

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA**

CARRERA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

*Trabajo de titulación previo a
la obtención del título de Médica
Veterinaria Zootecnista*

TRABAJO EXPERIMENTAL:

**“PREVALENCIA DE FIEBRE Q EN CANINOS (*Canis lupus familiaris*)
ATENDIDOS EN CAMPAÑAS DE ESTERILIZACIÓN APARENTEMENTE
SANOS, MEDIANTE ELISA INDIRECTO”**

AUTORA:

SONIA PATRICIA TORRES LEMA

TUTOR:

ING. MAURICIO XAVIER SALAS RUEDA, Ms.C.

CUENCA - ECUADOR

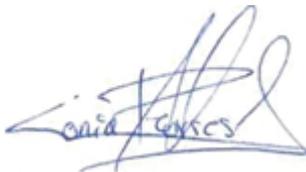
2021

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Sonia Patricia Torres Lema con documento de identificación N° 0302022900, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana, la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo de titulación: **“PREVALENCIA DE FIEBRE Q EN CANINOS (*Canis lupus familiaris*) ATENDIDOS EN CAMPAÑAS DE ESTERILIZACIÓN APARENTEMENTE SANOS, MEDIANTE ELISA INDIRECTO”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Médica Veterinaria Zootecnista*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autora me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, junio de 2021.



Sonia Patricia Torres Lema

C.I. 0302022900

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **“PREVALENCIA DE FIEBRE Q EN CANINOS (*Canis lupus familiaris*) ATENDIDOS EN CAMPAÑAS DE ESTERILIZACIÓN APARENTEMENTE SANOS, MEDIANTE ELISA INDIRECTO”**, realizado por Sonia Patricia Torres Lema, obteniendo el *Trabajo Experimental*, que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, junio de 2021.



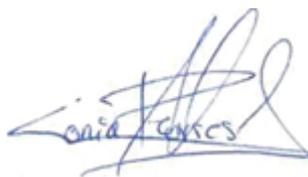
Ing. Mauricio Xavier Salas Rueda, Ms.C.

C.I. 0603329681

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Sonia Patricia Torres Lema con documento de identificación N° 0302022900, autora del trabajo de titulación: **“PREVALENCIA DE FIEBRE Q EN CANINOS (*Canis lupus familiaris*) ATENDIDOS EN CAMPAÑAS DE ESTERILIZACIÓN APARENTEMENTE SANOS, MEDIANTE ELISA INDIRECTO”**, certifico que el total contenido del *Trabajo Experimental*, es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, junio de 2021.



Sonia Patricia Torres Lema

C.I. 0302022900

DEDICATORIA

El presente trabajo de titulación va dirigido a Dios por regalarme un día más de vida; a mis padres Ana Luisa Lema y Ernesto Torres por sus consejos, sus esfuerzos e inculcarme valores y sobre todo por su apoyo incondicional en culminar mis estudios.

A mis hermanos: Marco, Klever y Carlos; de manera especial a Wilson por ser parte de mis logros y es como mi segundo padre quien con su apoyo incondicional que ha estado apoyándome con sus consejos en las buenas y malas; a Nelly quien me motivo a no rendirme y a pesar de las dificultades siempre me daba un aliento de ánimo; y a sus respectivas parejas que de alguna manera aportaron un granito de arena para lograr mi meta, siempre estarán presente en mi memoria y en mi corazón, a los cuales les deseo éxitos en su vida.

A mis sobrinos: Jordan, Kelly, Andy, Daniel, Adriana y Sofia por ser el motor de mi vida y alegrarme cada día con sus locuras.

A todos mis docentes que me acompañaron durante toda mi vida universitaria, los cuales me inculcaron valores como el respeto, la responsabilidad y la puntualidad.

Finalmente agradezco a la vida por presentarme personas maravillosas con las que uno puede contar siempre, a los que les considero mis amig@s, sin importar el tiempo ni la distancia.

Mil gracias a todos por cada momento compartido y las experiencias vividas sea cual sea la circunstancia y los tiempos vividos.

AGRADECIMIENTO

Con infinito amor a Dios por regalarme un día más de vida y concederme la bendición; a todos mis hermanos, sobrinos y de manera especial a mis padres Ernesto y Ana, por formar parte de mi existencia y de mis metas alcanzadas.

Un profundo agradecimiento a los docentes: Dr. Patricio Garnica, Dr. Cristhian Sagbay, Dra. Monica Brito, Ing. Pedro Webster, Dr. Juan Masache quienes me han acompañado durante toda mi vida universitaria y que conforman la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia sede Cuenca, que mediante sus consejos y enseñanzas impartidas en las aulas forman profesionales de bien, les deseo éxitos en sus vidas.

A mi tutor el Ing. Mauricio Salas por su apoyo incondicional durante todo el proceso de la investigación y de deseo éxitos en su vida personal y profesional.

INDICE GENERAL

RESUMEN.....	11
ABSTRACT.....	12
1. Introducción	13
1.1. Problema.....	14
1.2. Delimitación	14
1.2.1. Delimitación Temporal	14
1.2.2. Delimitación Espacial	14
1.2.3. Académica.....	15
1.3. Explicación del problema.....	15
1.4. Objetivos	15
1.4.1. Objetivo general	15
1.4.2. Objetivos específicos	15
1.5. Hipótesis.....	16
1.5.1. Hipótesis nula.....	16
1.5.2. Hipótesis alternativa.....	16
2. REVISIÓN, ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL	17
2.1. Fiebre Q generalidades	17
2.1.1. Importancia de la enfermedad en la salud.....	17
2.1.2. Agente etiológico: <i>Coxiella burnetii</i>	18
2.1.3. Taxonomía	18
2.1.4. Ciclo biológico de la fiebre Q	19

2.1.5. Epidemiología	19
2.1.6. Patogenia	20
2.1.7. Transmisión.....	20
2.1.8. Manifestaciones clínicas	21
2.1.9. Diagnostico	22
2.1.10. Tratamiento	24
2.1.11. Prevención.....	24
2.2. Fiebre Q en el ser humano.....	24
2.2.1. Riesgo para la salud publica.....	25
2.2.2. Fiebre Q como antropozoonosis	25
2.2.3. Transmisión de <i>C. burnetii</i> al ser humano	26
3. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1. Diseño estadístico.....	27
3.2. Población y Muestra.....	27
3.2.1. Toma de muestras	27
3.2.2. Preparación de la muestra	28
3.2.3. Diseño de toma de muestra	28
3.2.4. Población y muestra	28
3.2.5. Operalización de Variables	28
3.2.6. Descripción de Análisis de Sueros Sanguíneos	29
3.3. Materiales físicos.....	31
3.4. Diseño.....	32
3.5. Población y muestra	32
3.6. Consideraciones éticas	32

