

## COXIELLA BURNETII: FIEBRE Q

### INDICE

INTRODUCCION.....	2
EL PATOGENO.....	5
EPIDEMIOLOGIA.....	10
PATOGENIA.....	13
MANIFESTACIONES CLINICAS.....	14
• <u>Enfermedad febril autolimitada</u> .....	14
• <u>Neumonía</u> .....	15
• <u>Fiebre Q crónica</u> .....	18
A) Endocarditis.....	18
B) Hepatitis.....	20
C) Manifestaciones neurológicas.....	21
• <u>Fiebre en el huésped inmunocomprometido</u> .....	22
• <u>Fiebre Q durante el embarazo</u> .....	22
• <u>Otras manifestaciones de Fiebre Q</u> .....	22
DIAGNOSTICO INESPECIFICO DE LABORATORIO.....	24
• <u>Fiebre Q aguda</u> .....	24
• <u>Fiebre Q crónica</u> .....	25
DIAGNOSTICO ESPECIFICO DE LABORATORIO.....	26
• <u>Recogida y almacenaje de muestras</u> .....	26
• <u>Examen anatomopatológico</u> .....	26
• <u>Inmunodetección de C. burnetii en los tejidos</u> .....	27
• <u>Amplificación del DNA</u> .....	28
• <u>Cultivo de Coxiella burnetii</u> .....	28

• <b>Diagnóstico serológico de Fiebre Q.....</b>	<b>30</b>
A) Inmunofluorescencia indirecta.....	32
B) Fijación del complemento.....	32
C) ELISA.....	33
D) Western Blot.....	35
E) Dot inmunoblotting.....	35
F) Microaglutinación.....	35
G) Aglutinación con partículas de alta densidad.....	35
H) Hemólisis indirecta.....	37
I) Radioinmunoensayo.....	37
J) Adsorción cruzada.....	37
K) Interpretación de los resultados de pruebas serológicas.....	38
<b>CRITERIOS DIAGNOSTICOS DE FIEBRE Q.....</b>	<b>39</b>
<b>PRONOSTICO.....</b>	<b>40</b>
<b>TRATAMIENTO.....</b>	<b>42</b>
<b>PREVENCION.....</b>	<b>43</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>45</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>47</b>

## **INTRODUCCION**

La **fiebre Q** es una zoonosis causada por *Coxiella burnetii*, una bacteria de distribución mundial.

John Derrick, un funcionario médico de salud, la describió por primera vez en 1935, cuando los trabajadores de un matadero en Brisbane, Queensland, Australia, desarrollaron un cuadro febril agudo, en el cual las pruebas sanguíneas y tests serológicos para los patógenos conocidos en ese tiempo, eran negativos. Este nuevo patrón de enfermedad sugirió a Derrick que se trataba de una entidad singular, que él denominó Fiebre Q.

Posteriormente, Burnet y Freeman aislaron en los cobayos una bacteria intracelular de características especiales, que había sido transmitida desde muestras de sangre y orina de los pacientes de Derrick. Esta nueva bacteria no podía, sin embargo, cultivarse con los habituales medios de laboratorio. La denominaron como *Rickettsia burnetii*. Las características morfológicas y bioquímicas eran similares a las de otras bacterias gramnegativas.

Fue aislada por primera vez de garrapatas (*Dermacentor andersoni*) recogidas cerca de Nine Mile Creek, Montana en los Estados Unidos por Herald R. Cox.

Más tarde Dyer demostró que *Rickettsia burnetii* (el microorganismo de Burnet y Freeman) era el mismo que *R. Diaporica* (el microorganismo de Cox); actualmente se la ha incluido en un nuevo género, y se la conoce como *Coxiella burnetii*.

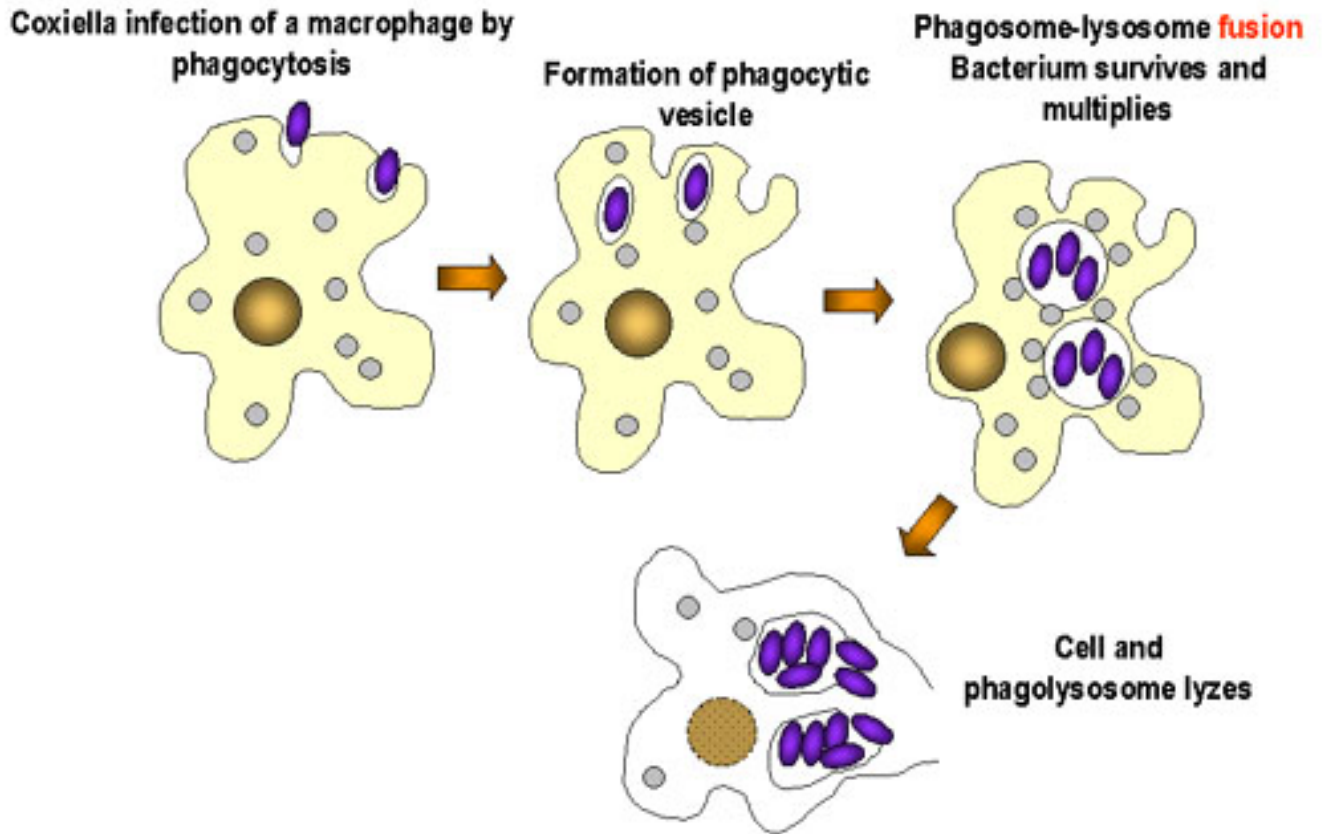
La **fiebre Q** es una enfermedad febril aguda (a veces crónica). Los reservorios más comunes son las vacas, las ovejas y las cabras. Se ha observado la infección también en otras variedades de animales salvajes, incluyendo razas de ganado distintas y en animales domesticados.

Los ungulados domesticados, cuando están infectados, eliminan los microorganismos resistentes a la desecación en la orina, las heces, la leche y, especialmente, en los productos de la concepción. La placenta de las ovejas, por ejemplo, contiene hasta 109 microorganismos por gramo de tejido. Los seres humanos se infectan por inhalación de aerosoles contaminados y después de un período de incubación que dura 20 días (intervalo 14–39 días) se enferman y presentan cefalea intensa, fiebre, escalofríos, fatiga y mialgias. Otros síntomas que pueden aparecer dependen del órgano afectado. Rara vez aparece erupción en la fiebre Q aguda, al contrario de lo que sucede en otras infecciones por rickettsias. La erupción en la fiebre Q crónica (que incluye la endocarditis) es la de una púrpura palpable debida a una vasculitis por inmunocomplejos. Otras diferencias entre la fiebre Q y las infecciones habituales por rickettsias consisten en la transmisión por aerosol de la infección y la falta de anticuerpos reactivos cruzados contra *Proteus* cepa X (reacción de Weil–Félix, que no se da con *C. burnetii*).

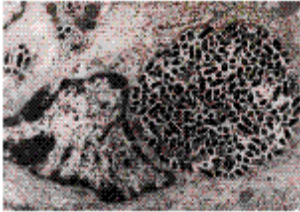
## **EL PATOGENO**

Desde la primera descripción, el agente etiológico de la fiebre Q ha sido denominado con un nuevo nombre, *Coxiella burnetii*, y actualmente ya no se identifica como un miembro de la familia *Rickettsiaceae*. La asignación a un nuevo género es debida a la gran variedad de diferencias entre el agente de la fiebre Q y los miembros del género *Rickettsia*:

- *C. burnetii* tiene un contenido de G+C del 43%, en comparación al 29–33% de las otras rickettsias.
- Este organismo es transmitido a humanos desde fuentes inanimadas o vectores animales, mientras que la inoculación cutánea es la vía que utilizan los otros miembros de la familia.
- *C. burnetii* entra pasivamente en las células huésped por fagocitosis, crece primariamente en vacuolas citoplasmáticas y sobrevive en los fagolisosomas. El pH bajo de este medio es necesario para el funcionamiento de su metabolismo.

