

# **Alergia a alfa-gal y picaduras de garrapata.**

## **La perspectiva española**

Dra. Mónica Venturini Díaz.

Servicio de Alergología de Hospital San Millán-San Pedro.

Logroño (La Rioja).

### **Resumen**

Las picaduras de garrapata habitualmente pasan desapercibidas. No obstante, pueden producir diferentes enfermedades infecciosas, parálisis neurotóxica y patología alérgica.

Dentro de la patología alérgica, podemos diferenciar dos procesos que se manifiestan habitualmente en forma de anafilaxia grave. Por un lado, cuadros de alergia a la propia picadura, y por otro lado, procesos alérgicos producidos por sensibilización al determinante glucídico alfa-gal: alergia a carne de mamíferos, al anticuerpo monoclonal Cetuximab y a gelatinas.

Dado que La Rioja es una tierra rica en flora y fauna, hábitat ideal para garrapatas, estudiamos en el siguiente trabajo la prevalencia de sensibilización a alfa-gal en el grupo de riesgo de múltiples picaduras de garrapata formado por agentes forestales y retenes de incendios. Detectamos en este grupo un 15% de sensibilizados frente a un 4% en un grupo control. La edad, el tiempo trabajado y el número de picaduras-año se relacionaban con un aumento del riesgo de sensibilizarse.

De los pacientes sensibilizados a alfa-gal, un 70% se encontraban sensibilizados a carne de mamíferos. Hasta la actualidad ninguno ha desarrollado alergia a carne.

En nuestro Servicio de Alergología de Logroño tenemos registrados cuatro casos de pacientes con anafilaxia retardada por carne de mamíferos debido a sensibilización al determinante glucídico alfa-gal y tres casos de anafilaxia por picadura de garrapata.

Para evitar esta patología, debemos realizar medidas preventivas para evitar las picaduras de garrapata, y una vez que se han producido, retirarlas correctamente mediante el uso de pinzas apropiadas para evitar que el contenido del tubo digestivo de las glándulas salivares sea inoculado en el hospedador.

## **Garrapatas. Morfología (1,2) y moléculas salivares (3,4)**

Las garrapatas son artrópodos hematófagos presentes en todo el mundo, que parasitan diferentes especies de animales, incluido el hombre, aves y reptiles. Pueden actuar como vectores, y en ocasiones también como reservorios de enfermedades infecciosas, habiéndose convertido en la actualidad en los vectores de enfermedades infecciosas más importantes en los países industrializados.

Tanto las garrapatas como los ácaros forman parte de la clase *Arachnida* que está incluida dentro del suborden *Ixodida* que pertenece a la subclase *Acari*.

Existen dos grandes familias de garrapatas: Las *Ixodidae* o garrapatas duras, denominadas así por su armazón quitinoso y que son las más importantes desde el punto de vista médico; y las *Argasidae* o garrapatas blandas que carecen de dicho armazón.

La estructura del cuerpo de las garrapatas se encuentra dividida en dos porciones: capítulo e idiosoma.

El capítulo (semejante a la cabeza) contiene entre otras estructuras los quelíceros, órganos cortantes que desgarran la piel en el momento de la picadura y el hipostoma, órgano con dientes muy finos y especializado para la sujeción al hospedador.

Dentro del idiosoma o cuerpo destacan las glándulas salivares, órganos muy complejos que ocupan una gran parte del cuerpo de las garrapatas y que se sitúan a los lados del mismo. En la fase álgida de la alimentación incrementan su tamaño hasta 25 veces y una vez que la garrapata se ha alimentado y se suelta, degeneran mediante un fenómeno de apoptosis.

Entre sus funciones se encuentran la producción de enzimas que contribuyen a la perforación de la piel, concentran los nutrientes de la sangre del hospedador mediante el retorno del exceso de agua e iones a través de la saliva hacia el hospedador, producen moléculas que favorecen la transmisión de patógenos y producen un gran número de moléculas con función anticoagulante, antiagregante, vasodilatadora, antiinflamatoria e inmunosupresora que impiden la respuesta inflamatoria esperable por parte del hospedador que impediría la alimentación de la garrapata y su viabilidad.

## **Patología producida por garrapatas**

Las picaduras de garrapata habitualmente no generan ninguna clínica en la persona parasitada, por lo que en la mayoría de las ocasiones pasan desapercibidas. No obstante, pueden producir diferentes enfermedades infecciosas, parálisis neurotóxica y patología alérgica.

Dentro de la patología alérgica, podemos diferenciar dos procesos que se manifiestan habitualmente en forma de anafilaxia grave. Por un lado, cuadros de alergia

a la propia picadura, y por otro lado, otros procesos alérgicos producidos por sensibilización al determinante glucídico alfa-gal a través de la picadura que producirían clínica al entrar en contacto con otros alérgenos que comparten este determinante antigénico: carne de mamíferos, anticuerpo monoclonal Cetuximab y gelatinas.

## **Sensibilización al determinante glucídico alfa-gal. Estudio de prevalencia de sensibilización en la Comunidad Autónoma de La Rioja**

Los anticuerpos anti-Gal son el tipo de anticuerpo más abundante en el ser humano, constituyendo según algunos autores el 1% de las inmunoglobulinas, tanto en los isotipos IgG, IgM como IgA (5). Estos anticuerpos se producen de forma continua como respuesta a la estimulación antigénica de las bacterias de la flora intestinal. Sin embargo, la producción de anticuerpos de tipo IgE frente a alfa-gal, sólo tiene lugar en un porcentaje variable de la población en función de las diferentes zonas geográficas, en relación directa con la exposición a picaduras de garrapata (6).

Dado que La Rioja es una tierra rica en flora y fauna, hábitat ideal para garrapatas pensamos que nuestra población reúne las características necesarias para ser una población de riesgo de sensibilizarse al determinante glucídico alfa-gal.

Así lo confirman los resultados de un estudio preliminar llevado a cabo en una pequeña muestra de 17 pacientes riojanos, con antecedente de múltiples picaduras de garrapata en el que detectamos una frecuencia de sensibilización del 29,4% (7).