4.	RESULTADO Y DISCUSIÓN	33
5.	CONCLUSION Y RECOMENDACIÓN	34
5.1.	Conclusiones	34
5.2.	Recomendaciones	35
6.	Bibliografía.....	36
7.	ANEXOS.....	39

Índice de tablas

Tabla 1.	Datos meteorológicos.....	14
Tabla 2.	Taxonomía C burnetti	18
Tabla 3.	Variables dependientes: prevaecía de anticuerpos mediante ELISA indirecto.....	28
Tabla 4.	Variables independientes: Animales.....	29
Tabla 5.	Materiales de físicos	31
Tabla 6.	Materiales Químicos	31
Tabla 7.	Materiales biológicos.....	32

Índice de figuras

Figura 1.	Ciclo biológico Coxiella Burnetti	19
-----------	---	----

Anexos

Imagen 1. Suero de caninos procesado	39
Imagen 2. Preparación de los pools	39
Imagen 3. Trabajo de laboratorio	40
Imagen 4. Lectura de ELISA	40

RESUMEN

Teniendo en cuenta que las enfermedades zoonóticas son comunes en nuestro medio por la constante interacción entre hombre-animal, la Fiebre Q es una enfermedad esporádica en caninos domésticos que pueden llegar a ser portadores. La presente investigación fue realizada para medir la prevalencia antígenos para Fiebre Q en caninos domésticos (*Canis lupus familiaris*). Las muestras fueron recolectadas en los cantones Paute y Santa Isabel, de un total de 112 caninos entre machos y hembras, que serían sometidos a una intervención quirúrgica de esterilización, sin importar la edad. La metodología empleada en el presente ensayo fue mediante punción directa en los pacientes luego se procedió a centrifugar las muestras para la obtención del plasma sanguíneo. Para el análisis de las muestras se realizaron pools de 10 pacientes cada uno, luego se analizó mediante el método de ELISA indirecto multiespecies, con los resultados se calculó la prevalencia de Fiebre Q, cuyo resultado obtenido en caninos fue de una seroprevalencia negativa del 100%.

ABSTRACT

Taking into account that zoonotic diseases are common in our environment due to the constant interaction between man and animal, Q fever is a sporadic disease in domestic canines that can become carriers. The present investigation was carried out to measure the prevalence of antigens for Q fever in domestic canines (*Canis lupus familiaris*). The samples were collected in the cantons of Paute and Santa Isabel, from a total of 112 canines between males and females, which would be subjected to a surgical sterilization intervention, regardless of age. The methodology used in the present trial was by direct puncture in the patients, then the samples were centrifuged to obtain blood plasma. For the analysis of the samples, pools of 10 patients each were made, then it was analyzed by the indirect multispecies ELISA method, with the results the prevalence of Q fever was calculated, whose result obtained in canines was a negative seroprevalence of 100%.

1. Introducción

La Fiebre Q ha sido reportada en países de América Latina como Brasil, Perú, Colombia, Venezuela y Ecuador, sin embargo, poco se conoce sobre la incidencia de esta enfermedad.

Entre los años 2001 y 2004, se llevó a cabo un estudio longitudinal en la cuenca amazónica del Ecuador, con el fin de identificar el agente etiológico de un brote de enfermedades febriles y poder capacitar a los profesionales de la salud acerca de su diagnóstico, tratamiento y de generar estrategias de prevención. El estudio se llevó a cabo en pacientes del Hospital Vozandes del Oriente en el pueblo de Shell (Pastaza) y el Hospital de la IV División de Amazonas en Puyo (Pastaza), el grupo de estudio estuvo compuesto por niños de 0 a 17 años, adultos desde 18; las muestras fueron procesadas en el U.S. Naval Medical Research Center Detachment en Perú. La metodología se centró primero en agentes etiológicos virales, para lo cual se realizaron cultivos celulares, ensayos de inmunofluorescencia con anticuerpos virales específicos, RT-PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa en Transcripción Reversa) y se corrieron un ELISAs (Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas) para identificar presencia de IgM específicos para cada virus. En aquellas muestras negativas para las patologías virales buscadas, se corrió un test serológico con kits de PanBio para determinar agentes etiológicos bacterianos. Finalmente, para detectar Malaria, se utilizó un test de frotis sanguíneo estándar. Entre los agentes etiológicos encontrados, *Leptospira* fue el más prevalente pues constituyó el 13.2% de los casos, mientras *Coxiella burnetii* el 4.9%. Para la mayoría de los agentes etiológicos testeados en este estudio, entre los que se encuentra *C. burnetii*, los factores de edad, sexo y cuadro clínico, no fueron patrones de discriminación, lo que confirma la dificultad de su diagnóstico especialmente en zonas aisladas (Manock, et al., 2009, p. 147).

1.1. Problema

La presente investigación busca determinar la presencia de fiebre Q en caninos de ambos sexos mediante ELISA indirecto, ya que *Coxiella burnetti* es zoonótica, en virtud que la Universidad Politécnica Salesiana mantiene proyectos de esterilización con varias entidades locales en la cual participan estudiantes y profesores. El presente proyecto investigativo permitirá determinar la presencia o ausencia de fiebre Q, y a partir de ello tomar medidas estrictas en cuanto al manejo y el proceso que conlleva todo el proceso de esterilización.

Las pruebas serológicas desempeñan un papel importante en el seguimiento y mantenimiento del nivel de salud tanto publica y a su vez en el ámbito de sanidad animal.

1.2. Delimitación

1.2.1. Delimitación Temporal

El presente proyecto investigativo tuvo una duración de 400 horas; las cuales fueron distribuidas en el proceso experimental y la redacción del documento escrito.

1.2.2. Delimitación Espacial

El proyecto de investigación se realizó en el laboratorio de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, el cual se encuentra ubicada en la provincia del Azuay cantón Cuenca.

Tabla 1. *Datos meteorológicos*

Coordenadas (UTM)	17M718083;9684295
Superficie	Puesto 3.º - Total 72 km ²
Altitud	Media - 2885 m s. n. m.
Clima	15° C
Población (2010)	Puesto 3.º
• Total	329 928 hab.
• Densidad	4673,86 hab/km ²
• Metropolitana	661 685 (Conurbación de Cuenca) hab.

1.2.3. Académica

Mediante el trabajo investigativo, se fomenta en el fortalecimiento tanto en la salud pública como la salud animal, y a su vez va a permitir aportar conocimientos para la prevención porque *Coxiella Burnetti* es zoonótica.

13. Explicación del problema

La interacción mutua que existe entre caninos y el hombre es muy estrecha y la facilidad de contraer una enfermedad zoonótica entre ambas especies es amplia como el caso de Fiebre Q, que es una enfermedad que está presente en nuestro medio; pero los estudios están basados principalmente en rumiantes, de allí surge la importancia de hacer un estudio en caninos ya que por la forma de contagio de la enfermedad son un factor de transmisión en la especie estudiada, a partir de ello se pueden tomar las respectivas medidas de precaución al momento de la manipulación de los pacientes en las campañas de esterilización o en cualquier proceso que involucre la manipulación de los mismos.

14. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

- Determinar la prevalencia de fiebre Q en caninos (*Canis lupus familiaris*) atendidos en campañas de esterilización aparentemente sanos, mediante ELISA indirecto, de los cantones Paute y Santa Isabel

1.4.2. Objetivos específicos

- Detectar anticuerpos contra *Coxiella burnetti* en caninos mediante la técnica de ELISA indirecto
- Calcular la prevalencia de *Coxiella burnetti* en caninos.

15. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis nula

La prevalencia es alta de *Coxiella burnetti* en caninos (*Canis lupus familiaris*) de los cantones Paute y Santa Isabel

1.5.2. Hipótesis alternativa.

La prevalencia es baja de *Coxiella burnetti* en caninos (*Canis lupus familiaris*) de los cantones Paute y Santa Isabel.

2. REVISIÓN, ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

2.1. Fiebre Q generalidades

Coxiella burnetti es el agente causal de la denominada Fiebre Q. Esta enfermedad fue caracterizada por primera vez en Australia en 1935 (Statistics and Epidemiology). Su nombre proviene de la palabra “query”, interrogante, debido al carácter desconocido de su origen microbiológico (Fournier, Etienne, Harle, Habib, y Raoult, 2001, p. 1441).

La fiebre Q es una zoonosis de distribución universal que afecta a diversas especies animales, especialmente rumiantes, y de modo accidental al hombre. Fue descrita por Derrick en 1937 y, ese mismo año, Burnet, Davis y Cox identificaron el microorganismo como una rickettsia a partir de tejidos de cobayas inoculados experimentalmente y la denominaron *Coxiella burnetii* (Mc Dade, 1990, p. 5).

La infección suele ser asintomática, pero se describen formas sintomáticas muy polimórficas e inespecíficas, de carácter agudo, que progresan favorablemente, junto con un número de casos que derivan en formas crónicas con afectación cardíaca, complicaciones y evolución fatal en ausencia de tratamiento. La sospecha y orientación clínica correctas, la necesidad de estudios complementarios de las funciones cardíaca y hepática, así como el correcto diagnóstico microbiológico constituyen un reto para el manejo adecuado de estos pacientes (Fraile y Muñoz, 2010, p. 30).

2.1.1. Importancia de la enfermedad en la salud

Importancia de animales de áreas endémicas constituye un riesgo para la salud pública, como aconteció en 1997 en la provincia de **Entre Ríos**. Cabras lecheras importados del Uruguay fueron la causa de un brote humano de fiebre Q. Los animales no manifestaron enfermedad del ingreso, ni se observó posteriormente abortos o morbilidad en la cría. El estado sanitario del establecimiento era óptimo con los controles sanitarios adecuados, lo que demuestra el

carácter solapado con el cual puede presentarse la enfermedad. La transmisión de fiebre Q a partir de apariciones programadas de cabras puede cómo constituir un riesgo profesional en el futuro, debido al aumento de los tambos caprinos, especialmente en regiones no tradicionales para este tipo de ganado cómo es la pampa húmeda (Seijo, 2007, p. 367).

2.1.2. Agente etiológico: *Coxiella burnetii*

La fiebre Q está producida por la rickettsia *Coxiella burnetii*, que es un cocobacilo gram-negativo, intracelular obligado, de un tamaño aproximado de 0,2 por 0,7 micras. Posee dos formas antigénicas, conocidas como fase I, que es muy contagiosa y patógena, y fase II, que es inocua. Crece exclusivamente en fagolisosomas de células eucariotas. Es capaz de formar esporas, lo cual le permite sobrevivir mucho tiempo en ambientes adversos, como por ejemplo el suelo (Glazunova , et al., 2005, p. 1213). Este microorganismo, debido a su gran contagiosidad, se encuentra entre los potencialmente utilizables como arma de bioterrorismo (Madariaga, Rezai, Trenholme, y Weinstein, 2003, p. 710).

2.1.3. Taxonomía

Tabla 2. *Taxonomía C burnetii*

Denominación	Descripción
Dominio	Bacteria
Reino	Monera
Filo	Proteobacteria
Clase	Proteobacteria Gamma
Orden	Legionellales
Familia	Coxiellaceae
Genero	Coxiella
Especie	<i>Coxiella burnetii</i>

Fuente: (López, 2020)

2.1.4. Ciclo biológico de la fiebre Q

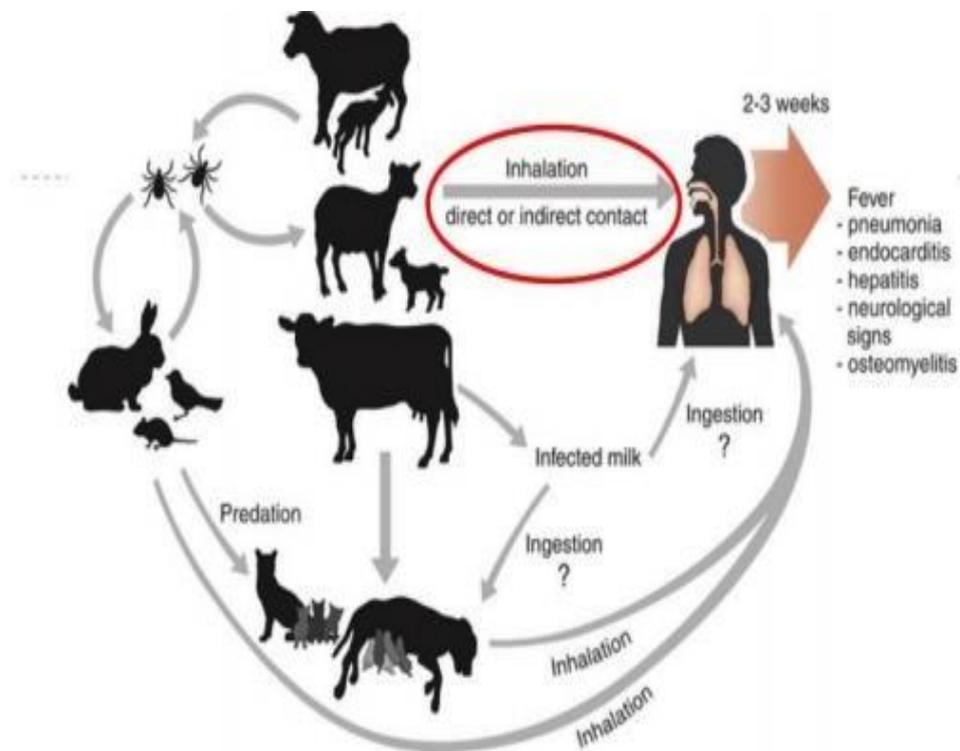


Figura 1. Ciclo biológico *Coxiella Burnetii*

(Fica, 2018)

2.1.5. Epidemiología

Las principales fuentes de infección de fiebre Q son las vacas, las ovejas y las cabras, pero también pueden serlo otros muchos animales, entre los que figuran los domésticos. Los reservorios de la enfermedad son esos mismos animales, y también las aves y las garrapatas.

