células infectadas o con antígenos puros. Su mayor limitación es la existencia de reacciones cruzadas entre las diferentes especies de *Ehrlichia* y *Anaplasma*. No obstante, al no existir en Europa ninguna prueba que haya demostrado la presencia de otras ehrlichiosis humanas diferentes a la de la AHG, ante un cuadro clínico indicativo, una serología positiva ha de hacernos pensar en una AHG. También se han descrito reacciones cruzadas entre estas bacterias y otros rickettsiales, como *R. rickettsii* y *R. typhi*. En nuestra experiencia también se pueden producir reacciones cruzadas en la mononucleosis infecciosa, en la fiebre Q y en la infección por *R. slovaca*^{14,22,23}.

TABLA 2. Pruebas de IFI frente a *A. phagocytophilum* en seres humanos

Laboratorio	IFI	IgG, (S/E), IgM (S/E)	Antígeno	Prueba comercial
Unité des Rickettsies, Francia ^a Cepa Webster	IgG, IgM	(80/92,7), (40/94,1)	<i>A. phagocytophilum</i> (aislada en seres humanos)	No
Kalmar Country Hospital, Suecia ^b Institute for Microbiology	IgG IgG	No evaluado No evaluado	SMA 308 (aislada en Suecia) USG3 (aislada en garrapatas)	No No
and Immunology, Eslovenia ^c University of Zurich, Suiza ^d	IgG	No evaluado	<i>A. phagocytophilum</i> cepa Swiss	No
MRL Diagnostics, EE.UU. ^e	IgG, IgM	(86,6/92,7), (33/98)	<i>A. phagocytophilum</i> (cepa HGE 1 aislada en seres humanos)	Sí
Pettenkofer-Institute, Alemania ^f	IgG, IgM	No evaluado	<i>A. phagocytophilum</i> (aislada en seres humanos)	No

^aUnité des Rickettsies, Faculté de Médecine, 27 bd J. Moulin, 13385 Marseille cedex 5, Francia. Correo electrónico: didier.raoult@medecine.univ-mrs.fr.

^bDepartment of Clinical Microbiology, Research Center for Zoonotic Ecology and Epidemiology, Kalmar Country Hospital, 391 85 Kalmar, Suecia.

Correo electrónico: anneli.bjoersdorff@ltkalmar.se.

^cInstitute for Microbiology and Immunology, Medical Faculty, Ljubljana, Eslovenia. Correo electrónico: tatjana.avsic@mf.unilj.si.

^dDepartment of Veterinary Internal Medicine, University of Zurich, Winterthurerstrasse 260, CH-8057 Zurich, Suiza.

^eMRL Diagnostics, Cypress, CA, EE.UU.

^fMax von Pettenkofer-Institute, Consiliary Laboratory for Ehrlichiae, University of Munich, Pettenkofer-Strasse 9a, D80336 München, Alemania.

Correo electrónico: Bettina.Wilske@mvp-bak.med.uni-muenchen.de.

IFI: inmunofluorescencia indirecta; S: sensibilidad; E: especificidad.

Tomada de Brouqui et al¹⁴.

TABLA 3. Dianas de ADN usadas para la detección de *Anaplasma phagocytophilum* en muestras de pacientes

