



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA
SALUD

DETERMINACIÓN DEL IMPACTO QUE OCASIONA *COXIELLA
BURNETII* SOBRE LA PRODUCCIÓN LÁCTEA EN UNA GRANJA
DE ALTA PRODUCCIÓN EN LA PROVINCIA DE SANTO DOMINGO.

AUTOR

Angel David Insuasti Abarca

AÑO

2020



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

DETERMINACIÓN DEL IMPACTO QUE OCASIONA *COXIELLA BURNETII*
SOBRE LA PRODUCCIÓN LÁCTEA EN UNA GRANJA DE ALTA
PRODUCCIÓN EN LA PROVINCIA DE SANTO DOMINGO.

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista

Profesor Guía
Marco Rafael Coral Almeida

Autor
Angel David Insuasti Abarca

Año
2020

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, Determinación del impacto que ocasiona *Coxiella burnetii* sobre la producción láctea en una granja de alta producción en la provincia de Santo Domingo, a través de reuniones periódicas con el estudiante Angel David Insuasti Abarca, en el semestre 2020-1, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.



Marco Rafael Coral Almeida

PhD en Ciencias Veterinarias, Máster of Science en Salud Animal, Tropical y
Epidemiología, Médico Veterinario Zootecnista

C.I. 171450582-1

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, Determinación del impacto que ocasiona *Coxiella burnetii* sobre la producción láctea en una granja de alta producción en la provincia de Santo Domingo, del estudiante Angel David Insuasti Abarca, en el semestre 2020-1, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.



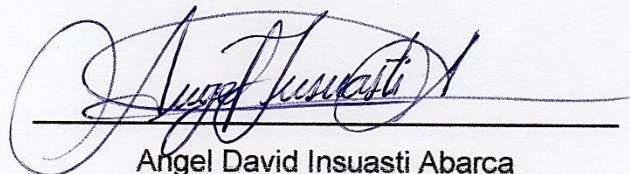
Olga Alexandra Angulo Cruz

Máster of Science en Salud Animal Tropical, Especialización en Control de Enfermedades Animales. Médico Veterinario Zootecnista

C.I. 171497629-5

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

A handwritten signature in black ink, written in a cursive style, reading "Angel David Insuasti Abarca". The signature is positioned above a solid horizontal line.

Angel David Insuasti Abarca

C.I. 171912334-9

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haberme permitido completar esta maravillosa carrera y por haberme permitido tener a mi alrededor a excelentes personas durante la elaboración de este hermoso trabajo: profesores, compañeros, amigos y familia.

A la vida, por haberme dado una oportunidad de demostrar que con amor, perseverancia y valentía se logra todo lo que uno se proponga.

DEDICATORIA

A Dios por haberme permitido terminar con éxito mi carrera universitaria. A todo el prestigioso equipo docente, quienes me han inculcado ser excelente persona y profesional. A mi familia por su apoyo incondicional en cada paso que daba. A mis amigos y compañeros quienes me impulsaban a crecer cada día.

A la prestigiosa Universidad de las Américas que me permitió vivir esta experiencia todos estos maravillosos años.

RESUMEN

La Fiebre Q es una enfermedad zoonótica causada por la *gammaproteobacterium Coxiella burnetii*, responsable de diversas manifestaciones clínicas agudas y crónicas en todo el mundo. Los rumiantes domésticos son los principales reservorios de infección y transmisión hacia los seres humanos. Esta enfermedad está asociada con un amplio espectro clínico, desde cuadros asintomáticos con presentaciones inespecíficas esporádicas, hasta la manifestación clínica de cuadros mortales. El objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia y el impacto que tiene la Fiebre Q sobre la producción lechera en una granja de alta producción de la provincia de Santo Domingo, Ecuador. Se analizaron 1032 muestras de suero sanguíneo aplicando el método de ELISA Indirecto para Fiebre Q Multi-species. Asimismo, se evaluaron los índices productivos de las vacas diagnosticadas de acuerdo con las dos últimas lactancias utilizando las pruebas estadísticas Chi-cuadrado, T-test, Anova, Regresión lineal y Logística, basándose en un análisis de caso-control. La prevalencia obtenida fue del 47.87% (IC_{95%}: 44,82% - 50.91%), mientras que, en el análisis estadístico se identificó una correlación positiva entre la edad y la seropositividad a Fiebre Q. Adicionalmente, los resultados del estudio de caso-control sugieren una presentación crónica de la enfermedad con una leve reducción en la producción láctea. Estos resultados reflejan un leve impacto de la Fiebre Q sobre esta producción ganadera. Se promueve el seguimiento de la investigación epidemiológica de la Fiebre Q en la región, así como el análisis a profundidad de los ámbitos productivo, económico y zoonótico para mejor entendimiento de la enfermedad en el Ecuador.