C. burnetii se localiza principalmente en el útero y en las glándulas mamarias de las hembras de los animales, y en ellos la infección se activa durante la gestación, de modo que en la placenta se encuentran altas concentraciones del microorganismo (Roca, 2007, p. 558).

Los microorganismos eliminados a través de distintas secreciones y excreciones animales se vehiculizan en forma de aerosoles, alcanzando de esta manera la vía aérea, donde, luego de una primera fase de replicación en los linfáticos regionales se disemina por vía linfohemática. La vía aérea está implicada en los casos de ingesta de alimentos contaminados (Seijo, 2007, p. 367).

2.1.6. Patogenia

La fiebre Q puede adoptar dos formas, una aguda y otra crónica. La primera se caracteriza una reacción inflamatoria intensa y por la existencia de un escaso número de microorganismos, que además son eliminados con rapidez. La segunda se caracteriza por una reacción inflamatoria mucho menos intensa y por la presencia de gran cantidad de microorganismos, que además no son completamente eliminados. Diversos factores del huésped, entre los que destacan las integrinas, la interleucina 10 y el factor de necrosis tumoral juegan un importante papel en el desarrollo de una modalidad u otra de reacción inflamatoria. También son importantes para ello el tamaño y la patogenicidad del inóculo, y la vía de contagio de la infección (Raoult , Marrie , y Mege, 2005, p. 219).

2.1.7. Transmisión

C. burnetii se disemina en la leche, orina y heces. Pero las mayores concentraciones de las bacterias se detectan durante la parición, pudiendo alcanzar hasta 1.000 millones por centímetro cúbico en el líquido amniótico y la placenta. En el medio ambiente, las bacterias adquieren una forma semejante a una espora pequeña, densa y muy resistente, que soporta el calor y la desecación. Contaminan el polvo y el viento puede transportarlas hasta lugares muy alejados. Son tan infecciosas que la inhalación de un solo organismo puede provocar la enfermedad clínica en animales y personas.

Habitualmente, los brotes aparecen cuando los fluidos de una parición o aborto contaminan el medio ambiente.

La fiebre Q también se propaga por conducto de las garrapatas, que transmiten las bacterias de animales infectados a otros susceptibles. Como *C. burnetii* se disemina en sus heces, las garrapatas también contaminan el medio ambiente. Debido a que las bacterias están igualmente presentes en la leche de los animales infectados, el consumo de leche infectada sin pasteurizar constituye también una vía de transmisión (Oie, 2021, p. 2).

2.1.8. Manifestaciones clínicas

Pueden distinguirse formas clínicas agudas o crónicas. El rango de manifestaciones agudas es variable: formas inaparentes (infección sin enfermedad), síndrome febril inespecífico, neumonía atípica con o sin agresión hepática, hepatitis y cuadros de afectación neurológica o hematológica. Existen el correlato entre el tipo de plásmido y la evolución de la enfermedad. Así el plásmido QH1 se asocia a enfermedad aguda (neumonía, hepatitis y el QRS a enfermedad crónica como la endocarditis.

La neumonía comienza con hipertermia, cefaleas (que son muy características) sudoración, mialgias. Los primeros días puede confundirse con una “virosis respiratoria”, sin embargo no se registran síntomas de coriza. La sintomatología respiratoria consiste en tos con o sin expectoración, dolor torácico inspiratorio muy rara vez esputo hemoptoico o disnea. En sujetos con patología pulmonar previa o inmunodepresión, la neumonía puede adquirir carácter grave. En la mayoría de los casos existen datos de agresión hepática como ictericia o solo alteración de los parámetros bioquímicos en la forma de colestasis intrahepática.

La agresión hepática puede dominar el cuadro clínico y ser la única manifestación de enfermedad. Presente 3 modalidades: un patrón histológico y bioquímico similar a las hepatitis virales, con las que debe realizarse el diagnóstico diferencial, una elevación moderada de las

transaminasas con discreta nula elevación de la bilirrubina directa. Otras manifestaciones atribuidas a la fiebre Q incluyen: alteraciones neurológicas como “meningitis aséptica” polineuritis, diversas secuelas posmeningitis; alteraciones hematológicas como anemia hemolítica, trombocitopenia, síndrome mononucleótido, etc.; osteomielitis y una posible pero no demostrada asociación con la enfermedad de Kawasaki (Seijo, 2007, pp. 367-68).

2.1.9. Diagnostico

C. burnetii puede aislarse a partir de extensiones de sangre o de muestras de tejidos, sin embargo, las técnicas necesarias para ello no suelen realizarse en la mayoría de los laboratorios, debido al riesgo de contagio que conllevan. También existen procedimientos diagnósticos basados en técnicas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para la detección del ADN del microorganismo en distintos especímenes, sin embargo su empleo no se halla muy difundido por ahora (Rolain y Raoult, 2005, p. 616).

La serología continúa siendo el procedimiento diagnóstico más empleado. De las distintas modalidades existentes, la más recomendable es la basada en la inmunofluorescencia indirecta, que debe ir precedida de la adsorción del factor reumatoide. Para establecer el diagnóstico de enfermedad aguda es necesario demostrar un aumento de cuatro veces o más en el título de anticuerpos entre la fase aguda y la de convalecencia. Y para establecer el diagnóstico de enfermedad crónica, con un cuadro clínico compatible, suele ser suficiente con detectar un título de anticuerpos frente a antígenos de fase I de tipo IgG igual o superior a 1:800. También es característico de la enfermedad crónica que el título de anticuerpos IgG frente a antígenos de fase I sea mucho más alto que el de dichos anticuerpos frente a antígenos de fase II, justo al contrario de lo que sucede en la enfermedad aguda (Slaba , Skultety , y Toman , 2005, p. 124)

2.1.9.1. Prueba de ELISA

Las pruebas inmunoenzimáticas fueron desarrolladas hacia 1975 por Engvall y Perlmann, quienes decidieron marcar los anticuerpos con una enzima, de forma tal, que al usar el sustrato específico de la enzima se pudiera determinar la presencia del anticuerpo; varios tipos de enzimas fueron utilizados siendo las más usadas, ureas a, fosfatasa alcalina y peroxidasa. La prueba inicialmente conocida por la sigla ELISA por Enzyme Linked Immunosorbent Assay y ahora simplemente como EIA (Enzyme Immune Assay), mostró la posibilidad de ser utilizada como técnica directa para investigar la presencia de antígenos particulares o como prueba indirecta para investigar anticuerpos específicos (Guzmán y Maye, 1999, p. 93).