Genes usados	Cebadores	Método	Muestra	S/E
<i>ARNr 16S</i>	GE9f, 5'-AACGGATTATCTTTATAGCTTGCT-3' GE10r, 5'-GGAGATTAGATCCTTCTTAACGGAA-3'	PCR	Sangre	86%/100%
<i>ARNr 16S</i>	EC9, 5'-AAGGATCTACCTTGTTACGACTT-3' EC12, 5'-AATCTAGATTAGATACCT(A/T/G)GTAGTCC-3' GE9f, 5'-AACGGATTATCTTTATAGCTTGCT-3' GE10r, 5'-GGAGATTAGATCCTTCTTAACGGAA-3'	PCR anidada	Suero	No evaluado
<i>Epank1</i>	LA6, 5'-GAGAGATGCTTATGGTAAGAC-3' LA1, 5'-CGTTCAGCCATCATTGTGAC-3'	PCR	Sangre	95%/100%
<i>HGE 44</i>	No publicado P44f1, 5'-TTGATCTTGAGATTGGTTACG-3'	PCR	Sangre	No evaluado
<i>P44 (msp2)</i>	P44r1, 5'-GGCAGATCATCATAAACRCC-3'	PCR anidada suicida	Suero	No evaluado
Secuencia paróloga	P44f2, 5'-CAAGGGTATTAGAGATAGT-3' P44r2, 5'-AAACTGAACAATATCCTTAC-3' HS1, 5'-TGGGCTGGTA(A/C)TGAAAT-3'			
<i>GroESL</i>	HS6, 5'-CCICIGGIACIA(C/T)ACCTTC-3' HS43, 5'-AT(A/T)GC(A/T)AA(G/A)GAAGCATAGTC-3' HS45, 5'-ACTTCACG(C/T)(C/T)TCATAGAC-3'	PCR anidada	Sangre	No evaluado

S: sensibilidad; E: especificidad; PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

Tomada de Brouqui et al¹⁴.

Detección molecular

Se realiza mediante métodos basados en la PCR. Estos métodos no están estandarizados y pueden mostrar resultados discrepantes. Se ha logrado la detección de ADN de *A. phagocytophilum* de sangre y de suero en la fase aguda. En la actualidad se dispone de múltiples dianas, habiéndose demostrado como más sensibles los fragmentos del gen *epank*, los fragmentos homólogos del gen *msp2*, o los que amplifican un fragmento del gen *ARNr 16S*²⁴⁻²⁶. En todo caso cualquier fragmento amplificado con cualquiera de las dianas que se expresan en la tabla 3 debe secuenciarse para confirmar la presencia de ADN específico¹⁴.

Criterios diagnósticos

El diagnóstico de las ehrlichiosis y anaplasmosis requiere una gran sospecha clínica. Los hallazgos de laboratorio (trombocitopenia, leucopenia y aumento de las transaminasas) y los antecedentes epidemiológicos nos deben hacer sospechar esta posibilidad. Estas infecciones deben tenerse en cuenta en aquellos individuos previamente sanos que

presentan fiebre tras realizar actividades al aire libre y en aquellos pacientes que refieren el antecedente de picadura de garrapata y que no responden al tratamiento con beta-lactámicos o macrólidos, especialmente en áreas endémicas para la borreliosis de Lyme. La normalidad de los parámetros analíticos no descarta la enfermedad^{2,14,27}. En la tabla 4 se exponen los criterios de la European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Group for *Coxiella*, *Rickettsia*, *Anaplasma* and *Bartonella* (ESCAR) para el diagnóstico de la AHG¹⁴. Existen también criterios de los Centers for Diseases Control and Prevention (CDC) para el diagnóstico de la AHM y AHG²⁸.

Profilaxis

Las ehrlichiosis y anaplasmosis se previenen evitando la picadura de las garrapatas. A este respecto, llevar una indumentaria adecuada en los lugares boscosos y con hierba alta, el uso de repelentes y la revisión del cuerpo tras

TABLA 4. Propuestas para la definición de casos de AHG del ESCAR

Anaplasmosis humana confirmada

1. Fiebre con antecedente de exposición o picadura de garrapata y
2. Demostración de infección por *Anaplasma phagocytophilum* por seroconversión o aumento de cuatro veces el título de anticuerpos* o
3. Resultado de PCR positivo con posterior secuenciación de los amplicones demostrando ADN específico de *Anaplasma* en sangre o
4. Aislamiento de *A. phagocytophilum* en cultivo de sangre

Probable anaplasmosis humana

1. Fiebre con antecedente de exposición o picadura de garrapata y
2. Presencia de un título estable de anticuerpos frente a *A. phagocytophilum* en los sueros agudo y convaleciente si el título es 4 veces el punto de corte* o
3. Resultado de PCR positivo sin posterior secuenciación** o
4. Presencia de mórulas intracitoplasmáticas en frotis sanguíneo

*Por ensayos de inmunofluorescencia, usando tanto antígeno intracelular como purificado, en laboratorio de referencia o con el kit de MRL Diagnostics (Cypress, CA, EE.UU.).