Ante estos hallazgos, decidimos realizar un estudio más amplio, cuyo objetivo principal es estimar la prevalencia de sensibilización al determinante glucídico alfa-gal en el grupo de riesgo formado por agentes forestales y retenes de incendios de la Rioja. Comparamos esta prevalencia con la de un grupo control formado por personas que refieren no haber sufrido picaduras de garrapata.

La Consejería de Medio Ambiente de la Rioja nos facilitó el listado de Agentes forestales, Retenes de incendios y conductores de los Retenes de incendios a fecha de 1 de enero de 2010. Se trataba de 169 personas, de las cuales 147 aceptaron participar en el estudio. A todos les realizamos una encuesta dirigida y estudio serológico con una muestra extraída en 2010. A su vez, se analizaron 100 sueros del grupo control, formado por adultos que acudían de forma consecutiva a nuestra Unidad, para estudio de alergia a antibióticos beta-lactámicos, y que no eran conscientes de haber sufrido picaduras de garrapata.

En la encuesta se recogieron entre otros datos la edad, la antigüedad en el puesto de trabajo y la zona geográfica en la que el trabajador desempeña su actividad profesional.

Al comparar la prevalencia de sensibilización al determinante glucídico alfa-gal en el grupo de trabajadores respecto al grupo control, considerando como criterio de

positividad una IgE específica a alfa-gal >0,1 kU/L, encontramos que 22 trabajadores (15%) se encontraban sensibilizados, frente a 4 personas del grupo control (4%) (tabla I). Esta diferencia es estadísticamente significativa. Existe una odds ratio de 4,22.

**Tabla 1. Valores de IgE específica a alfa-gal (kU/L) en el grupo de profesionales sensibilizados con muestras serológicas del año 2010 y 2015 y valores de IgE específica frente a carne de cerdo, ternera y pollo en muestras serológicas de 2015.**

N° Suero	ImmunoCAP α-Gal (2010) KUA/l	ImmunoCAP α-Gal (2015) KUA/l	ImmunoCAP Cer- do (2015) KUA/l	ImmunoCAP Ternera (2015) KUA/l
1	0,10	0,09	0,05	0,06
2	0,95	0,71	0,11	0,31
3	0,19	0,10	0,04	0,11
4	0,54	5,48	1,29	1,29
5	0,72	0,66	0,23	0,29
6	0,14	0,02	0,03	0,03
7	18,20	6,19	1,54	2,31
8	0,39	0,09	1,39	0,52
9	0,21	0,64	0,38	0,36
10	0,25	0,23	0,04	0,05
11	0,32	0,04	0,04	0,06
12	0,32	0,05	0,06	0,06
13	0,29	0,40	0,00	0,43
14	0,10	0,46	0,08	0,15
15	0,14	0,01	0,02	0,04
16	0,19	0,04	0,02	0,03
17	0,10	0,28	0,08	0,12
18	0,25	1,21	0,07	0,17
19	0,14	0,04	0,02	0,03
20	0,15	0,80	0,06	0,09
21	0,23	0,11	0,07	0,09
22	0,11	NR	NR	NR

NR: no realizado.

Los valores de IgE específica a alfa-gal en muestra de 2010 variaban de 0,1 kU/L a 18,2 kU/L. La media fue de 1,09. En el grupo control se detectaron 4 positividads, todas ellas iguales o inferiores a 0,15 kU/L.

En nuestro estudio preliminar, esta prevalencia era superior, del 29,4% (7), pero en dicho estudio solo se incluyeron casos que referían haber sufrido múltiples picaduras de garrapata, mientras que en el presente estudio, se incluye a todos los trabajadores agentes forestales y retenes de incendios, de los cuales, un 15,6% refería no haber sufrido nunca picaduras.

En el sureste de EEUU describen cifras de sensibilización en la población general en torno al 15-20% (6,8,9,10), en Estocolmo del 10% (11), en Galicia del 8,1%, en Dinamarca del 5,6% (12) y en zona rural de alpes Italianos del 25% (13). Los estudios realizados en zonas de clima tropical, donde las picaduras de garrapata son muy comunes, describen cifras de sensibilización en población general aún mayores, hasta del 76% (8).

Por lo tanto, los resultados de nuestro estudio muestran un porcentaje de sensibilización en un grupo poblacional de riesgo, algo superior que el de la población general de otras regiones como Estocolmo, Galicia y Dinamarca, pero similar o ligeramente inferior al de la población general del sureste de EEUU. Ante estos hallazgos podemos deducir que la sensibilización a alfa-gal en la población general sería menor en La Rioja que en dichas zonas, aunque para comprobarlo serían necesarios nuevos estudios.

La causa de la menor frecuencia de sensibilización de lo esperado en nuestro grupo de riesgo, se podría explicar de diferentes maneras: por un lado, puede ser que las especies de garrapata que parasitan al hombre en nuestra zona, pertenecientes a los géneros *Ixodes*, *Rhipicephalus* y *Dermacentor*, no sean tan agresivas como las del género *Amblyomma* predominante en EEUU. O quizás, aunque la agresividad entre especies fuera similar y el número de picaduras de garrapata fuese equiparable en las diferentes zonas geográficas, la capacidad de inducir sensibilización al determinante glucídico alfa-gal pudiera ser menor en las especies de garrapata prevalentes en nuestra zona.

Otro aspecto a tener en cuenta a la hora de comparar los diferentes estudios, sería el criterio de positividad en la determinación de IgE específica a alfa-gal. Revisando la literatura, encontramos que los estudios llevados a cabo en EEUU valoran como positiva una IgE específica a alfa-gal >0,35 kU/L por inmunoCAP®, mientras que otros investigadores en Suecia, Dinamarca, Galicia e Italia, consideran como criterio de positividad una IgE específica alfa-gal >0,1 kU/L por InmunoCAP® (11-13).