La técnica ELISA se fundamenta en la premisa de que luego de acoplar antígenos solubles o anticuerpos a una matriz sólida insoluble, éstos retienen la actividad inmunológica y en que estas biomoléculas también pueden unirse a una enzima, reteniendo el conjugado resultante, tanto la actividad enzimática como inmunológica (Ochoa, 2012, p. 6).

En el campo de las enfermedades infecciosas los procedimientos más comunes son la técnica de captura para la investigación de antígeno y la técnica indirecta para investigación de anticuerpos (Guzmán y Maye, 1999, p. 94).

2.1.9.1.1. Clasificación de los ELISAs

Existen diferentes clasificaciones para los ELISAs, algunas de ellas contradictorias, aunque basadas fundamentalmente en los principios de reacción. Por lo tanto, tenemos:

Técnicas indirectas: Estas investigan la presencia de anticuerpos IgG, IgM o Ig A para un determinado antígeno sea este un virus, parásito, bacteria u hongo; para ello, los sistemas traen las placas de poliestireno sensibilizadas con los antígenos respectivos (Guzmán y Maye, 1999, p. 94).

Técnica de captura: Los ensayos heterogéneos no competitivos pueden subdividirse de acuerdo con el inmunorreactante inmovilizado, serán, por tanto, ensayos de captura de anticuerpos o de antígenos. Entre los primeros se destaca el principio de ensayo indirecto, en el cual los antígenos capturan a los anticuerpos y la reacción se evidencia por el conjugado antiinmunoglobulina-enzima, o proteína A-enzima (Ochoa, 2012, p. 7).

2.1.10. Tratamiento

El tratamiento más empleado para la fiebre Q aguda consiste en doxiciclina a la dosis de 100 mg cada 12 horas durante 14 días, con el cual se consigue la curación en la mayor parte de casos. En mujeres gestantes se recomienda administrar trimetoprim-sulfametoxazol a dosis de 160-800 mg cada 12 horas durante todo el embarazo (Raoult , Fenollar , y Stein, 2002, p. 702).

2.1.11. Prevención

Para prevenir la fiebre Q es fundamental la adecuada manipulación de los desechos de animales, y la pasteurización de la leche. También es conveniente el aislamiento respiratorio y de contacto de los pacientes con enfermedad aguda. Existe una vacuna eficaz para prevenir la enfermedad, que puede ser especialmente útil en las personas más expuestas a la infección, debido a sus actividades profesionales. Por ahora esta vacuna no está ampliamente disponible (Hutson , Deaker , y Newland , 2000, p. 708).

22 Fiebre Q en el ser humano

La fiebre Q es una enfermedad causada por la bacteria *Coxiella burnetii* . Esta bacteria infecta naturalmente a algunos animales, como cabras, ovejas y ganado. La bacteria *C. burnetii* se encuentra en los productos de nacimiento (es decir, placenta, líquido amniótico), orina, heces y leche de animales infectados. Las personas pueden infectarse al respirar polvo que ha sido contaminado por heces, orina, leche y productos de nacimiento de animales infectados. Algunas personas nunca se enferman; sin embargo, quienes lo hacen suelen

desarrollar síntomas similares a los de la gripe, como fiebre, escalofríos, fatiga y dolor muscular (CDC, 2009).

2.2.1. Riesgo para la salud pública

La fiebre Q es una zoonosis peligrosa debido a su elevada infectividad en seres humanos que amenaza a veterinarios, personal de laboratorios y mataderos, así como a criadores. Exámenes han demostrado que un importante número de personas que trabajan con ganado ha desarrollado anticuerpos, lo que indica exposición al organismo.

Menos del 50% de las personas infectadas contrae la enfermedad y la mayoría de las infecciones son leves. Pero los casos humanos pueden presentar fiebre alta, cefalea, dolores musculares, dolor de garganta, náuseas, vómitos, así como dolores de pecho y estómago. La fiebre puede perdurar 1-2 semanas y provocar neumonía y trastornos hepáticos. Para tratarla es preciso administrar un tratamiento antibiótico de larga duración.

La forma crónica aguda y debilitante de la enfermedad, que con frecuencia es mortal, se diagnostica en un bajo porcentaje de casos. Las personas más vulnerables son quienes carecen de sistema inmune o padecen valvulopatías. La fatiga crónica es también un síndrome posterior a la fiebre Q. De las infecciones de laboratorio que afectan con mayor frecuencia a los seres humanos, la fiebre Q es la segunda. Se han notificado varios brotes en los que se contagiaron 15 o más personas (Oie, 2021).

2.2.2. Fiebre Q como antropozoonosis

Las zoonosis son infecciones que se transmiten en condiciones naturales desde los animales al ser humano o viceversa. Se subclasifican en dos tipos principales: las antropozoonosis, en las que el agente patógeno es transmitido principalmente desde el animal al ser humano y las zooantroponosis en las que el microorganismo es transmitido desde las personas a los animales. La fiebre Q puede clasificarse principalmente como una antropozoonosis. Lógicamente, estas

entidades son de más difícil erradicación que las infecciones cuyo único reservorio es el ser humano (Pérez, Carranza, Gutierrez, y Bolaños, 2018, p. 388).

2.2.3. Transmisión de *C. burnetii* al ser humano

Las personas se infectan al respirar polvo que ha sido contaminado por heces, orina, leche y productos de nacimiento de animales infectados que contienen *Coxiella burnetii* . El contacto directo (por ejemplo, tocar, ser lamido) con un animal no es necesario para enfermarse de fiebre Q. Las personas también pueden enfermarse de fiebre Q al comer productos lácteos contaminados y no pasteurizados . En raras ocasiones, la fiebre Q se ha transmitido a través de transfusiones de sangre, de una mujer embarazada a su feto o a través del sexo (CDC, 2009).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Diseño estadístico

La presente investigación corresponde a un estudio epidemiológico de tipo descriptivo, prospectivo de corte transversal y causal, en la cual permite determinar la presencia de los anticuerpos para el agente etiológico y luego se calcula la prevalencia del mismo en la población de estudio.

3.2. Población y Muestra

Para el presente ensayo los sujetos a ser estudiados fueron todos los pacientes que llegaron a las diferentes campañas sin importar la edad, raza, ni sexo; cuyos individuos cumplían con los protocolos que se requieren para ser intervenidos en cirugía.