**Usando los cebadores específicos de especie citados en la tabla 3. AHG: anaplasmosis humana granulocítica; ESCAR: European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Study Group for *Coxiella*, *Rickettsia*, *Anaplasma* and *Bartonella*; PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

las excursiones en búsqueda de estos artrópodos y su correcta extracción mediante pinzas constituyen las medidas de profilaxis primaria²⁹. Por el momento no existen vacunas, y no hay evidencia de que la profilaxis antibiótica tras la picadura de garrapatas sea coste-efectiva.

Tratamiento

En nuestra opinión, ante la sospecha clínica de ehrlichiosis y anaplasmosis se ha de administrar tratamiento de forma empírica sin esperar la confirmación microbiológica, ya que esta puede tardar semanas o no producirse. Son muchos los antibióticos que han demostrado ser eficaces, y al igual que en las rickettsiosis, la doxiciclina es el tratamiento de elección incluidos niños (100 mg cada 12 h durante 7 a 14 días y en niños ajustar según peso). Las quinolonas (ciprofloxacino, ofloxacino y levofloxacino) y la rifampicina son posibles alternativas terapéuticas³⁰. La respuesta al tratamiento es buena y los síntomas se resuelven 24-48 h después de iniciarse el tratamiento. En ausencia de respuesta al tratamiento se han de descartar otras posibilidades diagnósticas o coinfección por otros agentes.