Resulta interesante que en algunos de los trabajos citados, vuelven a calcular la prevalencia de sensibilización a alfa-gal incrementando el criterio de positividad a >0,35 kU/L, observando que la prevalencia disminuye a menos de la mitad. Esta variación demuestra que una gran parte de los casos sensibilizados muestran IgE específica entre 0,1 y 0,35 kU/L. Algo similar sucede en nuestra muestra, en la que sólo 5 trabajadores mostraban una IgE >0,35 kU/L y por lo tanto la prevalencia de sensibilización disminuiría hasta el 3,4% al incrementar el criterio de positividad de la IgE específica a 0,35 kU/L.

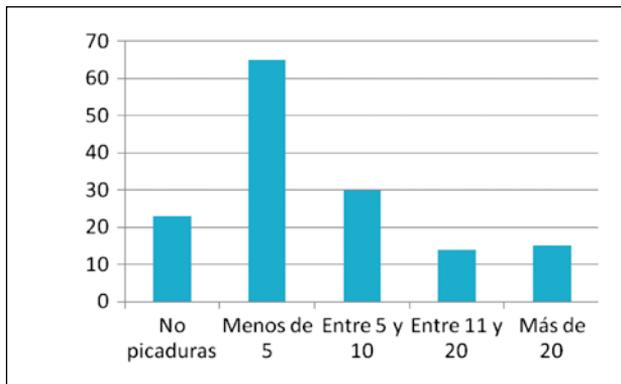
La sensibilización encontrada en 4 controles podría explicarse por tratarse de falsos positivos o por la posibilidad de sufrir picaduras que pasen desapercibidas. De hecho, existen publicaciones que demuestran que entre los pacientes afectos de en-

fermedad de Lyme, sólo de un 50 a un 70% recuerdan haber sufrido una picadura de garrapata (14,15), cuando es la única forma de transmisión de la enfermedad.

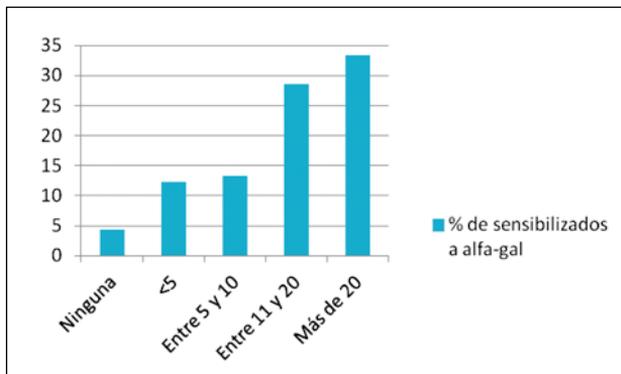
Entre los objetivos secundarios del estudio, evaluamos si existe relación entre el número de picaduras de garrapata al año, la edad y el tiempo trabajado con la sensibilización a alfa-gal.

De los 147 trabajadores encuestados, 23 (15,6%) referían no haber sido picados por una garrapata mientras que 124 (84,4%) habían sido conscientes de al menos la picadura de una garrapata a lo largo de su vida laboral (figura 1). Cuando relacionamos las variables número de picaduras al año y sensibilización a alfa-gal, encontramos mediante un chi al cuadrado de tendencia lineal, una tendencia lineal estadísticamente significativa entre las dos variables ( $p < 0,006$ ). En la figura 2 observamos cómo aumenta el porcentaje de sensibilizados a alfa-gal conforme aumenta el número de picaduras al año variando entre un 4% en los trabajadores que no eran conscientes de sufrir picaduras a un 33% en los pacientes que sufrían más de 20 picaduras al año.

**Figura 1. Distribución de la muestra en función del nº de picaduras-año**



**Figura 2. Porcentaje de sensibilización a alfa-gal según nº de picaduras de garrapata-año**



La media de edad en el grupo de pacientes no sensibilizados fue de 39.89 años en el grupo de pacientes sensibilizados de 43.95 años con desviación típica de 8.92. Estas diferencias están en el límite de la significación ( $p=0,052$ ).

En cuanto al tiempo trabajado, la media en el grupo de pacientes sensibilizados fue de 16,95 años y en el grupo de pacientes no sensibilizados de 12.92 años. Estas diferencias son estadísticamente significativas ( $p=0,041$ ).

Otros objetivos secundarios que analizamos fueron si la picadura de **ciertas especies de garrapata** constituye un factor de riesgo para la sensibilización frente a este determinante glucídico y si existen diferencias en la prevalencia de sensibilización a alfa-gal en función de la **zona geográfica** donde el trabajador desarrolla su actividad laboral.

Resulta muy complicado deducir qué especies de garrapata habían picado a los trabajadores, ya que probablemente les afectaran diferentes especies. Según los datos recogidos por Oteo y colaboradores, las garrapatas del género *Dermacentor*, responsables de la enfermedad de DEBONEL, producen las picaduras en la cabeza a diferencia del resto de especies de garrapata que suelen picar en extremidades. Además pican en los meses fríos del año mientras que el resto de garrapatas lo hacen en los meses de primavera, verano o comienzo del otoño (16). De estos datos, podemos deducir con ciertas limitaciones, que los pacientes que refieren picaduras en cabeza o en los meses de invierno, han sido picados en alguna ocasión por garrapatas del género *Dermacentor*.

Así, observamos que un 15,8% de los pacientes que habían sufrido picaduras en la cabeza se encontraban sensibilizados a alfa-gal frente a un 17,1% de los trabajadores que habían sufrido picaduras pero nunca en cabeza. Esta ligera diferencia no es significativa. Así mismo, ninguno de los cuatro pacientes que referían haber sufrido alguna picadura en los meses de invierno estaba sensibilizado a alfa-gal mientras que el 17,5% de los pacientes que sufrían picaduras en el resto de épocas. Estas diferencias no son significativas por el bajo número de trabajadores del primer grupo. Estos hallazgos coinciden con los de un trabajo de Commins y colaboradores que detectan correlación entre los niveles de IgE específica a alfa-gal y frente a garrapatas del género *A. americanum*, correlación que no se produce con el género *Dermacentor variabilis* (8).