3.2.1. Toma de muestras

La obtención de las muestras sanguíneas para el presente proyecto investigativo se realizará de todos los pacientes caninos aparentemente sanos; sin importar sexo, raza, procedencia, edad y estado sanitario durante las campañas de esterilización con las cuales la Universidad Politécnica Salesiana tiene convenios. Las muestras son obtenidas son mediante punción directa en la vena yugular o la vena cefálica, el procedimiento a seguir es el siguiente:

- Sujeción del paciente
- Depilación y desinfección de la zona a realizar la punción
- Punción con una jeringa de 5ml

De cada paciente se tomará una muestra de sangre de la vena yugular o la vena cefálica, con una jeringa de 5ml y colocar en los tubos de ensayo estériles previamente rotulados y posteriormente colocadas en un cooler que ya se encuentra con gel congelado para mantener la temperatura de las muestras recolectadas a una temperatura entre 4°C y 7°C, posteriormente llevadas al laboratorio de la Universidad Politécnica Salesiana, para realizar centrifugación a

2500 - 3000 rpm durante 5 minutos para extraer el suero sanguíneo de todas las muestras con una micropipeta de 100µl.

Luego de identificar los sueros sanguíneos se procede a realizar los pools, en lo que consiste en identificar a 10 sujetos y extraer 50ul de cada individuo y colocar en un vacutainer de 2cc para que se homogenice la muestra de los 10 sujetos y posteriormente ser conservada en refrigeración.

3.2.2. Preparación de la muestra

Las muestras luego de ser centrifugadas, se procedieron a realizar los pools que consiste en identificar y a la vez pipetear 10 sueros y extraer 100 microlitros de suero sanguíneo para luego reunirlos en un solo vial, y proceder a realizar respectivamente la lectura de ELISA. Cada pool debía ser de 10 pacientes, a los cuales se los volvía a rotular, en el caso del cantón Paute resultaron 7 pools de 10 pacientes cada uno; de Santa Isabel se prepararon 5 pools de 10 pacientes por cada uno y un último pool de 4 pacientes.

3.2.3. Diseño de toma de muestra

Las respectivas muestras fueron identificadas con un código cantonal y numero para cada sujeto de estudio durante las diferentes campañas de esterilización de caninos.

3.2.4. Población y muestra

La población para estudiar es el total de pacientes caninos asistidos durante las campañas de esterilización para este caso fue de 170 caninos entre machos y hembras enteros, de diferentes edades y razas.

3.2.5. Operalización de Variables

Tabla 3. *Variables dependientes: prevalecía de anticuerpos mediante ELISA indirecto*

Concepto	Categorías	Indicadores	Índice
----------	------------	-------------	--------

Prevalencia de anticuerpos en caninos.	Suero sanguíneo Anticuerpos	Volumen de suero Medición de anticuerpos.	ml Densidad óptica
--	--------------------------------	--	-----------------------

Tabla 4. *Variables independientes: Animales*

Concepto	Categorías	Indicadores	Índice
Caninos domestico	Caninos	Número de animales (machos-hembras)	Número

3.2.6. Descripción de Análisis de Sueros Sanguíneos

Para el análisis de las muestras sanguíneas se empleó el kit ELISA ID Screen ® Q Fever Indirect Multi-species (Innovative diagnostic kits) [IDVET Corp.], 2019).

El kit de ELISA Indirecto se emplea para la detección de anticuerpos dirigidos con *Coxiella burnetii* en suero o plasma o leche (Individual o mezcla).

Este kit tiene como principio detectar anticuerpos contra antígenos de fase I y fase II, dirigidos contra *Coxiella Burnetiien* suero, plasma o leche. Acorde a la información provista por el fabricante, esta prueba ELISA tiene 100% de sensibilidad (IC95%: 89.28% -100%) y 100% de especificidad (IC95%: 97.75% -100%).

El procedimiento se repitió para los nueve pocillos ELISA, cabe mencionar que cada placa contiene 96 pocillos, teniendo en cuenta que cada kit contiene los respectivos materiales con su respectivo manual de procedimiento, para el respectivo análisis de los sueros sanguíneos se emplearon las micropipetas con sus respectivas puntas.

Las diferentes muestras de los sueros sanguíneos para el presente ensayo se realizaron en una dilución 1:50; a continuación, se describe su procedimiento:

En una placa pre-dilución, añadir:

- 5µl de Control Positivo a los pocillos A1 y B1 + 145 µl de control negativo
- 50 µl de Control Negativo a los pocillos C1 y D1
- 50 µl de cada muestra a analizar en los pocillos restantes.
- 245 µl de Diluyente 2 a cada pocillo

En la Placa Elisa, añadir:

- 100 ul de Control Positivo pre-diluido a los pocillos E12 y F12
- 100 µl de Control Negativo pre-diluido a los pocillos E12 y F12
- 100 µl de las muestras pre-diluidas a los pocillos restantes
- Cubrir la placa e incubar a 45 min ± 4 min a 21°C (± 5°C).
- Vaciar los pocillos, y lavar 3 veces cada pocillo con al menos 300 µl de Solución de lavado. Evitar el secado de los pocillos entre los lavados.
- Se preparó el Conjugado 1X diluyendo el Conjugado Concentrado 10X al 1:10 en el Diluyente 3.
- Añadir 100 µl de Conjugado 1X a cada pocillo.
- Luego cubrir la placa e incubar a 30 min ± 3 min a 21°C (± 5°C).
- Se vaciaron los pocillos. Se lavaron 3 veces cada pocillo con al menos 300 µl de Solución de lavado, evitando el secado de los pocillos entre los lavados.
- Se añadió 100 µl de la Solución de revelación a cada pocillo.
- Se cubrió la placa y se incubó a 15 min ± 2 min a 21°C (± 5°C) en la obscuridad.
- Se añadió 100 µl de Solución de parada a cada pocillo, en el mismo orden que en el literal para detener la reacción.

33. Materiales físicos

Tabla 5. *Materiales de físicos*

<i>Materiales Físicos</i>		
Descripción	Unidad	Cantidad
Micropipetas 10 μ l	Unidad	1
Micropipetas 100 μ l	Unidad	1
Micropipetas 200 μ l	Unidad	1
Micropipetas 1000 μ l	Unidad	1
Multicanal	Unidad	1
Tubos de ensayo (5ml)	caja de 50 unidades	4
Viales	Funda 100 unidades	1
Vaso de precipitación 250 ml	Unidad	1
Vaso de precipitación 100ml	Unidad	1
Centrifuga	Unidad	1
Puntas amarillas de 200ul	caja de 1000 unidades	1
Puntas blancas de 10ul	caja de 1000 unidades	1
Jeringuillas 5ml	Caja 100 unidades	2
Guantes	caja (100 unidades)	2
Probeta	unidad	1
Cooler	unidad	1
Cofias	Caja 100 unidades	1
Bolígrafo	Unidad	2
Mandil	Unidad	1
Registro de pacientes	Unidad	4
Gorras de cirujano	Caja 100 unidades	1
Placa de micropipetas	Unidad	2
Bolígrafo	Unidad	2