ABSTRACT

Q Fever is a zoonotic disease caused by gammaproteobacterium *Coxiella burnetii*, responsible for various acute and chronic clinical manifestations worldwide. Domestic ruminants are the main reservoirs of human infection and transmission. Q Fever is associated with a broad clinical spectrum, from asymptomatic cases with sporadic non-specific presentations, to the clinical manifestation of fatal conditions. The objective of the study was to determine the seroprevalence and the effect that Q Fever has on milk production in a high production farm in Santo Domingo province, Ecuador. 1032 blood serum samples were analyzed with ELISA ID Screen® Q Fever Indirect Multi-species. Besides, the productive parameters of the diagnosed cows according to the last two lactations were evaluated using Chi-square, T-test, Anova statistical tests, Linear and Logistic Regression, based on a case-control analysis. The prevalence obtained was 47.87% (IC_{95%}: 44,82% - 50.91%), while in the statistical analysis of the records a positive correlation between age and Q Fever seropositivity was identified. Additionally, the case-control analysis suggests a chronic Q Fever presentation with a reduction in milk production. These results show a slight impact of Q Fever in this livestock production. The follow-up of the epidemiological investigation of Q Fever in the region is promoted, as well as an in-depth analysis of the productive, economic and zoonotic areas for a better understanding of the disease in Ecuador.

ÍNDICE

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos	3
1.1.1. Objetivo General	3
1.1.2. Objetivo Específico	3
1.2. Hipótesis	3
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	4
2.1. Fiebre Q	4
2.1.1. Agente Etiológico	4
2.1.1.1. Ciclo biológico y Morfología	5
2.1.1.2. Virulencia y patogenicidad	8
2.2. Epidemiología	12
2.2.1. Perspectiva general	12
2.2.2. Reservorios	13
2.2.2.1. Importancia de la fauna silvestre	13
2.2.2.2. Hospedadores domésticos y el ser humano	14
2.2.2.3. Hospedadores artrópodos	15
2.2.3. Transmisión	16
2.2.3.1. Excreciones de animales	16
2.2.3.2. Aerosoles contaminados	18
2.2.3.3. Ingestión	18
2.2.3.4. Otras vías menos frecuentes	19
2.2.4. Factores de riesgo	21
2.2.5. Prevalencia Global	26
2.3. Patogenia	32
2.4. Manifestaciones Clínicas	33
2.5. Diagnóstico	36
2.5.1. Recolección y almacenamiento de muestras	37
2.5.2. Cultivo	37
2.5.3. Tinción	38

2.5.4.	Imunohistoquímica.....	39
2.5.5.	Prueba de Fijación del Complemento (CFT).....	40
2.5.6.	Inmunofluorescencia (IFA).....	40
2.5.7.	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)	41
2.5.8.	Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	42
2.5.9.	Diagnóstico Diferencial.....	43
2.6.	Tratamiento	43
2.7.	Control, Prevención y Salud Pública.....	44
2.7.1.	Vacunación	45
2.7.2.	Medidas de Higiene y Profilaxis	46
2.7.3.	Zoonosis y Salud Pública	48
CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS		50
3.1.	Ubicación.....	50
3.2.	Población y muestra	50
3.2.1.	Población	50
3.2.2.	Muestra.....	51
3.3.	Materiales	51
3.4.	Metodología	52
3.4.1.	Muestras biológicas	52
3.4.1.1.	Extracción de muestras biológicas.....	52
3.4.1.2.	Procesamiento, transporte y almacenamiento de muestras biológicas.....	53
3.4.1.3.	Análisis e interpretación de la técnica ELISA	54
3.4.2.	Obtención de datos de los registros productivos.....	56
3.4.3.	VARIABLES	56
3.4.4.	Diseño Experimental	58
3.5.	Análisis estadístico	59
3.5.1.	Estadística descriptiva.....	59
3.5.2.	Estadística analítica	59
3.5.2.1.	Chi Cuadrado.....	60
3.5.2.2.	Regresión Lineal	60
3.5.2.3.	Regresión Logística	60
3.5.2.4.	Repeated Measure ANOVA.....	61