En cuanto a la zona geográfica donde desarrollan su actividad laboral, se observa que el subgrupo de Rioja Media tiene un porcentaje de sensibilización en torno al doble (20,4%) respecto a los subgrupos de Rioja Baja (11,5%) y Alta (13,1%), y que el grupo de la sierra tiene un porcentaje de sensibilización mayor del doble (17,2%), respecto al valle (8%). Sin embargo, no encontramos significación estadística por el bajo número de trabajadores del valle y de Rioja baja.

La mayor sensibilización de los trabajadores de la sierra, y de Rioja Media correspondiente a la sierra de Cameros, podría explicarse porque en zonas de clima supramediterráneo serían más abundantes las garrapatas y además predomina el género *Ixodes*, género que ha demostrado mayor agresividad que otros como *Haemaphysalis* que predominan en zonas de clima mesomediterráneo (17). La mayor agresividad del género *Ixodes* es demostrada por el grupo de investigación de enfermedades transmitidas por garrapata del CIBIR-Hospital San Pedro (18,19).

Otro aspecto investigado en nuestro estudio es el **cambio en los niveles de IgE específica pasados cinco años** en la población sensibilizada a alfa-gal. Para ello, se realizó nueva determinación de IgE específica a alfa-gal con fecha de 2015, a 21 de los 22 pacientes sensibilizados a alfa-gal en la muestra serológica de 2010. El paciente número 22 no pudo acudir a consulta por encontrarse de baja laboral. En esta determinación, 13 pacientes seguían mostrando una IgE específica a alfa-gal  $>0,1$  kU/L, mientras que en 8 pacientes la IgE específica a alfa-gal se había negativizado. Los valores en estos 13 pacientes variaban de 0,1 kU/L a 6,19 kU/L. La media fue de 1,32 (Tabla 1).

La diferencia en la media de IgE específica a alfa-gal entre las muestras de 2010 y 2015 fue de -0,31 kU/L, observándose ligera disminución de la IgE en la medición de 2015. Este ligero descenso podríamos atribuirlo a que en los últimos años, a este grupo de trabajadores, desde su Servicio de Prevención de Riesgos Laborales, se le está proporcionando medidas de educación sanitaria para evitar las picaduras y en el caso de que se produzcan, retirarlas de forma precoz y mediante la técnica adecuada.

Valoramos a su vez en la muestra serológica de 2015, el **porcentaje de pacientes sensibilizados a alfa-gal que se encuentra sensibilizado a carne de mamíferos**.

Se detectó IgE específica  $>0,1$  kU/L frente carne de cerdo en 6 pacientes con una media que fue de 0,82 kU/L y frente a carne de ternera en 11 casos con una media que fue de 0,55 kU/L (tabla I). La prevalencia de sensibilización a carne roja fue del 77% con un intervalo de confianza 95% que va de 55% a 99%

Existe una correlación alta entre los valores de IgE específica a alfa-gal e IgE específica a carne de cerdo, con un valor de coeficiente de correlación de Pearson de 0,76 ( $p < 0,01$ ) y muy alta con carne de ternera, con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,93 ( $p < 0,01$ ).

Ninguno de los casos sensibilizados a carne de mamíferos refiere reacción alérgica en relación con la ingesta de carne roja, lo cual podría explicarse por la cifras discretas de IgE específica a alfa-gal, que pertenece a clase 1 ó 2 en todos los casos menos en dos que pertenecen a clase 3. Sin embargo, en trabajos previos realizados con pacientes alérgicos a carne de mamíferos, y en nuestra experiencia, aunque las cifras de IgE específica a alfa-gal en la mayoría de los pacientes son muy elevadas, también se describen algunos casos que desarrollan clínica con IgE en el rango de clase 2 ó 3 (6,11,20-23).

Además del nivel de IgE específica, parece que factores dependientes del alimento ingerido: forma de preparación, cantidad de carne ingerida, tipo de carne... influyen en la aparición o no de reacción (22,24).

Por otra parte, algunos autores detectan que el cociente entre IgE específica a alfa-gal e IgE total es importante a la hora de la aparición de clínica de alergia a carnes, siendo poco probable la reacción cuando la IgE específica a alfa-gal es menor del 1% de la IgE total (8). En nuestros pacientes, dado que no se realizó determinación de IgE total, no podemos valorar si se cumple esta regla.

Como ya se ha comentado, hasta la actualidad, toda nuestra muestra de pacientes sensibilizados a alfa-gal tolera la ingesta de carne roja. Sin embargo, las sucesivas picaduras, podrían inducir un aumento del nivel de sensibilización a alfa-gal y a carne de mamíferos.

En nuestra Unidad, solo hemos diagnosticado a cuatro pacientes de **alergia a carne de mamíferos** desde el año 2006 a la actualidad. Se trata de pacientes con características comunes a otros casos publicados: refieren el antecedente de múltiples picaduras de garrapata, la clínica se manifiesta de forma tardía a la ingesta (2 a 5 horas), en forma de anafilaxia grave y existen cofactores en dos de los cuatro pacientes (AINE, ejercicio). Las pruebas cutáneas con carnes son débilmente positivas, algo más claras con extractos elaborados en el laboratorio respecto a comerciales y muestran una IgE específica a carnes de mamíferos elevada y una IgE específica a alfa-gal elevada en mayor medida. De los cuatro pacientes que diagnosticamos sólo uno tenía IgE específica frente a alfa-gal clase 5, mientras que los otros tres tenían niveles más bajos en el rango de clase 2-3.

Ningún trabajador de la muestra de profesionales a estudio refería **anafilaxia por picadura de garrapata**.

El primer caso de anafilaxia por picadura de garrapata dura se publica en 1940 (25). A partir de este estudio, comienzan a aparecer en la literatura algunos trabajos en los cuales se describen reacciones similares producidas tanto por picaduras de garrapatas blandas (26-28) como duras (29-36).