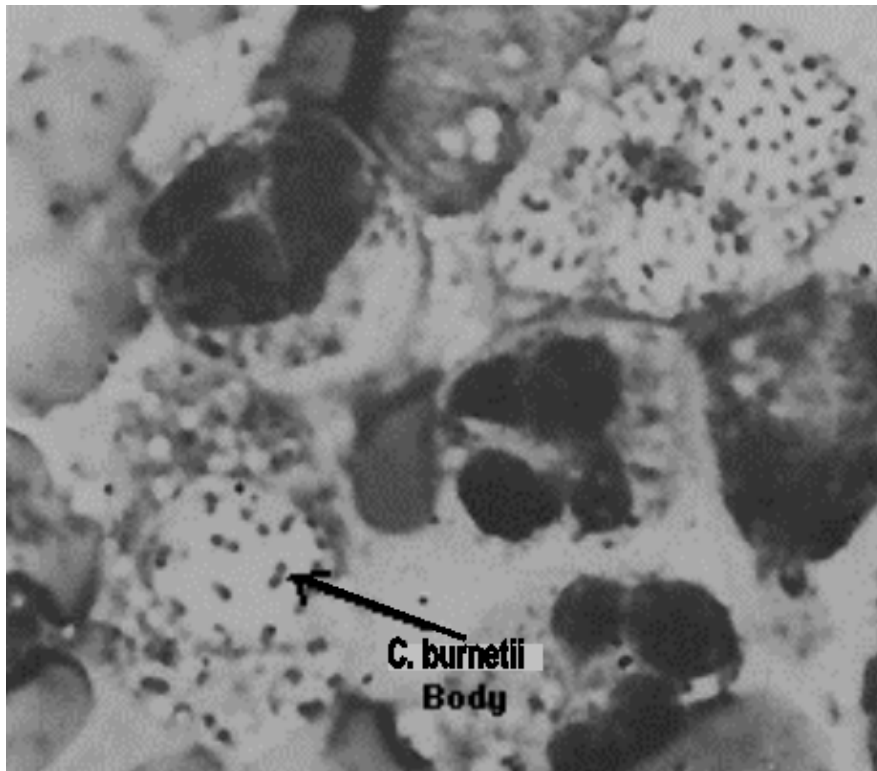


Ciclo de *C. burnetii*.



ME: detalle de fagocitosis de *C. burnetii*.

- La forma esporulada le confiere resistencia a condiciones duras o difíciles del entorno (bajas temperaturas, ambiente seco,...).
- Además, al contrario que las rickettsias, que son clasificadas en la subdivisión de la familia *Proteobacteria*, la *C. burnetii* se ha clasificado recientemente en la subdivisión de esta familia, junto a *Rickettsiella grylli*, *Legionella* spp., y *Francisella* spp. Esto se ha hecho comparando las secuencias de los genes 16S que codifican el rRNA.



ME: detalle de *C. burnetii*.

*Coxiella burnetii* es un cocobacilo muy pleomorfo con una pared celular de gramnegativo. Mide 0,3–0,7 micras de longitud.



*C. burnetii* al microscopio electrónico de barrido.

Existen variantes grandes y pequeñas y se ha descrito un estadio de espora, que como se ha dicho, le permite resistir en condiciones ambientales adversas. Sobrevive 7–10 meses en lana a 15–20°C, durante más de un mes en carne fresca almacenada en frío y por más de 40 meses en leche desnatada a 4–6 °C. Aunque es destruido por formaldehído al 2%, el microorganismo ha sido aislado de tejidos infectados almacenados en formaldehído hasta durante 4–5 meses. También ha sido aislado de tejidos parafinados fijados. El lisol al 1%,

o el peróxido de hidrógeno al 5%, destruyen a *C. burnetii*.

*Coxiella burnetii* sufre **variación de fase**. En la naturaleza y en animales de laboratorio existe en el estadio en **fase I** en el cual los microorganismos reaccionan con sueros de cobayos de convalecencia tardía (45 días) y sólo ligeramente con sueros tempranos (21 días). El pasaje repetido de microorganismos virulentos en fase I en huevos embrionados de pollo conduce a una conversión gradual a formas avirulentas en **fase II**. No existe ninguna diferencia morfológica entre las dos fases, aunque difieren en:

- la composición de azúcares de sus lipopolisacáridos (LPS),
- la inmunogenicidad de la superficie de las proteínas,
- la resistencia a la fagocitosis por macrófagos y linfocitos,
- en su densidad de flotación en cloruro de cesio y
- en su afinidad por los colorantes de hematoxilina y fucsina básica.

El LPS de *C. burnetii* no es tóxico para embriones de pollo en dosis mayores de 80 micras por embrión, al contrario del LPS de tipo liso y rugoso de *Salmonella typhimurium*, que es tóxico en cantidades de nanogramos.

La variación de fase del microorganismo depende de las condiciones del entorno. La fase I es la fase virulenta, aparece cuando la infección se ha establecido, tanto en animales como en el hombre. Esta fase tiene una amplia estructura de carbohidratos, que bloquea el acceso de los anticuerpos a las proteínas de superficie. Esto permite explicar, al menos en parte, porque la bacteria persiste en lugares desconocidos después de la recuperación del proceso agudo, acompañada de seropositividad de por vida.

La fase II sólo se obtiene en laboratorio, es menos infecciosa porque las modificaciones que se producen en la superficie de las proteínas la hacen accesible a los anticuerpos. *C. burnetii* no crece con los métodos habituales de laboratorio, pero puede cultivarse por inoculación en huevos embrionados de pollo, y también en fibroblastos de embrión de rata, células de riñón de mono verde, tejido de ácaros, y líneas celulares J774 y P388D1 similares a macrófagos.

*C. burnetii* expresa un bajo grado de heterogenicidad genética entre especies. Sin embargo, se han demostrado variaciones en la composición del LPS. Y además, se han identificado 20 genotipos distintos con técnicas electroforéticas y/o RFLP (polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción).

Se han hallado **plásmidos** en las células en fase I y fase II. Se han aislado tres tipos diferentes de plásmidos que varían en longitud de 36 a 45 kilobases. Existe una correlación entre el contenido de plásmidos y la virulencia de *C. burnetii*. El plásmido QpH1 ha sido hallado en microorganismos aislados de casos de fiebre Q aguda, mientras que el plásmido QpRS y secuencias cromosómicamente integradas con homología con este plásmido se encuentran en microorganismos aislados de pacientes con endocarditis por fiebre Q.

Mallavia y col. sugirieron que existirían como mínimo seis cepas de *C. burnetii*. Éstas son Hamilton, Vacca, Rasche, Biotzere, Corazon y Dod. Las tres primeras cepas contienen el plásmido QpH1 y han sido asociadas a fiebre Q aguda. La cepa Biotzere posee el plásmido QpRS y la cepa Corazon carece de plásmido en el genoma. Estas dos cepas se asocian con fiebre Q crónica. La cepa Dod, que contiene el plásmido QpDG, es avirulenta.

*C. burnetii* es extremadamente infecciosa para los seres humanos: un solo microorganismo viable es suficiente para causar una infección.

## **EPIDEMIOLOGIA**

*C. burnetii* es una zoonosis universal. Ha sido identificada en artrópodos, peces, pájaros, roedores,

marsupiales y ganado. En todo el mundo, los reservorios animales más frecuentes son las vacas, las ovejas y las cabras. Varios otros animales pueden ser infectados por *C. burnetii*, incluidos los caballos, los perros, los cerdos, los camellos, el búfalo de agua, las palomas, los patos, los gansos, los pavos, varias especies de aves salvajes, las ardillas, los ratones de patas blancas, los ratones de campo, los gatos y los conejos.

La epidemiología de *C. burnetii* varía de un país a otro. Por ejemplo, se ha sospechado que las palomas de collar transportan *C. burnetii* de Europa occidental a Irlanda. En Nueva Escocia la exposición a gatas parturientas infectadas ha producido varios brotes de fiebre Q. Por esto, los gatos se han considerado como un importante reservorio del microorganismo en áreas urbanas (en Canadá de un 6 a un 20% de los gatos tienen anticuerpos anti-*C. burnetii*). Las ratas salvajes se sospecha que son un importante reservorio en Gran Bretaña.

Los mamíferos infectados eliminan el microorganismo resistente a la desecación, en orina, heces, leche, y especialmente, en productos relacionados con el alumbramiento. Durante el embarazo se produce la reactivación de la infección. Así, la fiebre Q origina abortos en cabras y, con menos frecuencia en ovejas. En el ganado vacuno causa problemas en la reproducción. En la placenta de animales contaminados se encuentran altas concentraciones de *C. burnetii* (> 10<sup>9</sup> bacterias por gramo de tejido).

Los seres humanos se infectan por la inhalación de pequeñas partículas aerosolizadas desde líquido amniótico o placenta, o lana contaminada con *C. burnetii*.

*C. burnetii* es endémica en todo el mundo excepto en Nueva Zelanda. Se ha comunicado fiebre Q como mínimo en 51 países de cinco continentes. En general se trata de una enfermedad ocupacional que afecta a individuos que tienen contacto directo con animales infectados, como por ejemplo granjeros, veterinarios y trabajadores de mataderos. Sin embargo, el contacto indirecto con animales infectados ha producido brotes de fiebre Q, como en Suiza, donde más de 350 personas que vivían a lo largo de un camino sobre el que viajaban ovejas desde los pastos de la montaña desarrollaron fiebre Q.

La exposición a paja, estiércol o polvo contaminados por vehículos de granja produjo fiebre Q en los residentes británicos que vivían a lo largo de un camino transitado por estos vehículos. La exposición puede ser aun más indirecta, como en el caso de trabajadores de lavaderos que desarrollaron fiebre Q después de manipular ropa contaminada.

La ingestión de leche contaminada, la exposición a gatas parturientas y quitar la piel de conejos salvajes infectados también son formas por las cuales se adquiere fiebre Q.

*C. burnetii* también se ha aislado en la leche y placenta humanas, y es probable, que, al igual que ocurre en los animales, se origine también reactivación del microorganismo durante el embarazo, infradiagnosticándose la fiebre Q que complica el embarazo humano.

La exposición de laboratorio a *C. burnetii* y el transporte de ovejas infectadas a través de los hospitales hasta los laboratorios de investigación han producido brotes importantes de fiebre Q.

En raras ocasiones la fiebre Q ha sido transmitida por transfusión sanguínea. La transmisión ha ocurrido durante una autopsia pero no ha sido documentada durante los cuidados clínicos de los pacientes infectados. Existe una comunicación de aparente transmisión interhumana de fiebre Q entre los miembros de una casa.

La garrapata transmite *C. burnetii* a los mamíferos domésticos pero no a los humanos. Puede permanecer asintomática de por vida en humanos. Sin embargo, el embarazo (como ya se ha dicho), alteraciones en válvulas cardíacas, un aneurisma vascular o prótesis, hemodiálisis, e inmunodeficiencias, incluida el SIDA, pueden promover la reactivación de la *C. burnetii* dormida.