3.5.2.5.	Z-test de datos relacionados	61
3.5.2.6.	Estudio de Caso y Control.....	61
CAPÍTULO IV:	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	63
4.1.	Resultados	63
4.1.1.	Diagnóstico.....	63
4.1.2.	Estadística descriptiva	63
4.1.3.	Estadística analítica.....	72
4.1.3.1.	Chi cuadrado	72
4.1.3.2.	Regresión Lineal	73
4.1.3.3.	Regresión Logística	73
5.1.1.1.	Repeated Measure ANOVA.....	80
5.1.1.2.	Z-test de datos relacionados	81
5.1.1.3.	Estudio de Caso y Control.....	82
5.2.	Discusión.....	85
5.2.1.	Frecuencia de Presentación de Fiebre Q.....	85
5.2.2.	Estadística descriptiva.....	87
5.2.3.	Estadística analítica	89
5.2.3.1.	Relación entre el Diagnóstico y el Número de Lactancia	89
5.2.3.2.	Relación entre el Diagnóstico y la Edad.....	89
5.2.3.3.	Influencia del Diagnóstico sobre la Producción Láctea 2019.....	90
5.2.3.4.	Relación de la Presencia de Mastitis sobre la Producción Láctea 2019, tomando en cuenta al Diagnóstico como un cofactor ...	90
5.2.3.5.	Relación de la Presencia de Abortos sobre la Producción Láctea 2019, tomando en cuenta al Diagnóstico como un cofactor ...	91
5.2.3.6.	Relación entre las Producciones Lácteas de 2018 y 2019...	91
5.2.3.7.	Relación entre las Producciones Lácteas de 2018 y 2019 de los animales seropositivos	92
5.2.3.8.	Relación entre las Producciones Lácteas de 2018 y 2019 de los animales seronegativos	92
5.2.3.9.	Estudio de Caso y Control.....	92
5.2.3.10.	Relación entre el Diagnóstico y las Producciones Lácteas de 2019 de grupo caso (seropositivos) y grupo control (seronegativos)	93

5.2.3.11. Relación entre las Producciones Lácteas de grupo caso (seropositivos) y grupo control (seronegativos) en cada lactancia ...	93
5.3. Limitantes	94
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	95
5.1. Conclusiones.....	95
5.2. Recomendaciones	96
REFERENCIAS	98
ANEXOS	119