Clínicamente, la reacciones alérgicas generalizadas suelen producirse en adultos, habitualmente mayores de 50 años, tras la picadura de una sola garrapata en estadio adulto. Se manifiesta en forma de anafilaxia severa en más del 74% de los casos y se produce de forma inmediata a la retirada o manipulación del parásito (37).

El diagnóstico de estas reacciones, se basa en pruebas cutáneas y de laboratorio que se llevan a cabo en la mayoría de los casos con extractos de cuerpo entero de garrapatas y en casos aislados con extractos elaborados a partir de glándulas salivares de garrapatas (32,35). El extracto de glándulas salivares es de mayor calidad, pero implica dificultades técnicas para su obtención ya que el investigador debe poseer habilidades para la correcta disección de las garrapatas.

Sólo en un pequeño número de publicaciones hacen referencia a la realización de pruebas in vivo ya que existen consideraciones de tipo ético que limitan la realización de pruebas cutáneas en punción. Por un lado, se describen en algunos trabajos realizados con extractos de garrapatas blandas reacciones de gran tamaño, incluso con adenopatías (38) y por otro lado, es difícil asegurar la seguridad del paciente, en cuanto a la posible transmisión de microorganismos o neurotoxinas.

Dentro de las técnicas in vitro, los investigadores en los diferentes trabajos ponen de manifiesto la presencia de IgE específica frente a glándulas salivares, mediante la determinación de IgE específica por diferentes técnicas y por SDS-PAGE Immunoblotting. Se detectan bandas de diferentes pesos moleculares, destacando las bandas de 28 kDa y en torno a 35-38 kDa.

Nosotros tenemos diagnosticados en nuestra Unidad tres casos de anafilaxia por picadura de garrapata:

En septiembre de 2000 y agosto de 2003, consultan dos pacientes por episodios de anafilaxia de repetición en relación con picaduras de garrapata. Se trata de ganaderos, residentes en la zona de Sierra de Cameros, que referían clínica de anafilaxia grave en repetidas ocasiones en relación con picaduras de garrapata.

Los pacientes aportan garrapatas que parasitan su ganado en la época en que son vistos en consulta, que coincide con el final de verano, y son identificadas como *Rhipicephalus sanguineus*.

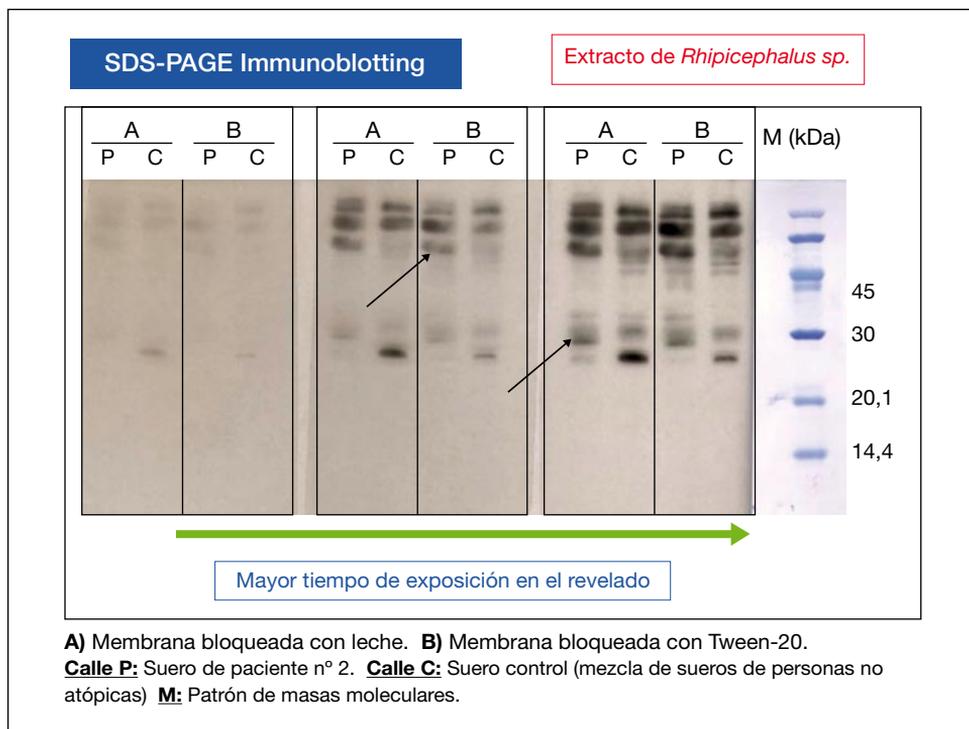
Realizamos determinación de IgE específica por el método RAST para extracto de cuerpo entero de garrapata del género *Rhipicephalus*, así como SDS-PAGE- inmunoblotting.

El paciente número 1 mostró una IgE específica frente a *Rhipicephalus* negativa. El paciente número 2 de 0,9 KU/L (clase 2). La negatividad de la IgE específica el paciente número 1 y los niveles bajos de IgE específica frente a garrapata en el paciente número 2 podrían deberse a varios motivos: Por un lado, quizás la especie de garrapata utilizada para el estudio no fue la implicada en los episodios de anafilaxia, ya que los pacientes fueron evaluados en agosto y septiembre, mientras que las reacciones las habían padecido en primavera. Además, en el paciente número uno la negatividad de la IgE podría deberse a la antigüedad de la reacción, ya que en el momento de la extracción de la muestra de suero habían pasado dos años desde la última picadura.

Además, en el momento del estudio llevamos a cabo las pruebas inmunológicas in vitro con extracto de cuerpo entero de garrapata, mientras que posteriormente Acero y colaboradores demuestran que las pruebas inmunológicas llevadas a cabo con extracto de glándulas salivares de garrapata resultan más sensibles que con extracto de cuerpo entero (33). Por ello, en el estudio del paciente que valoramos en nuestra Unidad posteriormente, y que se expone con detalle a continuación, elaboramos un extracto de glándulas salivares de garrapata, con el cual llevamos a cabo las pruebas in vitro.