Bibliografía

1. Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, et al. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, description of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and "HGE agent" as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophilum*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2001;51:2145-65.
2. Blanco JR, Oteo JA. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2002;8:763-72.
3. Brouqui P, Sanogo YO, Caruso G, Merola F, Raoult D. Candidatus *Ehrlichia walkeri*: a new *Ehrlichia* detected in *Ixodes ricinus* collected from asymptomatic humans in Northern Italy. *Ann N Y Acad Sci*. 2003;990:134-40.
4. Anderson BE, Dawson JE, Jones DC, Wilson KH. *Ehrlichia chafeensis*, a new species associated with human ehrlichiosis. *J Clin Microbiol*. 1991;29:2838-42.
5. Chen SM, Dumler JS, Bakken JS, Walker DH. Identification of a granulocytotropic *Ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease. *J Clin Microbiol*. 1994;32:589-95.
6. Buller RS, Arens M, Hmiel SP, Padock CD, Summer W, Rikihisa Y, et al. *Ehrlichia ewingii*, a newly recognized agent of human ehrlichiosis. *N Engl J Med*. 1999;341:148-55.
7. Petrovec M, Lotrick-Furlan S, Zupanc TA, Strle F, Brouqui P, Roux V. Human disease in Europe caused by granulocytic ehrlichia species. *J Clin Microbiol*. 1997;35:1556-9.
8. Oteo JA, Blanco JR. Epidemiological importance of human ehrlichiosis in Europe. *Croat J Infect*. 2004;24:5-10.
9. Oteo JA, Blanco JR, De Arto V, Ibarra V. First report of human granulocytic ehrlichiosis from southern Europe (Spain). *Emerg Infect Dis*. 2000;6:430-1.
10. Pérez M, Rikihisa Y, Wen B. *Ehrlichia canis* like agent isolated from a man in Venezuela: Antigenic and genetic characterization. *J Clin Microbiol*. 1996;34:2133-9.
11. Oteo JA, Gil H, Barral M, Pérez A, Jiménez S, Blanco JR, et al. Presence of granulocytic ehrlichia in ticks and serological evidence of human infection in La Rioja, Spain. *Epidemiol Infect*. 2001;127:353-8.
12. Portillo A, Santos AS, Santibáñez S, Blanco JR, Ibarra V, Bacellar F, et al. Detección de variantes no patógenas de *Anaplasma phagocytophilum* en *Ixodes ricinus* de la península Ibérica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004;22:151.
13. Walker DH, Dumler JS. Human monocytic ehrlichiosis and granulocytic ehrlichiosis. *Arch Pathol Lab Med*. 1997;121:785-91.
14. Brouqui P, Bacellar F, Baranton G, Birtles RJ, Bjoersdorff A, Blanco JR; ESCMID Study Group on Coxiella, Anaplasma, Rickettsia and Bartonella; European Network for Surveillance of Tick-Borne Diseases. Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10:1108-32.
15. Lotric-Furlan S, Petrovec M, Avsic-Zupanc T, Strle F. Human granulocytic ehrlichiosis in Slovenia. *Ann N Y Acad Sci*. 2003;990:279-84.
16. Tylewska-Wierzbanska S, Chmielewski T, Kondrusik M, Hermanowska-Szapakowicz T, Sawicki W, Sulek K. First cases of acute human granulocytic ehrlichiosis in Poland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2001;20:196-8.
17. Remy V, Hansmann Y, De Martino SJ, Christmann D, Brouqui P. Human anaplasmosis presenting as atypical pneumonitis in France. *Clin Infect Dis*. 2003;37:846-8.
18. Ratnasamy N, Everett ED, Roland WE, MacDonald G, Caldwell CHW. Central nervous system manifestations of human ehrlichiosis. *Clin Infect Dis*. 1996;23:314-9.
19. Thomas V, Anguita J, Barthold SW, Fikrig E. Coinfection with *Borrelia burgdorferi* and the agent of human granulocytic ehrlichiosis alters murine immune responses, pathogen burden, and severity of Lyme arthritis. *Infect Immun*. 2001;69:3359-71.
20. Lotric-Furlan S, Avsic-Zupanc T, Petrovec M, Nicholson WL, Sumner JW, Childs JE, et al. Clinical and serological follow-up of patients with human granulocytic ehrlichiosis in Slovenia. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2001;8:899-903.
21. Goodman JL, Nelson C, Vitale B, Madigan JE, Dumler JS, Kurti TJ, et al. Direct cultivation of the causative agent of human granulocytic ehrlichiosis. *N Engl J Med*. 1996;334:209-15.
22. Brouqui P, Salvo E, Dumler JS, Raoult D. Diagnosis of granulocytic ehrlichiosis in humans by immunofluorescence assay. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2000;8:199-202.
23. Guerrero A, Losada I, De Lucas S, Oteo JA. Ehrlichiosis infection prevalence in Spain or cross-reactions. *Med Clin (Barc)*. 2001;116:315.
24. Edelman DC, Dumler JS. Evaluation of an improved PCR diagnostic assay for human granulocytic ehrlichiosis. *Mol Diagn*. 1996;1:41-9.
25. Walls JJ, Caturegli P, Bakken JS, Asanovich KM, Dumler JS. Improved sensitivity of PCR for diagnosis of human granulocytic ehrlichiosis using epank1 genes of *Ehrlichia phagocytophila*-group ehrlichiae. *J Clin Microbiol*. 2000;38:354-6.
26. Massung RF, Slater KG. Comparison of PCR assays for detection of the agent of human granulocytic ehrlichiosis, *Anaplasma phagocytophilum*. *J Clin Microbiol*. 2003;41:717-22.
27. Bakken JS, Krueh J, Wilson-Nordskog C, Tilden RL, Asanovich K, Dumler JS. Clinical and laboratory characteristics of human granulocytic ehrlichiosis. *JAMA*. 1996;275:199-205.
28. Centers for Diseases Control and Prevention. Case definitions for infectious conditions under public health surveillance. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1997;46:46-7.
29. Oteo JA, Blanco JR, Ibarra V. Can we prevent tick-borne transmission disease? *Enf Infecc Microbiol Clin*. 2001;19:509-13.
30. Horowitz HW, Hsieh TC, Agüero-Rosenfeld ME, Kalantarpour F, Chowdhury I, Wormser GP, et al. Antimicrobial susceptibility of *Ehrlichia phagocytophila*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45:786-8.