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Biogénesis de la vacuola parasitófora de <i>Coxiella burnetii</i>	5
Figura 2. Ciclo bifásico de <i>Coxiella burnetii</i>	6
Figura 3. Micrografía electrónica de transmisión que muestra SCV purificado de cultivos de células Vero-envejecidas.....	7
Figura 4. Muestra las diferencias entre las dos formas que presenta <i>C. burnetii</i>	8
Figura 5. Fagocitosis de <i>Coxiella burnetii</i> fase I y fase II.....	10
Figura 6. Ciclo epidemiológico de Fiebre Q.....	20
Figura 7. Transmisión y personal en riesgo de infección por <i>C. burnetii</i>	25
Figura 8. Número de casos por cada 100000 habitantes de Fiebre Q en Holanda en 2009.	27
Figura 9. Reporte anual de vigilancia 2016.	29
Figura 10. Tinción de Giménez para <i>C. burnetii</i>	38
Figura 11. Caja de bigotes que describe la dispersión de los datos por lactancia.....	66
Figura 12. Histograma de los datos de la producción láctea de 2018 (lactancia previa).	70
<i>Figura 13.</i> Histograma de los datos de la producción láctea de 2019 (última lactancia).	70
Figura 14. Distribución en violín de los datos de la producción láctea de 2018 (lactancia previa).	71
Figura 15. Distribución en violín de los datos de la producción láctea de 2019 (última lactancia).	71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de las variables	57
Tabla 2. Número de muestras para el estudio Caso-Control por lactancia.....	62
Tabla 3. Resultados del Diagnóstico serológico a Coxiella burnetii	63
Tabla 4. Tabla de frecuencias con respecto a la etapa productiva	64
Tabla 5. Tabla de frecuencias con respecto a la etapa reproductiva.....	64
Tabla 6. Tabla de frecuencias con respecto a las lactancias	65
Tabla 7. Tabla de frecuencias con respecto a la presencia de mastitis	67
Tabla 8. Tabla de frecuencias con respecto a la presencia de abortos.....	67
Tabla 9. Estadística descriptiva respecto a la producción láctea 2018-2019	68
Tabla 10. Prueba de Chi-cuadrado (Diagnóstico VS Número de Lactancia).....	72
Tabla 11. Prueba de Chi-cuadrado (Diagnóstico VS Edad)	72
Tabla 12. Regresión Lineal (Diagnóstico VS Producción de la última lactancia)	73
Tabla 13. Regresión Logística (Mastitis-Abortos VS Producción Láctea, cf. Diagnóstico)	74
Tabla 14. Regresión Logística (Mastitis-Abortos VS Duración Lactancia, cf. Diagnóstico)	75
Tabla 15. Regresión Logística (Mastitis-Abortos VS Días Abiertos, cf. Diagnóstico)	76
Tabla 16. Regresión Logística (Mastitis-Abortos VS Intervalo entre Partos, cf. Diagnóstico)	77
Tabla 17. Regresión Logística (Mastitis-Abortos VS Inseminaciones, cf. Diagnóstico) 78	
Tabla 18. Regresión Logística (Edad VS Producción Láctea, cf. Diagnóstico)	79
Tabla 19. Repeated Measure ANOVA (Producción Láctea 2018 de seropos. y seroneg. VS Producción Láctea 2019 de seropos. y seroneg.)	80
Tabla 20. Z-test de datos relacionados (Producción Láctea 2018 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seropositivos)	81
Tabla 21. Z-test de datos relacionados (Producción Láctea 2018 seronegativos VS Producción Láctea 2019 seronegativos).....	82
Tabla 22. One Way ANOVA del Estudio Caso-Control (Producción Láctea 2019 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seronegativos de todas las lactancias)	83
Tabla 23. T-test de datos no relacionados del Estudio Caso-Control (Producción Láctea 2019 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seronegativos para la segunda lactancia)	83
Tabla 24. T-test de datos no relacionados del Estudio Caso-Control (Producción Láctea 2019 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seronegativos para la tercera lactancia)	83
Tabla 25. T-test de datos no relacionados del Estudio Caso-Control (Producción Láctea 2019 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seronegativos para la cuarta lactancia)	84
Tabla 26. T-test de datos no relacionados del Estudio Caso-Control (Producción Láctea 2019 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seronegativos para la quinta lactancia)	84
Tabla 27. T-test de datos no relacionados del Estudio Caso-Control (Producción Láctea 2019 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seronegativos para la sexta lactancia)	84

Tabla 28. T-test de datos no relacionados del Estudio Caso-Control (Producción Láctea 2019 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seronegativos para la séptima lactancia)	84
---	----

TABLA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
ADN	Ácido desoxirribonucleico
APHIS	Servicio de Inspección de Sanidad Animal y Vegetal
<i>Cb o C. burnetii</i>	<i>Coxiella burnetii</i>
CDC	Centro para el Control y Prevención de Enfermedades
CFSPH	Centro para la Seguridad Alimentaria y la Salud Pública
cf.	Cofactor
DVB	Diarrea Viral Bovina
ECDC	Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria
et al.	Otros autores adicionales
E.E.U.U.	Estados Unidos de América
FFU	Unidades formadoras de colonias
HEPA	Filtro de aire de alta eficiencia
Hi	Hipótesis alternativa
Ho	Hipótesis nula
IBR	Rinotraqueitis Infecciosa Bovina
IDvet Corp.	Innovative diagnostic kits Corporation
IFN- γ	Interferón gamma
Ig-	Tipo de Inmunoglobulinas