En el inmunoblotting del paciente número 2 aparecen numerosas bandas inespecíficas, que también se ponen de manifiesto con el suero de pacientes controles no atópicos, pero destacan de forma evidente dos bandas de 28 kDa y 60 kDa en comparación con el resultado del suero control (Figura 3). La banda de 28 kDa detectada coincide con una de las bandas que otros autores destacan en sus estudios (33,34).

Figura 3.



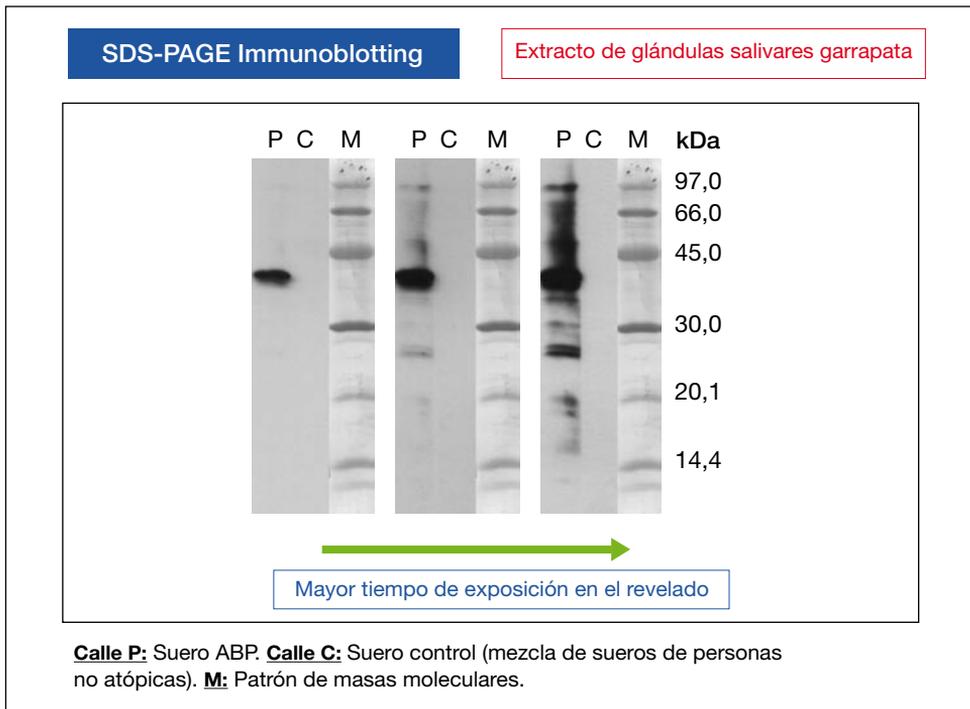
En julio de 2012, vemos en consulta a un paciente de 55 años, ganadero de profesión, diagnosticado en 2009 de anafilaxia por veneno de abeja y en tratamiento con inmunoterapia. Sufre una picadura de garrapata en axila que retira manualmente. De forma inmediata presenta prurito generalizado, lesiones habonosas distribuidas por toda la superficie corporal, angioedema labial, náuseas y somnolencia. Es atendido en urgencias donde observan sendas garrapatas en axila y región umbilical que retiran con pinzas y que posteriormente identificamos como *Rhipicephalus bursa*.

Realizamos una analítica con los siguientes hallazgos: Triptasa sérica basal: 2,4 microgramos/Litro. IgE total: 770 U/ml. IgE específica CAP (Thermo Fisher Scientific): veneno de abeja 2,8 kU/L, rApi m1 (fosfolipasa A2): 0,69 kU/L, alfa-gal: 0,65 kU/L, cerdo: 0,13 kU/L, pollo <0,1 kU/L, MUXF-3: <0,1 kU/L.

Posteriormente, preparamos un extracto alergénico de glándulas salivares de garrapata siguiendo el método de Fernández-Soto y colaboradores (32) con garrapatas *Rh. bursa*.

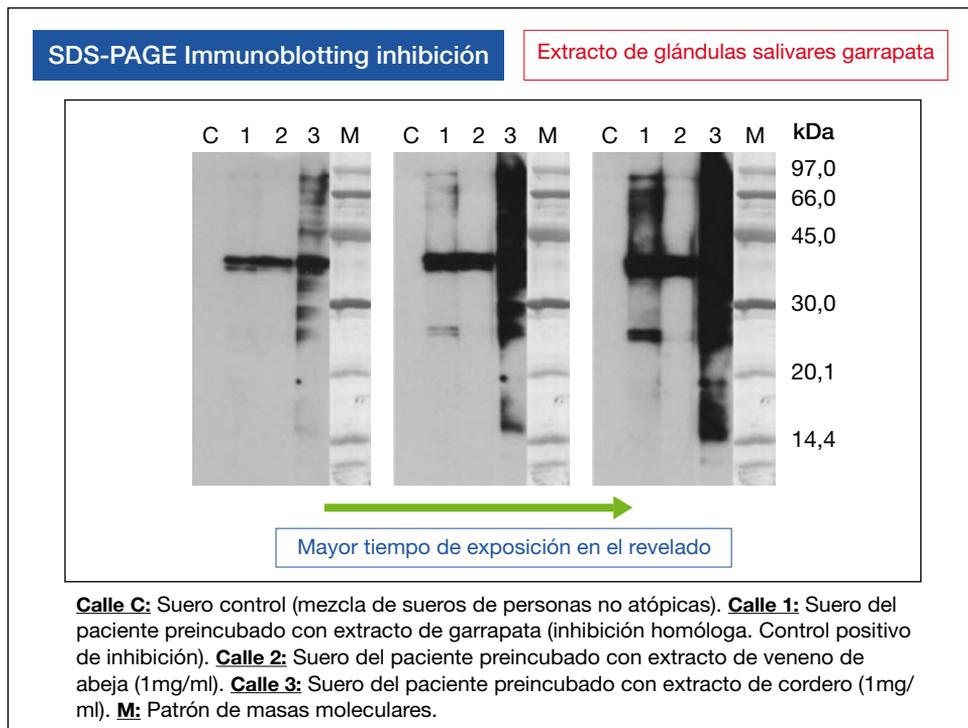
Se realizó determinación de IgE específica por el método de EAST que resultó 1,2 kU/L y además estudiamos la masa molecular de las proteínas fijadoras de IgE específica mediante la técnica de Immunoblotting (SDS-PAGE), detectándose una banda de intensa fijación de IgE de aproximadamente 35 kDa, que ya había sido descrita en otras publicaciones (32,33) y bandas de menor intensidad de aproximadamente 75 kDa; 60 kDa; 32 kDa; 28 kDa; 24 y 25 kDa; 17 y 18 kDa (Figura 4).