Tabla 6. *Materiales Químicos*

<i>Materiales Químicos</i>		
Descripción	Unidad	Cantidad
Alcohol	unidad	1
Kit de ELISA indirecta	caja	1
Agua destilada	litro	2

Tabla 7. *Materiales biológicos*

Descripción	Unidad de medida	Cantidad
Sangre	ml	5

34. Diseño

35. Población y muestra

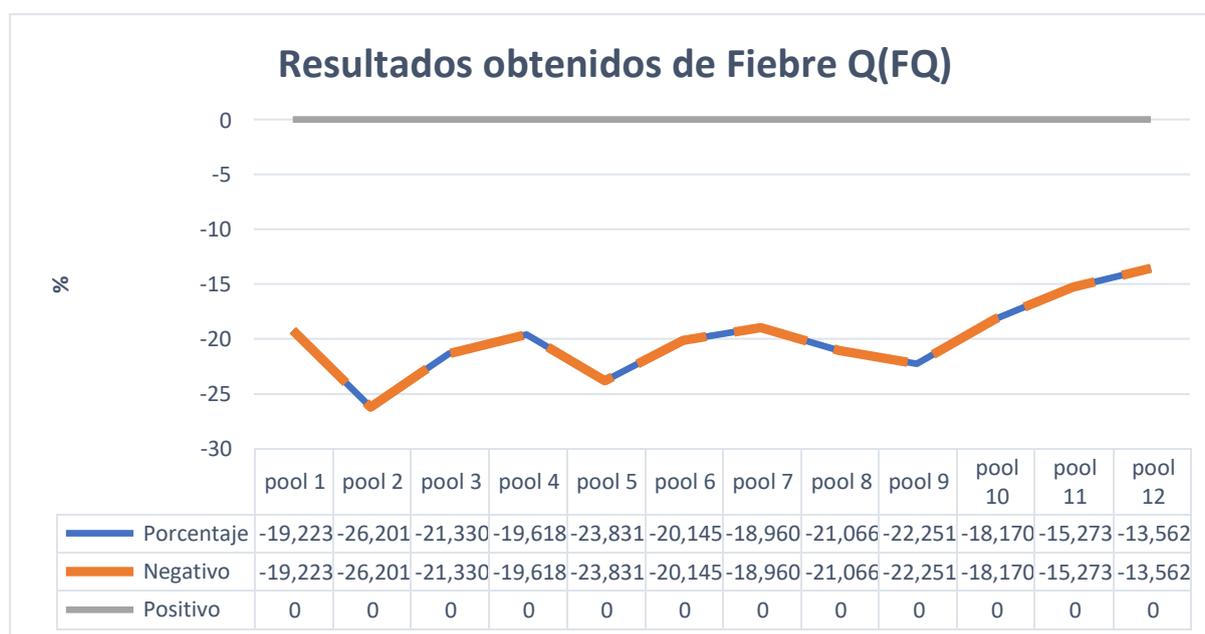
La población para estudiar es el total de pacientes caninos asistidos durante las campañas de esterilización para este caso fue de 112 caninos entre machos y hembras enteros, de diferentes edades y razas.

36. Consideraciones éticas

Para las tomas de las muestras, se emplearon criterios en cuando a manejo y técnicas de sujeción de los animales que fueron muestreados en el área de preparación de paciente, en la cual se evitó el estrés y el maltrato animal y teniendo en cuenta la asepsia en los animales antes, durante y después de la toma de muestras sanguíneas.

4. RESULTADO Y DISCUSIÓN

El diagnóstico serológico se realizó en pools de 10 animales respectivamente.



Fuente: Autoría propia

Para la interpretación de los resultados obtenidos en el equipo de ELISA, se utilizó el cálculo el porcentaje S/P (S/P%), para cada muestra:

$$S/P \% = \frac{\text{DO muestras} - \square\square\square\square}{\square\square\square\square - \square\square\square\square} \times 100$$

Para la interpretación de las muestras de suero o plasma:

SUERO O PLASMA

RESULTADO ESTATUS

S/P % < 40 NEGATIVO

S/P % ≥ 40 POSITIVO

En el proyecto investigativo que está enfocado a determinar la prevalencia de Fiebre Q en caninos, nos indica que el pool 2, presenta menor carga de antígenos para detectar la

enfermedad, siendo las muestras obtenidas en el cantón Paute; mientras que el con mayor carga antigénica corresponde al pool 12 la cual corresponde al cantón de Santa Isabel.

De acuerdo con Shapiro, et al., (2016) en su trabajo de investigación titulado (Seroprevalence of *Coxiella Burnetti* in Australian dogs), nos indica que en las comunidades aborígenes existe una seroposibilidad de un 6.5%, en comparación con este trabajo de investigación realizada en los cantones Paute y Santa Isabel, no existe la presencia de Fiebre Q en la especie estudiada.

En trabajos investigados en Alemania han encontrado una seroprevalencia del 13% en perros y un 26% en gatos (Werth, Schmeer, Karo y Krauss, 1987 como lo cito Betancur, Rubio, Barrera, y Bedoya, (2015) en relación con este trabajo de investigación realizado con la técnica de ELISA indirecta, la presencia de enfermedad es nula.

En un trabajo de investigación realizada en Australia, nos indica que la prevalencia de la enfermedad en caninos tiene una seroposibilidad de un 21,8% realizada en los años 2006 y 2007, que fueron recolectados en consultorios veterinarios suburbanos (Cooper, Hedlefs, Ketheesan y Govan, 2011) al comparar con esta investigación la presencia de la enfermedad es de un 0%.

5. CONCLUSION Y RECOMENDACIÓN

5.1. Conclusiones

Los diferentes animales muestreados durante las campañas de esterilización en los cantones Paute y Santa Isabel no presentaron antígenos para determinar Fiebre Q, en la población estudiada.

La presente investigación de campo y al comparar con los datos recolectados se aprueba la Hipótesis Alternativa, la prevalencia de fiebre Q es baja, en caninos atendidos en campañas de esterilización en los cantones Paute y Santa Isabel.

Los animales atendidos en campañas de esterilización en estas dos localidades pertenecen

a un estrato poblacional urbano, por lo que estos animales casi no interaccionan con otros animales que puedan ser portadores de Fiebre Q, esta es una razón para que la prevalencia sea cero.

5.2. Recomendaciones

Se debe tener en cuenta que Fiebre Q es una enfermedad zoonótica, lo cual se recomienda hacer estudios en especies que mantienen una estrecha relación con el hombre.

Realizar nuevas investigaciones empleando otras técnicas de diagnóstico para detectar la presencia de antígeno de Fiebre Q en caninos.