IL-	Tipo de interleucina
INSHT	Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo
Kb	Kilobase (Kb= 1000)
Kg	Kilogramo
LCV	Variante celular grande
Lts	Litros
LPS	Lipopolisacáridos
Mbps	Megabase (Mb= 1000000)
mg	Miligramos
Mm	Micrómetro
OIE	Organización Mundial de Sanidad Animal
Psi	Pascales (libra por pulgada cuadrada)
qPCR o RT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa o en tiempo real
TNF	Factor de necrosis tumoral
SCC	Recuento de células somáticas
SCV	Variante celular pequeña
SDCV	Variante celular pequeña y densa
SENASA	Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos
VP	Vacuola parasitófora

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Coxiella burnetii es el agente causal de Fiebre Q, una zoonosis descrita por primera vez en Brisbane, Australia en 1935. Desde entonces, el conocimiento sobre el agente y sus implicaciones infecciosas han crecido drásticamente. Fiebre Q es una enfermedad altamente contagiosa con una distribución mundial cuyo principal reservorio y fuente de infección para el hombre son los rumiantes domésticos, en estos se producen innumerables pérdidas tanto productivas como económicas. Tradicionalmente se ha discutido que Fiebre Q ocasionaba un leve impacto en la producción animal dada su esporádica presentación asintomática. A pesar de que en la mayoría de los casos, la infección es asintomática; a través de los años ha quedado demostrada la capacidad de *C. burnetii* en producir importantes brotes epidémicos y ser considerada una de las principales causas de abortos infecciosos o mortinatos cuando se manifiesta en los rumiantes (Romero, 2018).

Los animales sintomáticos, así como los asintomáticos eliminan *C. burnetii* en cantidades exuberantes durante el parto, aunque también pueden eliminarlo a través de la leche, heces y orina. En la actualidad, la investigación asociada a su excreción ha permitido que se demuestre la relación entre la presencia de *C. burnetii* y la aparición de brotes de mastitis, pérdidas en la producción láctea y la reducción de su vida productiva (Vaidya et al., 2010; Vicari et al., 2013). A pesar de ello, muy poco se conoce del impacto productivo asociado a granjas de alta producción o su potencial efecto zootécnico en el continente sudamericano, puesto que varía de región en región, así como de especie a especie (A. Rodolakis et al., 2007). Además, este microorganismo puede permanecer en el ambiente por periodos de tiempo prolongados, sobreviviendo a condiciones hostiles y pudiendo ser transportado por las corrientes de aire a distancias lejanas, lo que sugiere que la dispersión ambiental es un factor de riesgo para la aparición de brotes, gracias a su capacidad de adherencia al polvo similar a una espora y a su transmisión por vía aerógena (Center for Food Security and Public Health [CFSPH], 2010).

Hoy en día, se ha logrado identificar a *C. burnetii* mediante métodos de cultivo, serología y genética, pero a causa de que el microorganismo es potencialmente peligroso se requiere de habilidades especiales y centros de diagnóstico capacitados que permitan llevar a cabo dichos procedimientos (Woldehiwet, 2004). Estos avances tecnológicos han dado la apertura a un campo sin explorar acerca de su filogenia y taxonomía, pudiendo existir otras raíces genéticas asociadas que pueden estar manifestándose en distintas áreas geográficas o estaciones climáticas, distintos hospedadores o incluso con distinta virulencia (Harris, Eales, Squires, Govan, & Norton, 2013). Tal es el caso de la cepa Z3055 causante de los brotes epidémicos de los Países Bajos que acarrearán diversos problemas en torno a la salud pública (Hammerl et al., 2015); otras cepas han sido aisladas de garrapatas, pulgas, piojos o mosquitos vectores de otras enfermedades y también *C. burnetii* ha registrado similitudes taxonómicas con algunos ejemplares del orden de las Legionellas y Rickettsias, por lo que anteriormente se le clasificaba dentro de estos grupos (Eldin et al., 2017). Esto demuestra cuánto falta por descubrir acerca de este patógeno y más aún, la importancia que radica dentro del enfoque de una sola salud "One Health".