**Figura 4. Immunoblotting con extracto de glándulas salivares de *Rh. bursa***



Por último, realizamos ensayo de blotting-inhibición poniendo en fase sólida el extracto de glándulas salivares de garrapata observando que la fijación de IgE en la banda de 35 kDa no se veía alterada al utilizar en fase inhibitoria tanto el extracto de glándulas salivares de garrapata como el de veneno de abeja. Sin embargo, ambos extractos conseguían inhibir la fijación de IgE en el resto de las bandas (Figura 5) lo que demuestra cierta reactividad cruzada entre abeja y garrapata.

**Figura 5. Ensayo de blotting-inhibición con extracto de glándulas salivares de *Rh. bursa* en fase sólida.**



Como conclusiones, debemos considerar las garrapatas como causa de anafilaxia, tanto por la propia picadura como por alérgenos que comparten el determinante glucídico alfa-gal (Cetuximab, gelatinas y carne de mamíferos). Antes de clasificar una anafilaxia como idiopática, hay que descartar estas causas mediante la historia clínica y la realización de IgE específica.

Para prevenir esta patología, debemos evitar las picadura de garrapata, y una vez que se han producido, retirarlas de forma adecuada mediante el uso de pinzas apropiadas.

## Bibliografía

1. Parola P and Raoult D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 897-928.
2. Oteo JA. Garrapatas: Cien años como vector. *Rev Clin Esp* 1995; 195: 1-2.
3. Kazimírová M, Stibrániová I. Tick salivary compounds: their role in modulation of host defences and pathogen transmission of host defences and pathogen transmission. *Front cell Infect Microbiol* 2013; 20: 43. doi: 10.3389/fcimb.2013.00043. eCollection 2013.
4. Chmelar J, Calvo E, Pedra JHF, Francischetti IMB, Kotsyfakis M. Tick salivary secretion as a source of antihemostatics. *J Proteomics* 2012; 75 : 3842-3854.

5. Galili U, Rachmilewitz EA, Peleg A, Glechner I. A unique natural human IgG antibody with anti-alpha-galactosyl specificity. *J Exp Med* 1984; 160: 1519-31.
6. Commins SP, Satinover SM, Hosen J, Mozena J, Borish L, Lewis BD, Woodfolk JA, Platts-Mills TA. Delayed anaphylaxis, angioedema, or urticaria after consumption of red meat in patients with IgE antibodies specific for galactose-alpha-1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 426-33.
7. Venturini M, Lobera T, Portillo A, Oteo JA, Blasco A, González I. Sensibilización a alfa-gal en pacientes con múltiples picaduras de garrapata en La Rioja. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2013; 23, Supplement 2: 165-203.
8. Commins SP, James HR, Kelly LA, Pochan SL, Workman LJ, Perzanowski MS, Kocan KM, Fahy JV, Nganga LW, Ronmark E, Cooper PJ, Platts-Mills TA. The relevance of tick bites to the production of IgE antibodies to the mammalian oligosaccharide galactose- $\alpha$ -1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 1286-93.
9. Chung CH, Mirakhur B, Chan E, Le QT, Berlin J, Morse M, Murphy BA, Satinover SM, Hosen J, Mauro D, Slebos RJ, Zhou Q, Gold D, Hatley T, Hicklin DJ, Platts-Mills TA. Cetuximab-induced anaphylaxis and IgE specific for galactose-alpha-1,3-galactose. *N Engl J Med* 2008; 358:1109-17.
10. Commins SP, Kelly LA, Rönmark E, James HR, Pochan SL, Peters EJ, Lundbäck B, Nganga LW, Cooper PJ, Hoskins JM, Eapen SS, Matos LA, McBride DC, Heymann PW, Woodfolk JA, Perzanowski MS, Platts-Mills TA. Galactose- $\alpha$ -1,3-galactose-specific IgE is associated with anaphylaxis but not asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185:723-30.
11. Hamsten C, Tran TA, Starkhammar M, Brauner A, Commins S, Platts-Mills T, von Hage M. Red meat allergy in Sweden: Association with tick sensitization and B-negative blood groups. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132: 1431-4.
12. Gonzalez-Quintela A, Dam Laursen AS, Vidal C, Skaaby T, Gude F, Linneberg A. IgE antibodies to alpha-gal in the general adult population: relationship with tick bites, atopy, and cat ownership. *Clin Exp Allergy* 2014; 44: 1061-8.
13. Villalta D, Pantarotto L, Da Re M, Conte M, Sjolander S, Borres MP, Martelli P. High prevalence of sIgE to Galactose- $\alpha$ -1,3-galactose in rural pre-Alps area: a cross-sectional study. *Clin Exp Allergy* 2016; 46: 377-80.
14. Maurer FP, Keller PM, Beuret C, Joha C, Achermann Y, Gubler J, Bircher D, Karrer U, Fehr J, Zimmerli L, Bloemberg GV. Close geographic association of human neoehrlichiosis and tick populations carrying "Candidatus Neoehrlichia mikurensis" in eastern Switzerland. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 169-76.
15. Grankvist A, Andersson PO, Mattsson M, Sender M, Vaht K, Höper L, Sakiniene E, Trysberg E, Stenson M, Fehr J, Pekova S, Bogdan C, Bloemberg G, Wennerås C.. Infections with the tick-borne bacterium "Candidatus Neoehrlichia mikurensis" mimic noninfectious conditions in patients with B cell malignancies or autoimmune diseases. *Clin Infect Dis* 2014; 58: 1716-22.
16. Oteo JA, Ibarra V. DEBONEL (Dermacentor-borne-necrosis-erythemalymphadenopathy). A new tick-borne disease?. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2002; 20: 51-2.
17. Jiménez S, Pérez A, Barral M, García A, Juster RA, Anda P. Especies de garrapatas presentes en la vegetación de la Comunidad Autónoma de La Rioja: estudio de la infección por *Borrelia burgdorferi*. Libro de resúmenes de la I Reunión Nacional del Grupo de Rickettsias y Borrelias; 1998: 51-52.
18. Oteo JA, Blanco JR, Grandival R, Estrada-Peña A, Pérez A, Jiménez S, Gómez-Cardiñanos R. Ixodidiasis humana en La Rioja. Estudio estacional y de especies. Libro de resúmenes de la I Reunión Nacional del Grupo de Rickettsias y Borrelias 1998: 56.
19. Palomar AM, Portillo A, Eiros JM, Oteo JA. The risk of introduction of tick-borne-encephalitis and Crimean-Congo Hemorrhagic fever into Southwestern Europe (Iberian Peninsula). In *Advances in*