Se recomienda realizar un estudio en un estrato de animales rurales los mismos que tengan interacción con bovinos, ovinos o caprinos, para verificar la prevalencia con un factor de riesgo.

6. Bibliografía

- Betancur, C., Rubio, M., Barrera, J., y Bedoya, J. (2015). Seroprevalencia de *Coxiella burnetii* en trabajadores de fincas ganaderas del departamento de Antioquia. *Acta Médica Colombiana*, 40(1), 20-23.
- CDC. (15 de enero de 2009). Fiebre Q. *Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC)*. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/qfever/index.html>
- Cooper, A., Hedlefs, R., Ketheesan, N., y Govan, B. (2011). Serological evidence of *Coxiella burnetii* infection in dogs in a regional centre. *Aust Vet J*, 89(10), 385-7.
- Fica, A. (12 de Mayo de 2018). Fiebre Q. *Sonchif*. Recuperado Fiebre Q: <http://sochinf.cl/portal/templates/sonchif2008>
- Fournier, P., Etienne, J., Harle, J., Habib, G., y Raoult, D. (2001). Myocarditis, a Rare but Severe Manifestation of Q Fever: Report of 8 Cases and Review of the Literature. *Clinical Infectious Disease*, 32, 1440-7.
- Fraille, M., y Muñoz, C. (2010). Infección por *Coxiella burnetii* (fiebre Q). *Enferm Infecc Microbiol Clin.*, 28(1), 29-31.
- Glazunova, O., Roux, V., Freylikman, O., Sekeyova, Z., Fournous, G., Tyczka, J., . . . Raoult, D. (2005). *Coxiella burnetii* genotyping. *Emerg Infect Dis*, 1211-7.
- Guzmán, M., y Maye, B. (1999). Las pruebas serológicas en el diagnóstico de la enfermedad infecciosa. *Revista de la Facultad de Medicina Universidad Nacional de Colombia*, 47(2), 89-97.
- Hutson, B., Deaker, R., y Newland, J. (2000). Vaccination of cattle workers at risk of Q fever on the north coast of New South Wales. *Aust Fam Physicia*, 29, 708-9.

- López, B. (24 de Febrero de 2020). *Coxiella burnetii*: características, morfología, hábitat, ciclo biológico. *Lifeder*. Recuperado de: <https://www.lifeder.com/coxiella-burnetii/>
- Madariaga, M., Rezai, K., Trenholme, G., y Weinstein, R. (2003). Q fever: A biological weapon in your backyard. *Lancet Infect Dis*, 3, 709-21 .
- Manock, S., Jacobsen, K., Brito de Bravo, N., Russell , K., Negrete , Negrete , M., y Kochel , T. (2009). Etiology of Acute Undifferentiated Febrile Illness in the Amazon Basin of Ecuador. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 81(1), 146-151.
- Mc Dade, J. (1990). Historical aspects of Q fever. En J. Marrie, *Q fever. The disease* (Vol. 1, pp. 5-21). Boca Ratón: CRC Press.
- Ochoa , R. (2012). Estandarización y validación de técnicas inmunoenzimáticas. En R. Ochoa, *Técnicas inmunoenzimáticas para ensayos clínicos de vacunas* (p. 120). La Habana: FINLAY.
- Oie. (13 de enero de 2021). Fiebre Q. *Oie*. Recuperado de: <https://www.oie.int/es/enfermedad/fiebre-q/>
- Pérez, J., Carranza, C., Gutierrez, C., y Bolaños, M. (2018). Epidemiología de la fiebre Q en España. *Rev Esp Quimioter*, 31(5), 386-405.
- Raoult , D., Fenollar , F., y Stein , A. (2002). Q fever during pregnancy: Diagnosis, treatment, and follow-up. *Arch Intern Med*, 162, 701-4.
- Raoult , D., Marrie , T., y Mege, J. (2005). Natural history and pathophysiology of Q fever. *Lancet Infect Dis*, 5(4), 219-26.
- Roca, B. (2007). Fiebre Q. *AN. MED. INTERNA*, 24(11), 558-560.

- Rolain , J., y Raoult, D. (2005). Molecular detection of *Coxiella burnetii* in blood and sera during Q fever. *QJM*, 98(8), 615-7.
- Seijo, A. (2007). *Coxiella*. En N. Stanchi, *Microbiología Veterinaria* (págs. 367-72). Buenos Aires: Inter-Médica.
- Shapiro, A., Norris, J., Heller, J., Brown, G., Malik, R., y Bosward, K. (2016). Seroprevalence of *Coxiella burnetii* in Australian dogs. *Zoonoses Public Health*, 458-66.
- Slaba , K., Skultety , L., y Toman , R. (2005). Efficiency of various serological techniques for diagnosing *Coxiella burnetii* infection. *Acta Virologia*, 49, 123-7.

7. ANEXOS

Imagen 1. *Suero de caninos procesado*Imagen 2. *Preparación de los pools*

Imagen 3. Trabajo de laboratorio

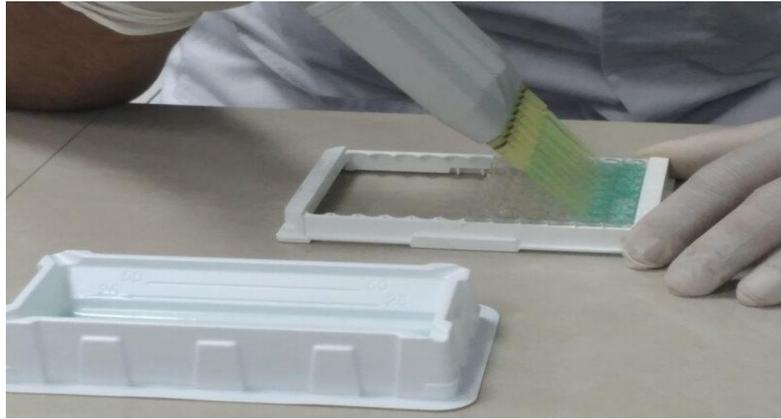


Imagen 4. Lectura de ELISA

	1	2	3	4	5	6
A	001 0.149	009 0.212	017 0.118	025 0.156	033 0.233	041 0.389
B	002 0.402	010 0.204	018 0.115	026 0.279	034 0.207	042 0.308
C	003 0.586	011 0.212	019 0.141	027 0.206	035 0.369	043 0.235
D	004 0.635	012 0.314	020 0.154	028 0.284	036 0.254	
E	005 0.128	013 0.123	021 0.129	029 0.307	037 0.270	
F	006 0.116	014 0.149	022 0.100	030 0.236	038 0.232	
G	007 0.162	015 0.180	023 0.132	031 0.170	039 1.028	
H	008 0.207	016 0.183	024 0.157	032 0.178	040 0.196	

7-12>> Enviar Resultado Imprimir Salir