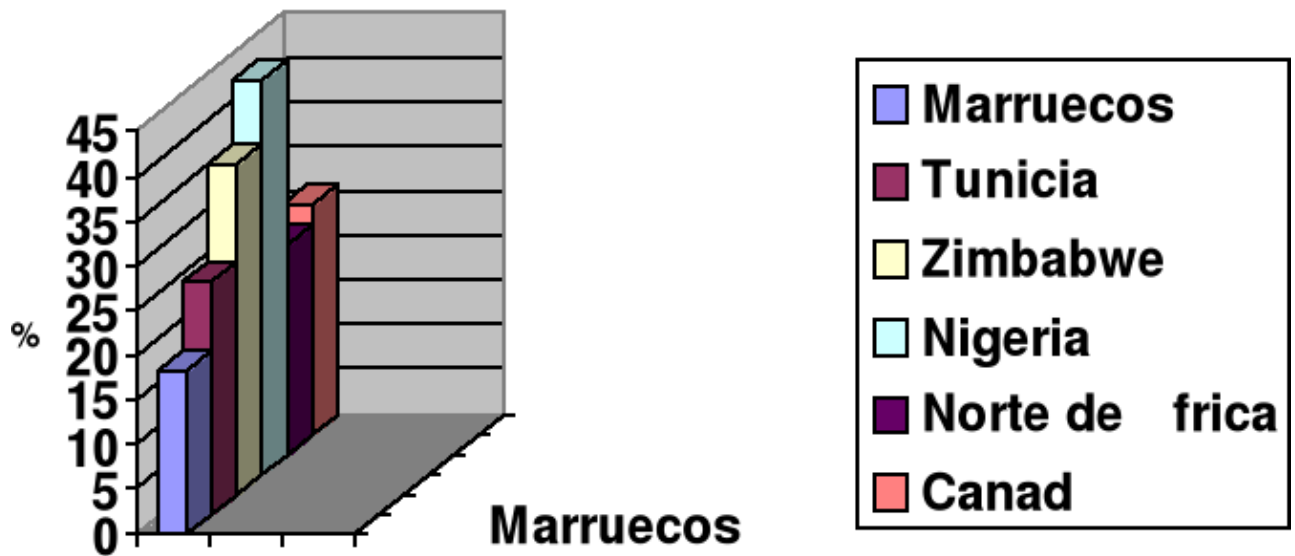
En Europa la fiebre Q es más frecuente en los meses de primavera y principios de verano. Puede ocurrir a cualquier edad, y es más frecuente en varones que en mujeres. Normalmente, es una enfermedad benigna, pero la mortalidad se produce en 1–11% de pacientes con fiebre Q crónica.

La presentación clínica es muy pleomórfica y no específica, por ello la incidencia de fiebre Q en humanos probablemente, se ha subestimado.

En el sur de Francia del 5–8% de los casos de endocarditis son debidos a *C. burnetii*, y la prevalencia de la fiebre Q aguda es de 50 casos por 100000 habitantes.

Investigaciones sobre la serología han mostrado que el 18,3% de los donantes de sangre en Marruecos, el 26% en Tunicia, el 37% en Zimbabwe, el 44% en Nigeria, del 10–37% en el norte de África, y del 14,6–36,6% en diferentes áreas de Canadá, tenían anticuerpos anti-*C. burnetii*. Epidemias importantes de fiebre Q se han documentado en el País Vasco (España), en Suiza, en Gran Bretaña, en Berlín, Alemania, y más recientemente, en el sur de Francia.

## PREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-C.BURNETII



### PATOGENIA

La secuencia más probable de acontecimientos en el ciclo de transmisión de *C. burnetii* a los seres humanos se inicia con el mantenimiento del microorganismo en garrapatas u otros artrópodos. Estos ectoparásitos infectan a los animales domésticos y de otro tipo, incluidos distintos mamíferos pequeños.

Los ungulados domésticos infectados suelen permanecer asintomáticos, aunque puede ocurrir un aborto de un feto muerto. La placenta muy infectada contamina el medio ambiente en el momento del parto. Las muestras



de aire son positivas hasta 2 semanas después del parto y hay microorganismos viables en la tierra por períodos de hasta 150 días.

Los seres humanos se infectan por la inhalación de aerosoles contaminados. Los microorganismos proliferan en el (los) pulmón (pulmones) y el resultado es una rickettsemia. Ello conduce a la instalación de síntomas sistémicos y distintas manifestaciones clínicas según la dosis de microorganismo inhalado y probablemente las características de la cepa infectante. La observación de que aislamientos de *C. burnetii* responsables de fiebre Q aguda condujeron a la inserción de más antígeno en las membranas de las células del huésped que los aislamientos asociados con enfermedad crónica es intrigante y puede explicar por qué las manifestaciones de esta enfermedad difieren tanto de un país al otro.

## **MANIFESTACIONES CLINICAS**

Los signos de fiebre Q a menudo son subclínicos o extremadamente leves. Por ejemplo, durante una epidemia de fiebre Q ocurrida en Suiza, de los 415 pacientes diagnosticados de fiebre Q, 224 fueron seropositivos pero asintomáticos (54%) y sólo un 2% de los afectados requirieron hospitalización. Las infecciones por *C. burnetii* pueden ser agudas o crónicas.

Los humanos son los únicos animales conocidos que desarrollan regularmente enfermedad como consecuencia de la infección por *C. burnetii*. Existen varios síndromes clínicos:

- **Enfermedad febril autolimitada (2–14 días).**
- **Neumonía.**
- **Endocarditis.**
- **Hepatitis**
- **Osteomielitis.**
- **Fiebre Q en el huésped inmunocomprometido.**
- **Fiebre Q en el lactante.**
- **Manifestaciones neurológicas:** encefalitis, meningitis aséptica, estados confusionales tóxicos, demencia, enfermedad extrapiramidal, psicosis maníaca.

## **ENFERMEDAD FEBRIL AUTOLIMITADA**

Es probablemente la forma más común de fiebre Q. En muchas áreas el 11–12% de individuos tienen anticuerpos contra *C. burnetii*. Es probable que la edad a la que ocurre la infección y la dosis del agente determinen si la fiebre Q será o no una enfermedad febril autolimitada o leve. Se ha sugerido que algunas infecciones pueden ser totalmente asintomáticas. La proporción de infecciones por fiebre Q que representan seroconversiones asintomáticas se desconoce. En el sur de España el 21% de los adultos que tuvieron fiebre Q más de una semana y menos de tres semanas de duración sufrían fiebre Q, en todos los casos la radiografía de tórax fue normal.

## **NEUMONÍA**

Existen tres presentaciones de esta forma de fiebre Q:

- **Neumonía atípica.**
- **Neumonía rápidamente progresiva.**
- **Neumonía que se presenta con fiebre y ausencia de síntomas pulmonares** (probablemente la forma más frecuente).

Neumonía atípica es un término clínico que hace referencia a la neumonía que aparece en un adulto joven y que se caracteriza por tos seca no productiva con hemocultivos y cultivos de esputo negativos para los patógenos bacterianos convencionales.

La tos aparece en el 28% de pacientes con neumonía por fiebre Q confirmada por radiología. Esta enfermedad puede ser de comienzo gradual o súbito. La fiebre aparece en todos los pacientes. Hay cefalea intensa en aproximadamente el 75% de casos y es un indicio útil para el diagnóstico. Otros síntomas son:

- Fatiga (98%).
- Escalofríos (88%).
- Sudores (84%).
- Mialgias (68%).
- Náuseas (49%).
- Vómitos (45%).
- Dolor torácico pleurítico (28%).
- Diarrea (21%), puede ser en ocasiones una forma de presentación de fiebre Q.

El examen físico del tórax frecuentemente no presenta particularidades. El hallazgo físico más común son rales inspiratorios. Los pacientes con neumonía rápidamente progresiva suelen tener signos de consolidación pulmonar. Aproximadamente el 5% de pacientes presentan esplenomegalia. La fiebre y la cefalea intensa sugieren infección del sistema nervioso central. En la punción lumbar el líquido cefalorraquídeo suele ser normal, aunque se ha aislado *C. burnetii* en algunos casos. La forma rápidamente progresiva de la neumonía por fiebre Q imita la enfermedad de los legionarios, la forma neumónica de la tularemia y, en realidad todas las formas de neumonía rápidamente progresiva entrarían en el diagnóstico diferencial.

Radiografía de tórax de un paciente con neumonía por fiebre Q.

El cuadro radiológico de la neumonía por fiebre Q es variable. Son frecuentes las opacidades de base pleural segmentarias o no. Las opacidades redondeadas múltiples son muy sugestivas de fiebre Q que sigue a exposición a placentas de gatas infectadas. En el 35% de casos se observa derrame pleural que suele ser pequeño. Pueden aparecer atelectasias, un aumento de la trama reticular y adenopatías hiliares. El tiempo medio de resolución son unos 30 días (10–70 días).

La neumonía por *C. burnetii* rara vez es fatal y en estos casos suele existir un trastorno coexistente que contribuye a la mortalidad. En la histología se observan pequeños cocobacilos en los macrófagos alveolares en la biopsia transbronquial. En un caso fatal de neumonía apareció neumonía necrotizante focal hemorrágica intraalveolar grave con bronquitis necrotizante asociada. En algún caso se observó un pseudotumor inflamatorio (masa pulmonar compuesta por mezclas de macrófagos, células gigantes, células plasmáticas y

linfocitos). El epitelio bronquiolar se hallaba focalmente ausente, regenerado o hiperplásico. Se origina como resultado consolidación peribronquial o peribronquiolar. El infiltrado intersticial tiene más linfocitos que monocitos.

El recuento de glóbulos blancos suele ser normal, en un tercio puede aparecer elevado. Se presenta ligera elevación de los niveles de transaminasas hepáticas en casi todos los pacientes. La bilirrubinemia suele ser normal, aunque puede aparecer ictericia.

Rara vez se produce el síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética.

El diagnóstico de neumonía por fiebre Q es confirmado serológicamente porque casi ningún laboratorio dispone de las instalaciones necesarias para aislar *C. burnetii*.

El desarrollo reciente de *primers* derivados del gen de superóxido dismutasa de *C. burnetii* ha permitido la amplificación del DNA de este microorganismo en muestras clínicas mediante la reacción en cadena de la polimerasa.

Se han utilizado las pruebas de microaglutinación, fijación del complemento (FC) e inmunofluorescencia y el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) en el diagnóstico serológico de esta enfermedad. La prueba de FC es la más utilizada. Una elevación de cuatro veces en el título entre las muestras de suero de fase aguda y de convalecencia es diagnóstica de fiebre Q. No se han comunicado reacciones cruzadas entre anticuerpos contra *C. burnetii*.

Algunos autores recomiendan la prueba de inmunofluorescencia indirecta para detectar anticuerpos IgM de modo que es posible utilizar una sola muestra de suero en el diagnóstico de fiebre Q aguda. Sin embargo, los anticuerpos IgM pueden persistir hasta 678 días y, en un estudio, el 3% de 162 pacientes seguían teniendo un nivel importante de anticuerpos IgM un año después de la infección.