En Ecuador, se ha logrado detectar la presencia de *Coxiella Burnetii* a nivel serológico tanto en animales como humanos (Carbonero et al., 2015; Echeverría et al., 2019; Manock et al., 2009; Ordóñez, 2017) y también a nivel molecular (Rojas et al., 2012). Esto puede sugerir una asociación entre la presencia de la bacteria y la aparición de brotes infecciosos en la industria ganadera. A pesar de ello, la enfermedad es poco conocida y puede estar subdiagnosticada por lo que el impacto que ocasiona *C. burnetii* en la producción láctea es todavía desconocido, al igual que la situación epidemiológica en relación con las grandes industrias de explotación lechera. En este sentido, el presente estudio se basa en determinar el impacto que ocasiona *C. burnetii* en la producción láctea de una granja de alta producción en la provincia de Santo Domingo, donde se comparan los índices de producción láctea de acuerdo con las lactancias que presentan las vacas seropositivas y seronegativas a *C. burnetii*.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo General

Determinar el impacto que ocasiona Fiebre Q en la producción láctea, así como la situación epidemiológica de *Coxiella burnetii* en una granja lechera de alta producción de la provincia de Santo Domingo, mediante el diagnóstico serológico y el análisis de los índices productivos de acuerdo con las lactancias de vacas seropositivas y seronegativas.

1.1.2. Objetivo Específico

- Determinar la situación epidemiológica de *Coxiella burnetii* empleando estadística descriptiva, en base al diagnóstico serológico de los animales y al análisis de los registros de la granja lechera de Santo Domingo, con la finalidad de establecer la importancia que tiene Fiebre Q sobre esta producción ganadera.
- Comparar los índices productivos de acuerdo con las lactancias de vacas seropositivas y seronegativas a *Coxiella burnetii* mediante análisis estadísticos, con ello establecer el efecto que acarrea Fiebre Q en esta producción ganadera.

1.2. Hipótesis

Cuál es el impacto que ocasiona *C. burnetii* en la producción láctea en una granja de alta producción en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Fiebre Q

2.1.1. Agente Etiológico

Coxiella burnetii es una bacteria acidófila cocobacilar inmóvil Gram negativa intracelular obligada, perteneciente al orden *Legionellales*, familia *Coxiellaceae* donde es la única especie del género *Coxiella* (Fariñas, Pedreira, & Diéguez, 2016). De acuerdo a la morfología, su tamaño es de 0.2 a 0.4 μm de ancho y 0.4 a 1 μm de largo y es altamente pleomórfico (Eldin et al., 2017). A pesar de ser categorizado Gram negativa por su estructura de membrana, no es posible tñirla con la misma técnica; sin embargo, la tinción de Giménez es extensamente utilizada cuando es aislada en cultivo o directamente de las muestras tomadas; otras tinciones como Giemsa, Macchiavello y Stamp han sido utilizadas en menor grado (Romero, 2018). *C. burnetii* es un gammaproteobacterium que presenta un cromosoma pequeño y circular de aproximadamente 5 Mbps. Actualmente se encuentra en una evolución reductiva, comúnmente observada en bacterias intracelulares obligadas (Seshadri et al., 2003). Durante la reducción, los genes que alguna vez tuvieron una función importante acumulan mutaciones y eventualmente desaparecen porque ya no están bajo fuertes presiones selectivas (en efecto, si el hábitat o el hospedador han cambiado); por consiguiente, *C. burnetii* pasó hace poco a su estilo de vida actual, protagonizando así diversos brotes infecciosos y cuadros que en el pasado eran poco redactados (Raoult, Marrie, & Mege, 2005).

El desarrollo intracelular de *C. burnetii* ha evolucionado para sobrevivir dentro del fagolisosoma de las células huésped, en donde adquiere características lisosomales para adaptarse a un pH ácido (≈ 4.5), péptidos catiónicos e hidrolasas ácidas lisosómicas, que son ciertos mecanismos de defensa que le convierten en una vacuola parasitófora (VP) (**Figura 1**), con ello evitar la fagocitosis o la apoptosis celular y adaptándose a un ambiente estresante (Voth & Heinzen, 2007).