- Virus Research 2013 (BK032-1-<http://www.iconceptpress.com/books/advances-in-virusresearch>, iConcept Press Ltd).
20. Nuñez R, Carballada F, Gonzalez-Quintela A, Gomez-Rial J, Boquete M, Vidal C. Delayed mammalian meat-induced anaphylaxis due to galactose-alpha-1,3-galactose in 5 European patients. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 128: 1122-1124.
  21. Morisset M, Richard C, Astier C, Jacquenet S, Croizier A, Beaudouin E, Cordebar C, Morel-Codreanu F, Petit N, Moneret-Vautrin DA, Kanny G. Anaphylaxis to pork kidney is related to IgE antibodies specific for galactose-alpha-1,3-galactose. *Allergy* 2012; 67: 699-704.
  22. Fischer J, Hebsaker J, Caponetto P, Platts-Mills T, Biedermann T. Galactose-alpha-1,3-galactose sensitization is a prerequisite for pork-kidney allergy and cofactor related mammalian meat anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134: 755-9.
  23. Martínez A, Audicana MT, Longo N, Fernández E, Villarreal O, Velasco M, Reyes SM, Muñoz D. Allergy to Galactose-Alpha-1,3-Galactose: Clinical Features and the Diagnostic Value of Cetuximab. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2014; 24: 450-452.
  24. Kennedy JL, Stallings AP, Platts-Mills TA, Oliveira WM, Workman L, James HR, Tripathi A, Lane CJ, Matos L, Heymann PW, Commins SP. Galactose- $\alpha$ -1,3-galactose and delayed anaphylaxis, angioedema and urticaria in children. *Pediatrics* 2013; 131: 1545-52.
  25. McKay WJ. Tick bite and allergy. *Med J Aust* 1940;1:458-9.
  26. Sirianni MC, Mattiacci G, Barbone B, Mari A, Aiuti F, Kleine-Tebbe J. Anaphylaxis after *Argas reflexus* bite. *Allergy* 2000; 55: 303.
  27. Lentz D, Jakob T. Anaphylactic reactions to bites of the pigeon tick *Argas reflexus*. *Eur J Dermatol* 2010; 20: 244-245.
  28. Kleine-Tebbe J, Heinatz A, Gräser I, Dautel H, Hansen GN, Kespolh S, Rihs HP, Raulf-Heimsoth M, Vater G, Rytter M, Hausteiner UF. Bites of the European pigeon tick (*Argas reflexus*): Risk of IgE-mediated sensitization and anaphylactic reactions. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 190-5.
  29. Gauci M, Loh RS, Stone BF, Thong YH. Allergic reactions to the Australian paralysis tick, *Ixodes holocyclus*: diagnostic evaluation by skin test and radioimmunoassay. *Clin Exp Allergy* 1989; 19: 279-283.
  30. Van Wye JE, Hsu YP, Terr AI, Moss RB, Lane RS. Anaphylaxis from a tick bite. *N Engl J Med* 1991; 324: 777-778.
  31. Brown AFT, Hamilton DL. Tick bite anaphylaxis in Australia. *J Accid Emerg Med* 1998; 15: 111-113.
  32. Fernández-Soto P, Dávila I, Laffond E, Lorente F, Encinas-Grandes A, Pérez-Sánchez R. Tick-bite induced anaphylaxis in Spain. *Ann Trop Med Parasitol* 2001; 95: 97-10.
  33. Acero S, Blanco R, Bartolomé B. Anaphylaxis due to a tick bite. *Allergy* 2003; 58: 824-825.
  34. Valls A, Pineda F, Belver M, Caballero T, López Serrano MC. Anaphylactic shock caused by tick (*Rhipicephalus sanguineus*). *J Investig Allergol Clin Immunol* 2007; 17: 277-285.
  35. Venturini M, Lobera T, González Mahave I, Blasco A. Anafilaxia por picadura de garrapatas. *Alergol Inmunol Clín* 2004; 19/Extr 1: 70-72.
  36. Sánchez M, Venturini M, Blasco A, Lobera T, Bartolomé B, Oteo JA. Tick bite anaphylaxis in a patient allergic to bee venom. *J Invest Allergy Clinical Immunol* 2014; 24: 284-5.
  37. Van Nunen S. Tick-induced allergies: mammalian meat allergy, tick anaphylaxis and their significance. *Asia Pac Allergy* 2015; 5: 3-16.
  38. Humphery I, Hing Y, Moorhouse D, Creevey C, Gauci M, Stone B. Reactions to argasid tick bites by island residents on the Great Barrier Reef. *Med J Aust* 1991; 155: 181-186.