El tratamiento de elección es la tetraciclina. Se ha utilizado cloranfenicol para tratar la fiebre Q. Yeaman y cols. realizaron pruebas de susceptibilidad antibiótica de *C. burnetii* utilizando fibroblastos L929 con infección persistente. Los agentes más eficaces fueron las quinolonas (difloxacina, ciprofloxacina, ácido oxolínico) y la rifampicina.

### **FIEBRE Q CRÓNICA**

La fiebre Q crónica tiene distintas manifestaciones:

- Endocarditis.
- Infección de una prótesis vascular.
- Infección de aneurismas.
- Osteomielitis.
- Hepatitis.
- Fibrosis pulmonar intersticial.
- Fiebre prolongada.
- Erupciones purpúricas.

## A) ENDOCARDITIS

Es la manifestación principal de la fiebre Q crónica. Habitualmente se afectan las válvulas anormales o prótesis; sin embargo, puede infectarse cualquier parte del árbol vascular, incluyendo un coágulo en un aneurisma ventricular izquierdo.

Endocarditis por fiebre Q. La Inmunohistoquímica, con técnica de inmunoperoxidasa, en una válvula cardíaca, revela la presencia de *C. burnetii* (flecha). Ampliación, 100×.

Estos pacientes tienen respuesta inmune celular defectuosa a *C. burnetii*.

La incidencia de endocarditis por fiebre Q está aumentando, aunque puede deberse a un mayor reconocimiento de esta entidad.

La presentación clínica corresponde a una endocarditis cultivo–negativa; sin embargo, la fiebre frecuentemente está ausente. La endocarditis por fiebre Q es rara en niños.

Frecuentemente presentan acropaquías pronunciadas e hiperglobulinemia. La esplenomegalia y hepatomegalia aparecen en más del 50% de los pacientes. En un 20% se produce erupción purpúrica debida a vasculitis leucocitoclástica. La eritrosedimentación suele estar aumentada y se observa anemia y hematuria microscópica. Las embolias arteriales complican la evolución de un tercio de los pacientes.

En la fiebre Q crónica las vegetaciones difieren en cuanto a su aspecto macroscópico y microscópico de las observadas en la endocarditis bacteriana piógena. En la microscopia existe un infiltrado inflamatorio subagudo y crónico. Se observan muchos macrófagos espumosos grandes. Con microscopia electrónica es posible visualizar fácilmente los microorganismos característicos.

En la mayoría de casos la confirmación del diagnóstico es serológica. Se dice que un título de FC de 1:200 contra el antígeno de fase I es diagnóstico de fiebre Q crónica. En la fiebre Q aguda los títulos de anticuerpos FC contra el antígeno de fase I no alcanzan este nivel.

Con la microfluorescencia los títulos de fase I son mucho mayores en la endocarditis por fiebre Q que en la fiebre Q aguda, aunque para esta prueba no se ha sugerido ningún título único como diagnóstico de fiebre Q crónica. En un estudio se observaron títulos altos de anticuerpos IgA contra el antígeno de fase I en la fiebre crónica (endocarditis y hepatitis granulomatosa), mientras que otro estudio reveló que los pacientes con fiebre Q aguda también producían dichos anticuerpos, aunque en título más bajo. Los títulos de anticuerpos caen lentamente con el tratamiento. El Western Blot de muestras de suero de pacientes con fiebre Q crónica revela que existen anticuerpos IgG contra 12–15 antígenos de *C. burnetii* de fase I, mientras que el suero de los pacientes con fiebre Q aguda reacciona con 7–10 antígenos de *C. burnetii*. Se observan anticuerpos contra el LPS de fase I en la fiebre Q crónica, pero no en la aguda.

Está surgiendo consenso de que es necesaria una terapia antibiótica combinada para tratar la fiebre Q crónica (doxiciclina combinada con trimetoprim, sulfametoxazol o rifampicina durante dos años, otros autores han utilizado pefloxacina u ofloxacina con buenos resultados). Es preciso determinar los títulos de anticuerpos cada seis meses durante los dos primeros años posteriores a su finalización. El tratamiento exitoso se acompaña de un descenso en la eritrosedimentación, corrección de la anemia e hiperglobulinemia. Con frecuencia es necesario recurrir al reemplazo valvular, pero debe ser dictado por el estado hemodinámico del paciente.

## B) HEPATITIS

Existen 3 formas de presentación de la hepatitis por fiebre Q, que son:

– Un cuadro similar a la hepatitis infecciosa.

- Fiebre de origen desconocido con granulomas característicos en la biopsia

hepática.

– Hallazgo fortuito en un paciente con neumonía por fiebre Q.

Granuloma en donut o rosquilla (flecha), en un corte de hígado de un paciente con hepatitis por fiebre Q aguda. Tinción de hematoxilina–floxina–azafrán. Ampliación, 250x.

En los pacientes con fiebre de origen desconocido debida fiebre Q se observa el típico **granuloma en rosquilla** en la biopsia hepática. Se trata de un granuloma con un anillo denso de fibrina rodeado por una vacuola lipídica central. Estos granulomas son muy sugestivos de fiebre Q, pero pueden observarse en la enfermedad de Hodgkin y en la mononucleosis infecciosa. Se ha aislado *C. burnetii* del hígado de pacientes con hepatitis por fiebre Q, pero no se han visualizado los microorganismos en el parénquima hepático. Es probable que el tratamiento antibiótico durante 2 semanas sea suficiente. Los casos de fiebre Q con un perfil serológico sugestivo de fiebre Q crónica deben tratarse por más de dos semanas. Estos pacientes deben ser seguidos con títulos seriados de anticuerpos.

### **C) MANIFESTACIONES NEUROLÓGICAS**

La cefalea intensa es la manifestación más frecuente, probablemente representa infección del SNC, aunque existen pocas evidencias de compromiso encefálico grave en la fiebre Q.

La meningitis aséptica y/o encefalitis complican el 0,2 al 1,3% de los casos de fiebre Q. Una revisión de 16 casos de meningoencefalitis por fiebre Q demostró que 8 presentaban elevación de glóbulos blancos en el LCR que variaba entre 18 y 1392 células/mm<sup>3</sup>. En todos los casos, excepto en uno, predominaron las células mononucleares. Las proteínas habitualmente estaban elevadas y la glucosa era normal. El electroencefalograma era anormal en 5 de los 6 pacientes en los que se realizó esta investigación.

La meningoencefalitis de la fiebre Q puede acompañarse de convulsiones y coma.

Complican la fiebre Q: los trastornos de conducta, los síntomas y los signos cerebelosos, las parálisis de los nervios craneales, la enfermedad extrapiramidal y el síndrome de Miller–Fisher.

### **FIEBRE EN EL HUÉSPED INMUNOCOMPROMETIDO**

El agente responsable de la fiebre Q rara vez produce infección en el huésped inmunocomprometido, pero esto puede ser reflejo de la infrecuente consideración de la fiebre Q en este grupo de pacientes.

En una revisión de todos los casos de fiebre Q crónica realizada en Francia desde 1981 hasta 1990, los investigadores observaron que el 20% de 84 pacientes estaban inmunocomprometidos. Éstos eran pacientes con cáncer, leucemia mieloide crónica, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), trasplante renal, tratamiento con corticosteroides, diálisis renal, estado postparto o alcoholismo crónico.

### **FIEBRE Q DURANTE EL EMBARAZO**

Tanto la fiebre Q aguda como la crónica han sido descritas durante el embarazo. En los mamíferos la *C. burnetii* sufre reactivación durante la gestación y es responsable de mayores tasas de aborto, prematuridad y de bajo peso al nacimiento. En humanos, se ha aislado de la placenta de una mujer que quedó embarazada dos años después de un episodio de fiebre Q aguda, pero se han informado pocos casos.

Clínicamente, aunque la mayoría de los casos parecen ser asintomáticos, las complicaciones pueden empeorar el curso de la enfermedad, produciendo muerte fetal intraútero, placentitis o trombocitopenia. Aunque la transmisión intrauterina de *C. burnetii* está documentada, las consecuencias de la fiebre Q congénita están por determinar.

## **OTRAS MANIFESTACIONES DE FIEBRE Q**

La osteomielitis vertebral es una manifestación infrecuente de infección por *C. burnetii*.

La fiebre Q también puede darse en lactantes, en quienes ha causado neumonía, convulsiones febriles, pirexia de origen desconocido, malestar general e irritación meníngea.

Las manifestaciones hematológicas incluyen necrosis medular, hemofagocitosis histiocítica, anemia hemolítica y, en ocasiones, esta enfermedad puede simular un linfoma. Otras manifestaciones hematológicas incluyen anemia hipoplásica transitoria, trombocitosis reactiva, en forma esporádica trombocitopenia y ruptura esplénica.

También se ha comunicado, aunque en pocos casos, neuritis óptica y eritema nudoso en asociación con la infección por *C. burnetii*. Se ha sugerido que la enfermedad de Kawasaki podría tratarse de una variante de fiebre Q.

## **DIAGNOSTICO INESPECIFICO DE LABORATORIO**

### **FIEBRE Q AGUDA**

El recuento leucocitario en pacientes con fiebre Q aguda es frecuentemente normal; sin embargo, un 25% de pacientes tiene un recuento leucocitario elevado. La tasa de eritrosedimentación puede estar elevada. En un 25% de pacientes aparece trombocitopenia.

Los niveles de enzimas hepáticas están elevados en un 85% de casos. El aumento de los niveles de transaminasas es generalmente moderado, de dos a tres veces los valores normales.

Un episodio de fiebre prolongado, acompañado de recuento leucocitario normal, trombocitopenia y altos niveles de enzimas hepáticas es sugestivo de fiebre Q.

Sin embargo, en la fase de convalecencia puede encontrarse trombocitosis ( $>400 \times 10^9/\text{litro}$ ). Un 20% de pacientes presentan elevación de la creatina fosfoquinasa. En la meningoencefalitis de la fiebre Q frecuentemente aparece ligera pleocitosis linfocítica en LCR.

Es común encontrar autoanticuerpos en el curso de la fiebre Q, aunque se desconoce por el momento su significado real. Probablemente se trate de un epifenómeno de la enfermedad, pero puede ser responsable de complicaciones severas. Se ha descrito en la fiebre Q aguda una variedad de estos autoanticuerpos, incluidos los anticuerpos antimitocondriales y anticuerpos anti-músculo liso (en la seroconversión es frecuente encontrar niveles moderados de estos anticuerpos anti-musculo liso).

Otros anticuerpos como los anti-fosfolípidos, especialmente los anticuerpos anticardiolipina o anticoagulante lúpico, deben detectarse antes de hacer biopsia hepática. Es posible que los anticuerpos anti-fosfolípido se produzcan por un aumento de los niveles de exposición a fosfolípidos procedentes de células endoteliales dañadas por *C. burnetii*. Estos anticuerpos generalmente son transitorios y desaparecen durante la convalecencia.