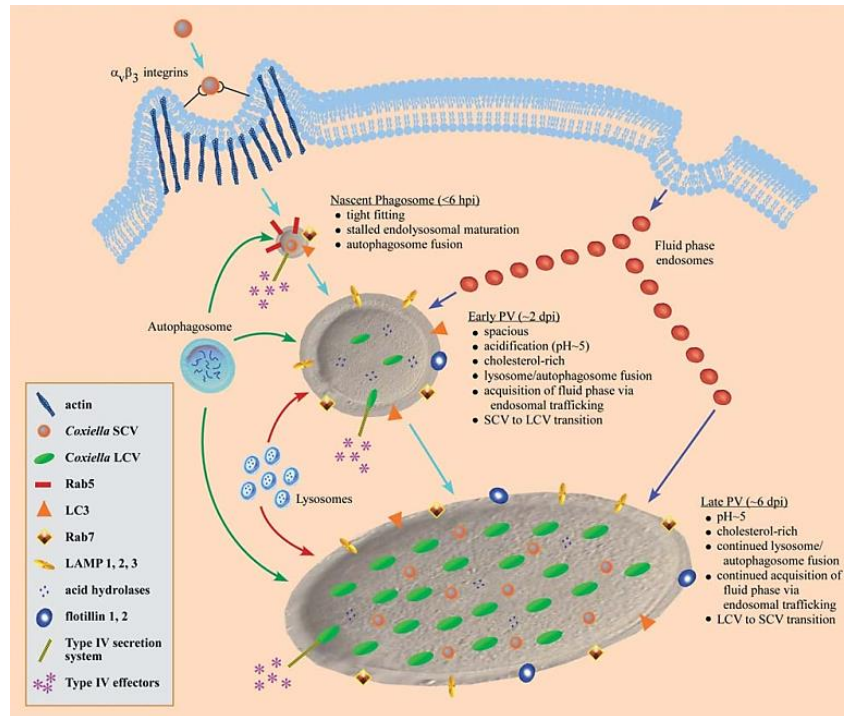


Figura 1. Biogénesis de la vacuola parasitófora de *Coxiella burnetii*.

Tomada de Voth & Heinzen, 2007.

2.1.1.1. Ciclo biológico y Morfología

C. burnetii posee un ciclo de desarrollo bifásico que, dentro de la célula huésped presenta dos formas morfológicamente distintas que generan grandes diferencias biológicas, ultraestructurales y fisiopatológicas: una variante celular pequeña (SCV), la cual es una forma estacionaria no replicativa; y una variante celular grande (LCV), la cual es una forma exponencialmente replicativa (Coleman, Fischer, Howe, Mead, & Heinzen, 2004).

La transición empieza muy temprano en la fase de retraso del ciclo de crecimiento de *C. burnetii*, donde el SCV no replicante se diferencia en LCV replicante, y así caracteriza la fase exponencial, posteriormente se vuelve a diferenciar en SCV durante la fase estacionaria en donde quedará por largo tiempo desempeñando un papel trascendental en la transmisión de la enfermedad (**Figura 2**) (Sandoz et al., 2016).