ANEXO. Ehrlichiosis y anaplasmosis humana

- 1. ¿Cuál es la línea celular utilizada para el cultivo de *Ehrlichia* sp. y *Anaplasma* sp.?**
 - a) Células Vero (células epiteliales de mono).
 - b) Células MRC5 (fibroblastos embrionarios pulmonares humanos).
 - c) Células HL-60 (células cancerosas humanas).
 - d) Cualquiera de las anteriores.
 - e) Ninguna de las anteriores.
 - 2. *Ehrlichia* y *Anaplasma* infectan principalmente:**
 - a) Células epiteliales.
 - b) Neuronas.
 - c) Leucocitos y plaquetas.
 - d) Células pancreáticas.
 - e) Ninguna de las anteriores es cierta.
 - 3. La vía más común de transmisión de *A. phagocytophila* es:**
 - a) Picadura de garrapata.
 - b) Transfusión sanguínea.
 - c) Inhalación de esporas.
 - d) Contacto directo con otros enfermos.
 - e) Todas las anteriores son ciertas.
 - 4. Las mórulas se visualizan al microscopio óptico tras tinción de:**
 - a) Gram.
 - b) Wright y Giemsa.
 - c) Ziehl-Neelsen.
 - d) Plata.
 - e) Azul de Coomassie.
 - 5. La muestra idónea para diagnóstico de anaplasmosis humana mediante cultivo es:**
 - a) LCR.
 - b) Capa leucocitaria de sangre en ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).
 - c) Capa leucocitaria de sangre en heparina.
 - d) Suero en fase aguda.
 - e) Ninguna de las anteriores es cierta.
 - 6. Uno de los siguientes hallazgos de laboratorio no es habitual en los pacientes con anaplasmosis humana granulocítica:**
 - a) Leucopenia.
 - b) Elevación de transaminasas.
 - c) Elevación de la velocidad de sedimentación globular.
 - d) Trombocitosis.
 - e) Elevación de la proteína C reactiva (PCR).
 - 7. Una de las siguientes afirmaciones relacionada con la infección por *Ehrlichia ewingii* es falsa:**
 - a) *E. ewingii* se describió como causante de un cuadro similar a la anaplasmosis humana granulocítica en Asia.
 - b) *E. ewingii* afecta fundamentalmente a pacientes inmunodeprimidos.
 - c) Su vector es la garrapata *Amblyomma americanum*.
 - d) Hasta la fecha no se han descrito casos en Europa.
 - e) Es uno de los agentes causales de ehrlichiosis canina.
 - 8. El tratamiento de elección de las infecciones por ehrlichias y anaplasmas es:**
 - a) Amoxicilina.
 - b) Amoxicilina-ácido clavulánico.
 - c) Levofloxacino.
 - d) Doxiciclina (incluidos niños).
 - e) Ceftriaxona.
 - 9. Un paciente acude con una garrapata fijada a la piel de un paciente, ¿cómo debo retirarla?**
 - a) Rápidamente con las uñas de las manos.
 - b) Impregnándola en aceite.
 - c) Impregnándola en gasolina.
 - d) Con pinzas y sin manipulación previa.
 - e) Da igual.
 - 10. Una diferencia fundamental entre las ehrlichias/anaplasmas y las rickettsias es:**
 - a) *Ehrlichia* spp. y *Anaplasma* spp. se replican en unas vacuolas derivadas de la membrana celular de las células que infectan, principalmente leucocitos y plaquetas, mientras que *Rickettsia* spp. lo hacen libremente.
 - b) *Ehrlichia* spp. y *Anaplasma* spp. son α_1 proteobacterias y las rickettsias α_2 .
 - c) Las rickettsias del grupo de las fiebres manchadas se transmiten fundamentalmente por pulgas, mientras que las ehrlichias/anaplasmas lo hacen mediante picadura de garrapatas.
 - d) El exantema de las ehrlichiosis es más llamativo que el de las rickettsiosis.
 - e) Todas las sentencias enumeradas son válidas.
-