Se detectaron anticuerpos anticardiolipina tipo IgG e IgM en un paciente con fiebre Q aguda y se observó una

temprana desaparición de IgM en los dos primeros meses de convalecencia. También se ha descrito un inhibidor adquirido del factor IX de la coagulación sanguínea (antihemofilia B).

## **FIEBRE Q CRÓNICA**

En la endocarditis de la fiebre Q, los síntomas clínicos y biológicos se deben a la respuesta inflamatoria mediada por células frente al microorganismo. Los cultivos sanguíneos convencionales dan negativo.

Son frecuentes las manifestaciones de laboratorio de síndrome inflamatorio, incluyendo anemia, elevada tasa de eritrosedimentación e hipergammaglobulinemia policlonal. El recuento leucocitario puede ser normal, alto o bajo. Es frecuente encontrar trombocitopenia y altos niveles de enzimas hepáticas. Es común que exista compromiso renal, caracterizado por elevado nivel de creatinina y microhematuria.

En algún caso, aunque poco frecuentemente, aparecen inmunoglobulinas monoclonales, mientras que las crioglobulinas sí aparecen con frecuencia.

Los autoanticuerpos también son habituales en la fiebre Q crónica, particularmente el factor reumatoide, anti-músculo liso o anticuerpos anti-nucleares. También pueden observarse a veces anticuerpos antimitocondriales, anticuerpos anticoagulantes y un test de Coombs positivo.

## **DIAGNOSTICO ESPECIFICO DE LABORATORIO**

### **RECOGIDA Y ALMACENAJE DE MUESTRAS**

*C. burnetti* es una bacteria muy contagiosa, por eso sólo los laboratorios con un nivel de protección adecuado y un personal especializado debería manipular muestras contaminadas y cultivar este microorganismo.

Varias muestras humanas son válidas para la detección de *C. burnetti*, pero su utilidad depende de la presentación clínica:

- La amplificación del DNA se puede hacer de sangre, líquido cefalorraquídeo, médula ósea, biopsia de válvula cardíaca o de hueso o de hígado, leche materna, placenta o muestras fetales en caso de aborto. La sangre puede ser recogida con EDTA o citrato sódico y la capa de leucocitos se conserva para la PCR. Las muestras sólidas se deben conservar en frío a  $-80^{\circ}\text{C}$  antes de ser examinadas.
- *C. burnetti* se puede cultivar de la capa de leucocitos de sangre heparinizada, sangre completa, plasma, médula ósea, líquido cefalorraquídeo, biopsia de válvula cardíaca o de hueso o de hígado, leche materna, placenta o muestras fetales en caso de aborto, pero no de sangre recogida con EDTA o citrato sódico. Todas las muestras, excepto la sangre completa, deben ser conservadas a  $80^{\circ}\text{C}$  y manipuladas con frío seco para el diagnóstico de laboratorio. La sangre completa se debe mantener a  $4^{\circ}\text{C}$ .

### **EXAMEN ANATOMOPATOLÓGICO**

La respuesta inmune de la fiebre Q está asociada a una reacción inflamatoria que da lugar a la formación de granulomas. Los órganos más comúnmente afectados son los pulmones, hígado, médula ósea y endocardio.

- La histología de la neumonía de la fiebre Q en humanos no ha sido estudiada en muchos casos. Macroscópicamente puede aparecer hepatización roja o gris y microscópicamente puede existir edema intersticial e infiltración de linfocitos y macrófagos. Los espacios alveolares suelen estar ocupados por histiocitos y también se ha descrito necrosis focal intraalveolar y hemorragia, así como necrosis de bronquios y bronquiolos. Los microorganismos generalmente no se encuentran en estas lesiones. En

el pseudotumor pulmonar propio de *C. burnetii* se ven células gigantes y células plasmáticas.

- Las lesiones hepáticas son distintas en la fiebre Q aguda y crónica. En los casos agudos característicamente se encuentran unas lesiones granulomatosas denominadas **granuloma en rosquilla** que consiste en una vacuola lipídica central rodeada de fibras densas redondeadas. También existen lesiones granulomatosas y necrosis en médula ósea. En los casos crónicos los cambios anatomopatológicos no son específicos, se puede apreciar infiltración de linfocitos y necrosis focal.
- En la endocarditis producida por la fiebre Q las vegetaciones son frecuentemente nodulares y las válvulas suelen estar infiltradas por células espumosas que contienen *C. burnetii*.

### **INMUNODETECCIÓN DE *C. BURNETII* EN TEJIDOS**

La detección de *C. burnetii* en los tejidos es especialmente importante en los pacientes que están siendo tratados de fiebre Q crónica. Las muestras pueden ser examinadas en fresco o después de la fijación en formol y parafina. Las muestras vasculares o de las válvulas son las más útiles.

Varias técnicas son eficaces como la detección con inmunoperoxidasa, ELISA, inmunofluorescencia, o test con anticuerpos monoclonales. Esta última técnica también puede usarse para detectar antígeno en tejidos incluidos en parafina. Broqui et al. examinaron las válvulas de 17 pacientes con endocarditis por fiebre Q usando métodos de inmunohistoquímica y han visto que los microorganismos están agrupados como una masa dentro de las células mononucleares y generalmente ocupan todo el citoplasma. Kocianova y Lukacova pudieron detectar *C. burnetii* en sangre y linfa de garrapatas usando un test de inmunodot blot.

### **AMPLIFICACIÓN DEL DNA**

La PCR se usa con éxito en la detección del DNA de *C. burnetii* en cultivo de células o muestras clínicas. Inicialmente, se usaban métodos de hibridación específicos para el marcaje de sondas de DNA con ácidos nucleicos amplificados de muestras clínicas. Estos métodos son muy sensibles y específicos, pero solo son útiles en laboratorios especializados.

Los *primers* derivados de genes específicos de *C. burnetii* han proporcionado un método sencillo y exacto para la detección de esta bacteria, incluso en tejidos en parafina. Además, la PCR ha resultado ser más sensible que las técnicas de cultivo estándar para el diagnóstico retrospectivo con muestras congeladas y para el seguimiento de pacientes tratados de fiebre Q crónica. Las muestras conservadas en frío a  $-80^{\circ}\text{C}$  son válidas para PCR durante varios años. Generalmente se usan *primers* derivados de *htpAB* asociado a la repetición de elementos. Estos elementos se repiten al menos 19 veces en el genoma de *C. burnetii* Nine Mile I, y la PCR basada en este gen es muy sensible.

### **CULTIVO DE *COXIELLA BURNETII***

El aislamiento de *C. burnetii* por cultivo se realiza en muy pocos laboratorios, debido a que por su extremada infecciosidad debe llevarse a cabo exclusivamente en laboratorios de nivel 3 de bioseguridad, y también por la falta de sensibilidad de esta técnica. Debido a que se trata de una bacteria intracelular estricta, el cultivo no puede obtenerse en un medio acelular. El microorganismo puede ser aislado por inoculación de muestras en cultivos celulares convencionales (células de riñón de mono, células VERO), o en saco vitelino de embriones de pollo, o en animales de laboratorio (como cobayos o ratones). En los cobayos, se inoculan muestras clínicas mediante inyección intraperitoneal, desarrollan fiebre 5 a 7 días más tarde y son sacrificados de 5 a 8 días después de la inoculación. Los embriones ovíparos mueren entre los 7 y los 9 días posteriores a la inoculación. El bazo es el órgano más valioso para recuperar ejemplares de *C. burnetii*, por ello extractos de bazos molidos que son extraídos de animales infectados deben ser posteriormente inoculados en embriones ovíparos. Como curiosidad, la enfermedad de los Legionarios fue descubierta por inoculación en animales



mientras se estaba buscando fiebre Q.

Estas técnicas han sido abandonadas en la actualidad porque son más peligrosas que las modernas técnicas de cultivo in vitro. Además, existe un alto riesgo de que se produzca contaminación cruzada entre animales infectados y los no infectados. No obstante, el cultivo en el cobayo sigue siendo útil cuando se intenta aislar *C. burnetii* a partir de tejidos contaminados por diferentes bacterias, o también con la intención de obtener antígenos de fase I de *Coxiella* en células infectadas por el microorganismo encontrándose en fase II.

El reciente desarrollo, a partir de un método comercial disponible para el cultivo de virus, de un sistema de microcultivos celulares in vitro denominado método de cultivos celulares Shell vial, ha permitido la mejora en el aislamiento de bacterias intracelulares, especialmente de *C. burnetii*. Un cierto número de líneas celulares puede ser usado para los cultivos in vitro. Un tipo de células utilizado con mucha frecuencia en esta técnica consiste en fibroblastos de pulmón embrionario humano (células HEL) desarrolladas en medios shell vial, debido a su alta susceptibilidad a la infección por *C. burnetii* y a su fácil mantenimiento. Múltiples muestras o especímenes humanos, incluyendo sangre, líquido cefalorraquídeo, médula ósea, válvulas cardíacas, aneurismas o prótesis vasculares, biopsia ósea, biopsia hepática, leche, placenta, o muestras fetales tras un aborto, son aptos para emplearlos en el cultivo in vitro de *C. burnetii*. Respecto a la técnica, se inocula 1mL de espécimen clínico en las células HEL, las cuales forman monocapas celulares de 1 cm<sup>2</sup> depositadas en el fondo de varios viales, y esta inoculación se sigue de un paso de centrifugación (700 x g a 20 °C) durante una hora ya que favorece el ataque y penetración de la bacteria en el interior de las células. Después, estas monocapas celulares se incuban en CO<sub>2</sub> al 5% a una temperatura de 37 °C durante 5 a 7 días.

La detección de *C. burnetii* en las células de estos viales se consigue mediante el examen microscópico después del procesamiento y tinción de las muestras; la bacteria aparece como un bacilo corto que no es posible teñir mediante la tinción de Gram, pero que sí puede visualizarse mediante el empleo de las tinciones de Giemsa o de Giménez.

Células P388D1 similares a macrófagos con infección crónica por *C. burnetii* cepa Nine Mile. Las células contienen grandes vacuolas llenas de bacterias, visibles por la tinción de Giménez (flecha). Aumento, 400x.

La identificación de *C. burnetii* en estas células puede realizarse también por medio de la técnica de inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales o policlonales anti-*C. burnetii* conjugados con fluoresceína isotiocianato. En algunos laboratorios, se amplifica sistemáticamente por PCR el sobrenadante del Shell vial. Aunque se ha conseguido aislar *C. burnetii* procedente de válvulas cardíacas de pacientes tratados de endocarditis por fiebre Q, se obtienen mejores resultados si las muestras clínicas son recogidas antes del inicio de la terapia antibiótica. El 15% de los pacientes con neumonía por fiebre Q que no reciben tratamiento, muestran hemocultivos positivos con este método, así como el 53% de pacientes con endocarditis.

### **DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE FIEBRE Q**

Dado que el diagnóstico clínico es difícil, en la mayoría de los casos, el diagnóstico reside en la serología.

Varios métodos han sido descritos:

- Inmunofluorescencia indirecta
- Fijación del complemento
- ELISA
- Ensayo de enzimoimmunofluorescencia (ELIFA)

- Western blot o Inmunoblot
- Dot inmunoblotting
- Microaglutinación
- Test de hemólisis indirecta
- Radioinmunoensayo.

Hay varios criterios que deben tenerse en cuenta en la elección del test diagnóstico:

- Especificidad
- Sensibilidad
- Valor predictivo positivo
- Coste
- Cantidad de antígeno requerido.

Los métodos más fiables y más comúnmente usados son la inmunofluorescencia indirecta, la fijación del complemento, el ELISA y la microaglutinación.

TABLA. Sensibilidad y especificidad de diferentes test serológicos para fiebre Q.

Test	Formas de enfermedad	Título	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
MIF	Aguda	Ig G anti-fase II "1:200; Ig M anti-fase II "1:50	58,4 100	92,2 ND
	Crónica	Ig G anti-fase I "1:800;	ND	ND
ELISA	Aguda	Ig M anti-fase I "1:1600	80	>99
Microaglutinación	Screening	Ig G anti-fase II "1:1024	ND	97,3–98,7
	Aguda	IgG anti-fase II "1:128 1:64	81,6	98,6

MIF: Microinmunofluorescencia. ND: no disponible.

#### A) INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA

La inmunofluorescencia indirecta es el método de referencia para el diagnóstico serológico de la fiebre Q. Es la técnica serológica más sencilla y una de las exactas. Para preparar antígenos para este test, *C. burnetii* cepa Nine Mile en fase II crece en capas de fibroblastos de ratón L929. Mientras los antígenos de fase I se obtienen del bazo de ratones inoculados con organismos de fase II. Este método de preparación ha demostrado la

obtención de antígenos con la más alta sensibilidad en la detección de anticuerpos de la *C. burnetii*. Asimismo, se puede usar la técnica de microinmunofluorescencia que necesita muy pequeñas cantidades de antígeno. Para evitar fijación inespecífica de anticuerpos, el suero es diluido en tampón fosfato salino con 3% de leche desgrasada para evitar la fijación inespecífica de anticuerpos. Este método puede ser usado para determinar anticuerpos para fases I y II de IgG, IgM e IgA. A pesar de todo, los resultados del test pueden ser erróneos por la presencia de factor reumatoide.

La elección del título que sirve de punto de corte negativo depende de la pureza del antígeno y de la estimulación antigénica pasada en la población estudio. Podemos usar la dilución 1:50 como la primera dilución positiva. La seroconversión se detecta entre 7 y 15 días después del comienzo de los síntomas clínicos. En el 90% de los pacientes los anticuerpos han sido detectados en la tercera semana.

## **B) FIJACIÓN DEL COMPLEMENTO**

La fijación del complemento es muy específica, pero es menos específica que la inmunofluorescencia y pierde sensibilidad. Ha sido una prueba muy utilizada.

Técnica: el suero es inactivado con calor antes de ser enfrentado con antígenos de fase II. Con este método se detectan anticuerpos anti fase I y II. Sin embargo en pacientes con fiebre Q crónica pueden darse falsos negativos. Por otra parte, la reacción cruzada con antígenos del huevo de gallina produciría falsos positivos. La seroconversión se detecta más tardíamente con la fijación del complemento que con la inmunofluorescencia o ELISA (entre 10 y 20 días después del comienzo de los síntomas.)

## **C) ELISA**

Descrito por primera vez por Field y colaboradores en 1983, el enzimoimmunoensayo o ELISA fue presentado como una prueba más sensible y específica que el método de fijación del complemento para el diagnóstico de fiebre Q. Después, se propuso como un buen método para estudios seroepidemiológicos y se mostró como una excelente prueba para el diagnóstico de fiebre Q crónica, así como un test útil en el diagnóstico de fiebre Q aguda. Peter et al. y Cowley et al han demostrado también que esta técnica es incluso más sensible que la prueba de inmunofluorescencia indirecta. Mediante el ELISA, se consigue la detección tanto de los anticuerpos anti-fase I como de los anti-fase II.

El ELISA presenta como ventajas, además de su alta sensibilidad (está considerado como el método diagnóstico más sensible en estudios de Ig G), una buena correlación con los tests de fijación del Complemento y de inmunofluorescencia indirecta, que el diagnóstico puede realizarse con una única muestra sérica y que puede medirse la respuesta de diferentes clases de anticuerpos. Sin embargo, el ELISA es un método más laborioso que el test de inmunofluorescencia y requiere una experiencia considerable en la interpretación de los resultados; por tanto, su aplicación al diagnóstico de fiebre Q es todavía limitada.

Técnicamente, consiste en la detección en placas microtituladas que son recubiertas con antígenos purificados de *C. burnetii*, fijados con tiras de poliestireno al fondo de los micropocillos de las placas. El suero del paciente se diluye de manera seriada en un tampón fosfato salino que contiene Tween 20 al 0,1% y luego se incuba con los antígenos. Los anticuerpos séricos de la clase Ig G, cuando están presentes, se combinan con el antígeno bacteriano. El suero residual se elimina después mediante lavado. Para poder detectar los anticuerpos séricos, se añaden en otro paso anticuerpos de ratón anti-humano conjugados con la enzima peroxidasa o con la enzima fosfatasa alcalina, anticuerpos de ratón que son de los tipos Ig G, Ig M e Ig A. Tras un nuevo paso de lavado de los micropocillos, se adiciona un sistema de sustrato acrómico de la enzima, que en el caso de que la enzima utilizada sea la peroxidasa, el sustrato empleado es tetrametilbenzidina/peróxido de hidrógeno (TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). El sustrato es hidrolizado por la enzima y el cromógeno (el TMB en este caso) cambia a color azul. Tras detener la reacción con ácido, el TMB vira a amarillo. La intensidad del color está directamente relacionada con la concentración de anticuerpos Ig G anti-*C. burnetii* en la prueba. Los resultados pueden

leerse por comparación visual del color del suero del paciente con el color del calibrador límite, de tal forma que los pocillos con más color que el calibrador son considerados positivos. La máxima dilución considerada positiva es el título.

Para tener resultados más objetivos, se calculan una unidades de medida del ELISA mediante el cociente entre la absorbancia de la muestra y la absorbancia del calibrador límite, multiplicado el cociente por 10. El valor obtenido se interpreta de esta forma:

- <9 Unidades: resultado negativo (sin evidencia de Ig G. Si se sospecha infección reciente, debe confirmarse en una muestra recogida 7 a 14 días después).
- 9–11 Unidades: ambiguo (sugiere que la prueba debe repetirse).
- >11 Unidades: positivo (anticuerpos Ig G específicos presentes en el suero. Es sugestivo de infección pasada).

En la fiebre Q, los anticuerpos Ig G muestran valores pico a las seis semanas y van descendiendo lentamente hasta niveles más bajos que persistirán indefinidamente. Una elevación significativa de la Ig G específica sugiere infección reciente. Como los niveles de Ig G necesitan varias semanas para alcanzar su pico, puede no demostrarse una elevación en el título si no se respeta un período de tiempo adecuado entre la toma de muestras en la fase aguda y en la convaleciente, por ello se sugiere dejar un intervalo de tiempo de al menos 28 días entre las muestras de dichas fases.

Una prueba similar al ELISA, que también se ha empleado en el diagnóstico de fiebre Q, es el test de enzimoimmunoensayo con fluorescencia (ELIFA).

#### **D) WESTERN BLOT**

Western blot es un método tanto específico como sensible para el diagnóstico de la fiebre Q. Sin embargo, en algunos ensayos, los resultados no fueron reproducibles y el test perdía sensibilidad. Por otra parte, es un método lento y no útil para screening. Se basa en todo el espectro antigénico de *C. burnetii*, permitiendo la diferenciación de la respuesta humoral para un número de componentes antigénicos distintos de este microorganismo. Los rangos de masa molecular de los antígenos son de 10 a 100 kDa.

#### **E) DOT INMUNOBLOTTING**

Cowley et al. demostró que el Dot inmunoblotting es tan sensible y específico como el ELISA y la inmunofluorescencia, y más sensible que la fijación del complemento. Ellos también han propuesto este test como método de screening.

#### **F) MICROAGLUTINACIÓN**

La microaglutinación es un método sencillo y sensible y es capaz de detectar una respuesta de anticuerpos temprana frente a la *C. burnetii*. Pero tiene una gran desventaja, especialmente cuando se compara con la inmunofluorescencia, ya que necesita grandes cantidades de antígeno. Más recientemente, se ha demostrado que la aglutinación con partículas de alta densidad es altamente específica y mucho más sensible que la microaglutinación.

#### **G) AGLUTINACIÓN CON PARTÍCULAS DE ALTA DENSIDAD**

Se ha descrito un test que usa la aglutinación de partículas de alta densidad. Se ha desarrollado para el diagnóstico rápido de la fiebre Q. Este test es muy específico y sensible. Según un estudio de American Society for Microbiology, este test tiene varias ventajas en comparación con los métodos convencionales. Este test es técnicamente muy simple para ser llevado a cabo en laboratorios pequeños. No requiere ni una

equipación compleja ni una gran destreza técnica. Los resultados se obtienen en menos de una hora mientras que con el resto de métodos se necesitan desde cuatro horas.

El test de aglutinación con partículas de alta densidad es altamente específico. Si se consideran los resultados del test de micro-IF como referencia, el test de aglutinación con partículas de alta densidad produce una reacción no específica de 1 a 2,836 de los sueros negativos examinados (según la American Society for Microbiology).

La alta sensibilidad de este test en la detección de anticuerpos específicos en el suero humano ha sido referida por varios investigadores. Satoh et al. y Shitara et al. han mostrado que este test es más sensible que la fijación del complemento en el diagnóstico de *Mycoplasma pneumoniae*.

El estudio de American society of Microbiology sugiere que este test tiene limitaciones para la investigaciones seroepidemiológicas. Hechemy y Rubin sugieren que los anticuerpos de algunas rickettsias, no detectados con este test, son dirigidos contra una proteína termolábil que se pierde con el método de aglutinación con partículas de alta densidad.

En humanos, la respuesta a la *C. burnetii* se caracteriza por una formación temprana de anticuerpos anti fase II, que son elevados y dominan inicialmente el proceso agudo de la fiebre Q, más tardíamente hay un incremento de anticuerpos anti fase I, que sólo aparecen con títulos elevados en la forma crónica de la enfermedad. Esto explica por qué es esencial el uso de antígenos de fase II en cualquier test diagnóstico serológico de la fiebre Q aguda. Según el estudio de American society of Microbiology, el antígeno de fase II que se usa en la aglutinación con partículas de alta densidad, es un buen antígeno para el serodiagnóstico de la fiebre Q.

Aunque todavía se necesitan más investigaciones, la aglutinación con partículas de alta densidad, es una prometedora herramienta para el serodiagnóstico rápido de la fiebre Q.

Por su simplicidad, especificidad y sensibilidad, la American Society of Microbiology recomienda su empleo en hospitales y laboratorios locales donde no es posible realizar test de inmunofluorescencia.

## **H) TEST DE HEMOLISIS INDIRECTA**

A principios de los noventa, Tokarevich et al. propusieron el test de hemólisis indirecta. Ellos sugirieron que este test podría ser altamente sensible y específico, sirviendo para el seguimiento de la fiebre Q crónica.

## **I) RADIOINMUNOENSAYO**

Doller et al. propusieron el radioinmunoensayo para el diagnóstico de la fiebre Q. Esta técnica se basa principalmente en la captura de anticuerpos Ig M. Se usa I125, por lo tanto, debe ser aplicado en laboratorios adecuadamente equipados para la radiactividad.

## **J) ADSORCIÓN CRUZADA**

La adsorción cruzada se emplea en la detección de anticuerpos que se producen por reacción cruzada con otra bacteria. Esta reacción cruzada va a variar en función de la técnica serológica usada y del animal huésped del que obtenemos el antisuero. Se han descrito reacciones cruzadas contra *Legionella pneumophila*, *Legionella micdadei*, *Bartonella quintana* y *Bartonella henselae*. La confirmación de la reacción cruzada se hace mediante adsorción cruzada y Western blot. El estudio de adsorción cruzada se lleva a cabo mezclando separadamente el suero con la bacteria relacionada en la reacción cruzada.

## **K) INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE PRUEBAS SEROLÓGICAS**

El valor predictivo positivo y negativo está influido por la prevalencia de la enfermedad, que produce un cierto grado de estimulación antigénica en la población objeto de estudio. Por lo tanto, la determinación de los valores punto de corte es muy importante para la interpretación de los resultados serológicos. Mientras que un test diagnóstico es necesario que sea muy sensible, un test seroepidemiológico debe ser muy específico para evitar falsos positivos derivados anticuerpos producidos por reacción cruzada.

La variabilidad antigénica de la *C. burnetii* es extremadamente útil para diferenciar el proceso agudo del crónico. En la fiebre Q aguda predominan los anticuerpos frente antígenos de fase II y su título es más alto que el título de anticuerpos de fase I. Tal y como ocurre en muchos otros procesos infecciosos, los primeros anticuerpos que aparecen son Ig M. Por otra parte, en las formas crónicas de la enfermedad, como la endocarditis, se detectan anticuerpos anti-fase I. Para diferenciar ambas, Tissot-Dupont y cols. recomienda los siguientes títulos de corte:

-Ig G anti fase II " 200 e Ig M anti fase II " 50 para el diagnóstico de fiebre Q aguda.

-IgG anti fase I " 800 para el diagnóstico de fiebre Q crónica.

Estos autores han demostrado también que los títulos de Ig A anti fase I no contribuyen al diagnóstico de la fiebre Q crónica.

Un título de 1:40 en la fijación de complemento es diagnóstico de fiebre Q aguda, mientras que un título de 1:2000 de anticuerpos de fase I es diagnóstico del proceso crónico. Con el test ELISA, un incremento de cuatro veces o mayor de la respuesta inmune humoral a los antígenos de *C. burnetii* es altamente predictivo de fiebre Q. Waag et al. dan títulos de punto de corte con ELISA de "1,024 para la Ig G anti-fase II; "512 para la IgM anti-fase II; " 128 para Ig G e Ig M anti fase I.

Con el test Western blot, en los resultados de la fiebre Q crónica se detectan un gran número de antígenos. La presencia de anticuerpos que reaccionan con antígenos de 50, 80 y 160 kDa es indicativo de la forma crónica de la enfermedad.

## **CRITERIOS DIAGNOSTICOS DE FIEBRE Q**

La definición de caso de fiebre Q (*Coxiella burnetii*), adoptada por los Centers for Disease Control (CDC) en mayo de 1999, recoge los siguientes criterios:

### Criterios clínicos

- Infección aguda: una enfermedad febril acompañada generalmente de malestar general, mialgias, y cefalea retrobulbar. La enfermedad grave puede presentar hepatitis aguda, neumonía y meningoencefalitis. Los hallazgos de laboratorio pueden incluir elevación de niveles de enzimas hepáticas y a veces aparece una radiografía de tórax anormal. También pueden existir infecciones asintomáticas.
- Infección crónica: una endocarditis potencialmente fatal puede evolucionar de meses a años después de la infección aguda, especialmente en personas con enfermedad valvular subyacente. Se ha descrito un síndrome similar al síndrome de fatiga crónica en algunos pacientes con fiebre Q.

### Criterios diagnósticos de laboratorio

- Cuádruple aumento o gran elevación de los títulos de anticuerpos para antígenos de *C. burnetii* en fase II o en fase I, observado en dos muestras séricas tomadas con una separación ideal de 3 a 6 semanas, o bien:

- Aislamiento de *C. burnetii* por cultivo a partir de una muestra clínica, o bien:
- Demostración en una muestra mediante detección antigénica o de ácidos nucleicos.

### Clasificación de caso de fiebre Q

- **Probable:** un caso clínicamente compatible o epidemiológicamente relacionado, con el único apoyo de un título de IgG o de IgM elevado. Los títulos de corte son los determinados por cada laboratorio. Los tests del CDC para la detección de IgG mediante inmunofluorescencia indirecta (IFA), establecen un título de 1:128 como valor límite significativo de anticuerpos.
- **Confirmado:** un caso clínicamente compatible o epidemiológicamente relacionado, que es confirmado por técnicas de laboratorio.

### PRONOSTICO

En la fiebre Q aguda, con los ensayos de inmunofluorescencia los títulos de anticuerpos alcanzan su nivel máximo entre 4 y 8 semanas después del comienzo de la enfermedad y entonces decrece gradualmente durante los siguientes 12 meses.

Dupuis et al. han mostrado que los títulos de Ig M son indetectables después de 10 a 12 semanas, mientras que para Field et al. son indetectables en 17 semanas. Con el test ELISA podrían ser incluso detectados anticuerpos específicos durante más de cinco años después del episodio agudo.

Guigno et al. han intentado correlacionar a evolución de la fiebre Q aguda con el cociente IgG/IgM basado en un único suero, pero estos datos eran demasiado imprecisos para ser útiles.

Outschoorn et al. han desarrollado un ELISA para la detección de las subclases de anticuerpos Ig G y han sugerido que IgG2 podría desempeñar un papel protector o limitante en la enfermedad crónica.

La fijación del complemento y la inmunofluorescencia pueden ser combinadas para el seguimiento. Un descenso en los títulos de la fijación del complemento frecuentemente implica la resolución, y sucede antes que un descenso en los títulos de los ensayos de inmunofluorescencia. La presencia de altos títulos de anticuerpos anti-fase I, a pesar de un adecuado tratamiento, o la reaparición de anticuerpos debe hacer sospechar una posible fiebre Q crónica.

En pacientes con anormalidades vasculares o valvulares, los que son inmunodeficientes y mujeres embarazadas deben repetirse los tests serológicos de *C. burnetii* si tienen una historia médica de fiebre Q aguda o un prolongado e inexplicable episodio de fiebre. En un paciente como éstos con fiebre Q aguda, el ensayo de inmunofluorescencia debería realizarse mensualmente durante al menos seis meses.

El seguimiento de pacientes tratados por fiebre Q crónica debería ser también serológico.

Durante la terapéutica, el test serológico se llevaría a cabo una vez al mes hasta los seis meses y después cada tres meses. Los anticuerpos decrecen muy lentamente. Cuando están presentes, los anticuerpos IgM son los primeros que desaparecen, después los anticuerpos IgA, pero los títulos de Ig G se mantienen positivos durante años.

El tratamiento antimicrobiano puede suspenderse después de 18 meses a 3 años si los títulos de IgG anti fase I están por debajo de 1:4000 y la IgA anti fase I es indetectable.

Ha habido otros intentos de predecir el curso de la fiebre Q crónica:

- Camacho et al. utilizaron la difusión radial para detectar distintas subclases de IgG. Ellos demostraron que altos niveles de Ig G1 e IgG3 se observaron en los pacientes con fiebre Q crónica, y sugirieron que la determinación de las subclases de Ig G podría ser empleada para diferenciar la infección aguda de la crónica y durante el seguimiento este test se usaría para detectar una recaída. Los mismos investigadores, usando el ELISA, vieron que los anticuerpos IgA2 fueron encontrados mayormente en la fiebre Q aguda, mientras que la IgG1 es específica para la forma crónica de la enfermedad.
- Sabatier et al. sugirieron que la determinación de las subclases de linfocitos podría predecir el curso de la fiebre Q, siendo un cociente CD4 /CD8 menor de 1 predictor de una posible recaída.

## **TRATAMIENTO**

La doxiciclina es el tratamiento de elección para la fiebre Q aguda. El tratamiento antibiótico es más efectivo cuando se inicia en los tres primeros días de la enfermedad. Una dosis de 100 miligramos de doxiciclina tomados oralmente dos veces al día durante 15–21 días, es una terapia que se prescribe con frecuencia. La terapia debe reiniciarse de nuevo si se producen recaídas.

Las quinolonas han demostrado buena actividad in vitro contra la *C. burnetii* y pueden ser otra buena opción para el tratamiento.

La endocarditis de la fiebre Q crónica es mucho más difícil de tratar efectivamente y a menudo requiere usar múltiples drogas. Se han evaluado dos protocolos diferentes de tratamiento:

- Doxiciclina en combinación con quinolonas durante al menos 4 años y
- Doxiciclina en combinación con hidroxicloroquina durante 1,5–3 años.

Con la segunda terapia se originan pocas recaídas, pero requiere exámenes rutinarios oculares para detectar acúmulo de cloroquina.

En algunos casos puede ser necesaria la cirugía para cambiar válvulas cardíacas dañadas en endocarditis por *C. burnetii*.

## **PREVENCION**

En los Estados Unidos, los brotes de fiebre Q han sido debidos principalmente a la exposición laboral de veterinarios, trabajadores de mataderos y granjas de ovejas y vacas, e investigadores de laboratorio en contacto con muestras de tejidos infectados. Los esfuerzos para la prevención y control deberían enfocarse en primer lugar, hacia estos grupos de personas y sus entornos.

Para la prevención y control de la fiebre Q deberían usarse las siguientes medidas:

- Educación sobre la fuente de infección.
- Deshacerse adecuadamente de la placenta, productos del nacimiento, membranas fetales y fetos abortados.

En Chipre, la incidencia de fiebre Q por *C. burnetii* entre ovejas y cabras se redujo por medio de un programa en el que se destruía el material abortado, se aislaban las madres afectadas y se desinfectaban los predios.

- Acceso restringido a las cuadras y laboratorios donde puede haber animales infectados. Si se utilizan sólo ovejas seronegativas en los centros de investigación se evitarán los brotes en dichas instituciones.
- Usar sólo leche y productos derivados de la misma pasteurizados. Esta medida sencilla de prevención, sirve para eliminar los casos de fiebre Q que son transmitidos por esta vía.
- Usar los procedimientos adecuados para el lavado, autoclave, y empaquetado de ropa de laboratorio.



- La vacunación de las personas expuestas al riesgo, por ejemplo los trabajadores de mataderos y veterinarios, debe realizarse si se consigue una vacuna segura.
- Cuarentena de animales importados.
- El control de los ectoparásitos de vacas, ovejas y cabras también es importante para el control de la fiebre Q.
- Proporcionar las facilidades necesarias para que las granjas de ovejas se localicen a cierta distancia de las áreas pobladas. Los animales deberían someterse rutinariamente a pruebas para detectar anticuerpos contra *C. burnetii*, y también tomarse medidas para prevenir el transporte de partículas de aerosol a áreas de población.
- Concienciar a las personas del alto riesgo que trae consigo el desarrollo de una fiebre Q crónica, especialmente en personas con enfermedad valvular cardíaca preexistente o individuos con prótesis vasculares.
- Debido a la ausencia de diseminación persona a persona, no existe necesidad de aislar a los pacientes hospitalizados con fiebre Q.

Se ha desarrollado una vacuna para la fiebre Q que ha logrado proteger a los individuos de este marco ocupacional en Australia. Sin embargo, esta vacuna no está disponible comercialmente en los Estados Unidos. Las personas que desean ser vacunadas deben primero realizar una prueba cutánea para determinar si ha existido una historia de exposición previa. Aquellos individuos que han tenido un contacto anterior a *C. burnetii* no deberían recibir la vacuna porque pueden originarse varias reacciones localizadas en el área de inyección de la vacuna.

Una vacuna para uso en animales también se ha desarrollado, pero no está disponible.

**Significado para el bioterrorismo:** *C. burnetii* es un agente altamente infeccioso que es bastante resistente al calor y al ambiente seco. Puede ser aerotransportada e inhalada por humanos. Un solo microorganismo puede causar enfermedad en una persona susceptible. Este agente podría desarrollarse para su uso en guerras biológicas y se considera una potencial amenaza terrorista.

## CONCLUSION

La fiebre Q es todavía una enfermedad poco conocida, a pesar de ser descrita hace más de 60 años. El reservorio parece ser algún mamífero, aunque la garrapata también puede ser un reservorio.

Aunque la prevalencia exacta es desconocida, probablemente el número de casos de fiebre Q es subestimado.

La presentación clínica es muy variada e incluye formas severas con un mal pronóstico. Frecuentemente los casos agudos se presentan como una infección asintomática, como un síndrome gripal, como una neumonía o como una hepatitis. Probablemente los factores del huésped juegan un importante papel en el desarrollo de la enfermedad crónica, que se puede presentar como una endocarditis con un cultivo de sangre negativo.

El diagnóstico de fiebre Q debe ser considerado en los casos de fiebre de origen desconocido, especialmente si el sujeto ha estado en contacto con mamíferos posiblemente contaminados.

Los mejores tests para el diagnóstico son los que permiten la detección directa de la bacteria, e incluye la PCR, el cultivo de células en viales protegidos y la inmunodetección en tejidos obtenidos de biopsias. Todas estas técnicas se deben hacer en laboratorios con un nivel de protección adecuado y con personal especializado. En los casos crónicos antes de comenzar el tratamiento, se debe realizar la detección directa de *C. burnetii* en sangre o tejidos.

Para el diagnóstico específico, pero indirecto, se deben utilizar técnicas muy sensibles que detecten los anticuerpos de manera precoz en el curso de la enfermedad. Se han descrito muchas técnicas, pero el método

de referencia es la inmunofluorescencia que es muy sensible y específica. En los casos de fiebre Q aguda el diagnóstico debería ser confirmado por unos títulos de anticuerpos, obtenidos por inmunofluorescencia, superiores al punto de corte calculado para cada área geográfica, o bien por un incremento de los títulos de anticuerpos en cuatro veces detectados por inmunofluorescencia, fijación del complemento, ELISA o microaglutinación.

Se recomienda que a todos los pacientes con endocarditis con hemocultivo negativo, o con fiebre y aneurisma aórtico, o con fiebre prolongada, hepatitis granulomatosa, o neumonía atípica en áreas donde fiebre Q es endémica, se les realice al menos un test serológico para la fiebre Q.

## **BIBLIOGRAFIA**

- Broqui P, Dupont HT, Drancourt M, Berland Y, Etienne J, Leport C, et al. Chronic Q fever: ninety-two cases from France, including 27 cases without endocarditis. *Arch Intern Med.* 1993; 153:642–648.
- Daza Pérez RM, Castillo Ribera R, García–Carbajosa S, Ojeda Fernández E, Dámaso López D, Moreno López M. Estudio de la tasa de anticuerpos a *Coxiella burnetii* en la población sana. *Med Clin.* 1980; 74(2):52–54.
- Dupuis G, Peter O, Peacock M, Burgdorfer W, Haller E. Immunoglobulin responses in acute Q fever. *J Clin Microbiol.* 1985; 22(4):484–487.
- Fournier PE, Marrie TJ, Raoult D. Diagnosis of Q fever. *J Clin Microbiol.* 1998; 36(7):1823–1834.
- García–Rodríguez JA, Picazo JJ, editores. *Microbiología médica.* Madrid: Mosby; 1996.
- Hunt JG, Field PR, Murphy AM. Immunoglobulin responses to *Coxiella burnetii* (Q fever): single–serum diagnosis of acute infection, using an Immunofluorescence technique. *Infect Immun.* 1983; 39(2):977–981.
- Hunt JG, Field PR, Murphy AM. Detection and persistence of specific Ig M antibody to *Coxiella burnetii* by Enzimed–Linked Immunosorbent Assay: a comparison with Immunofluorescence and Complement Fixation tests. *J Infect Dis.* 1983; 148(3):477–487.
- Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM, editores. *Zinsser Microbiología.* 20.<sup>a</sup> ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 1996.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Diagnóstico microbiológico: texto y atlas Color.* 5.<sup>a</sup> ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 1999.
- Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editores. *Enfermedades infecciosas: principios y práctica.* 4.<sup>a</sup> ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 1997.
- Maurin M, Raoult D. Q fever. *Clin Microbiol Rev.* 1999; 12:518–553.
- Peacock MG, Philip RN, Williams JC, Faulkner RS. Serological evaluation of Q fever in humans: enhanced phase I titers of immunoglobulins G and A are diagnostic for Q fever endocarditis. *Infect Immun.* 1983; 41(3):1089–1098.
- Peter O, Dupuis G, Bee D, Lüthy R, Nicolet J, Burgdofor W. Enzyme Immunoassay for Q fever: comparison with Complement Fixation and Immunofluorescence tests and Dot Immunoblotting. *J*

Clin Microbiol. 1992; 30(9):2451–2455.

- Pumarola A, Rodríguez–Torres A, García–Rodríguez JA, Piédrola–Angulo G. Microbiología y Parasitología médicas. 2.ª ed. Barcelona: Masson–Salvat Medicina; 1995.
- Reimer LG. Q fever. Clin Microbiol Rev. 1993; 6(3):193–198.
- Sherris JC, editor. Medical Microbiology. 2.**nd** ed. New York: Elsevier; 1990.
- Soriano F, Camacho MT, Ponte C, Gómez P. Serological differentiation between acute (late control) and endocarditis Q Fever. J Clin Pathol. 1993; 46:411–414.
- Spyridaki I, Gikas A, Kofteridis D, Psaroulaki A, Tselentis Y. Q fever in the greek island of Crete: detection, isolation and molecular identification of eight strains of *Coxiella burnetii* from clinical samples. J Clin Microbiol. 1998; 36(7):2063–2067.
- Tellez A, Sainz C, Echevarria C, Carlos S de, Fernández MV, León P, et al. Q fever in Spain: acute and chronic cases, 1981–1985. Rev Infect Dis. 1988; 26(10):1978–1982.
- Uhaa IJ, Fishbein DB, Olson JG, Rives CC, Waag DM, Williams JC. Evaluation of specificity of Indirect Enzyme–Linked Immunosorbent Assay for diagnosis of human Q fever. J Clin Microbiol. 1994; 32(6):1560–1565.
- Urbano–Márquez A, Grau Junyet JM, Valls Arana V, Periz Sagué A, Cardellach F, Navarro López F, et al. Endocarditis por *Coxiella burnetii*: forma crónica de la fiebre Q. A propósito de un caso. Med Clin. 1979; 73(6):242–246.
- Waag D, Churlay J, Marrie T, England M, Williams J. Validation of an Enzyme Immunoassay for serodiagnosis of acute Q fever. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1995; 14(5):421–427.
- Williams JC, Thomas LA, Peacock MG. Identification of phase–specific antigenic fractions of *Coxiella burnetii* by Enzyme–Linked Immunosorbent Assay. J Clin Microbiol. 1986; 24(6):929–934.
- Zhang GQ, Nguyen V, Ho T, Ogawa M, Hotta A, Yamaguchi T, et al. Clinical evaluation of a new PCR assay for detection of *Coxiella burnetii* in human serum samples. J Clin Microbiol. 1998; 36(1):77–80.
- Zhang GQ, Hotta A, Mizutani M, Ho T, Yamaguchi T, Fukushi H, et al. Direct identification of *Coxiella burnetii* plasmids in human sera by nested PCR. J Clin Microbiol. 1998; 36(8):2210–2213.

36

1

# PREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-C.BURNETII