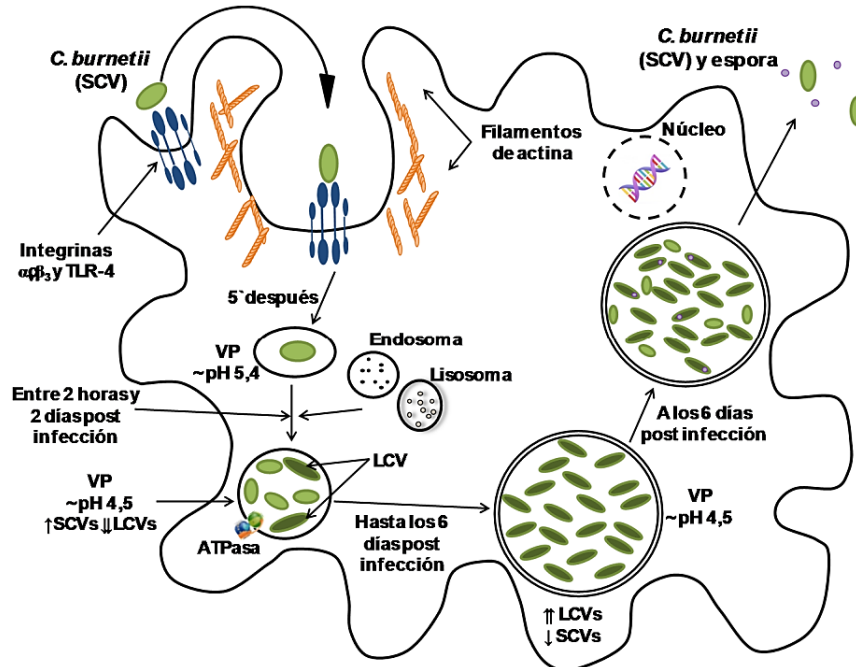


Figura 2. Ciclo bifásico de *Coxiella burnetii*.

Donde presenta sus dos formas: variante de células pequeñas (SCV) y variante de células grandes (LCV). Tomado de García, 2019.

Los SCV son cocobacilos diminutos 0.2 a 0.5 μm de largo, caracterizados por una cromatina condensada, una envoltura gruesa y una membrana interna inusual que le confiere características particulares (Sandoz et al., 2016). En esta forma *C. burnetii* realizará evasión inmune, además de presentar proteínas de unión al ADN (ScvA y Hq1) (**Figura 3**) que se relacionan con la condensación de la cromatina.

Además esta fase es muy estable en el medio ambiente a tensiones osmóticas, mecánicas, químicas y físicas; demostrando una resistencia de alto nivel a la radiación UV, calor, desecación y presión (20000 psi) (Seshadri et al., 2003). Así *C. burnetii* es capaz de sobrevivir fuera del huésped durante mucho tiempo, confiriendo a su forma SCV la cualidad de extracelular infecciosa que se obtiene de la leche, orina, heces, tejido placentario y amniótico (Russell-Lodrigue et al., 2009). Por lo que SCV puede sobrevivir de 7 a 10 meses en lana a temperatura ambiente, más de 1 mes en carne fresca y más de 40-42 meses en leche y, a

pesar de que SCV se destruye con formaldehído al 2%, se ha logrado aislarlo de tejidos almacenados en formaldehído durante 4 a 5 meses (Eldin et al., 2017). Además, *C. burnetii* puede sobrevivir en mantequilla y queso fresco durante 42 días, en polvo puede llegar a 120 días, en agua a 36 meses, en heces de artrópodos puede llegar a 1-2 años y a temperatura -20°C hasta 2 años. Debido al estudio de estas propiedades desde su descubrimiento, se acordó llevar a una temperatura elevada (71.1°C) para la pasteurización en la década de los 50's (Enright, Salder, & Thomas, 1957).

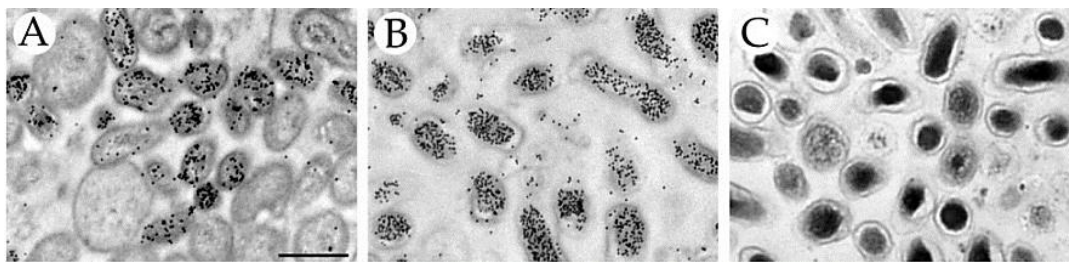


Figura 3. Micrografía electrónica de transmisión que muestra SCV purificado de cultivos de células Vero-envejecidas.

- (A) Muestra la reacción específica de SCV por suero contra la proteína ScvA.
- (B) Muestra la reacción uniforme por suero anti-ScvA.
- (C) Muestra morfología y ultraestructura características típicas de SCV, con un tamaño de 0.2 a 0.5 μm de largo con cromatina compacta y densa. Tomado de Coleman et al., 2004.

Las LCV tienen un tamaño mayor a 0.5 μm ; son células de tipo pleomórficas, con una cromatina dispersa y una envoltura similar a las de las bacterias gramnegativas clásicas (***Figura 4***).

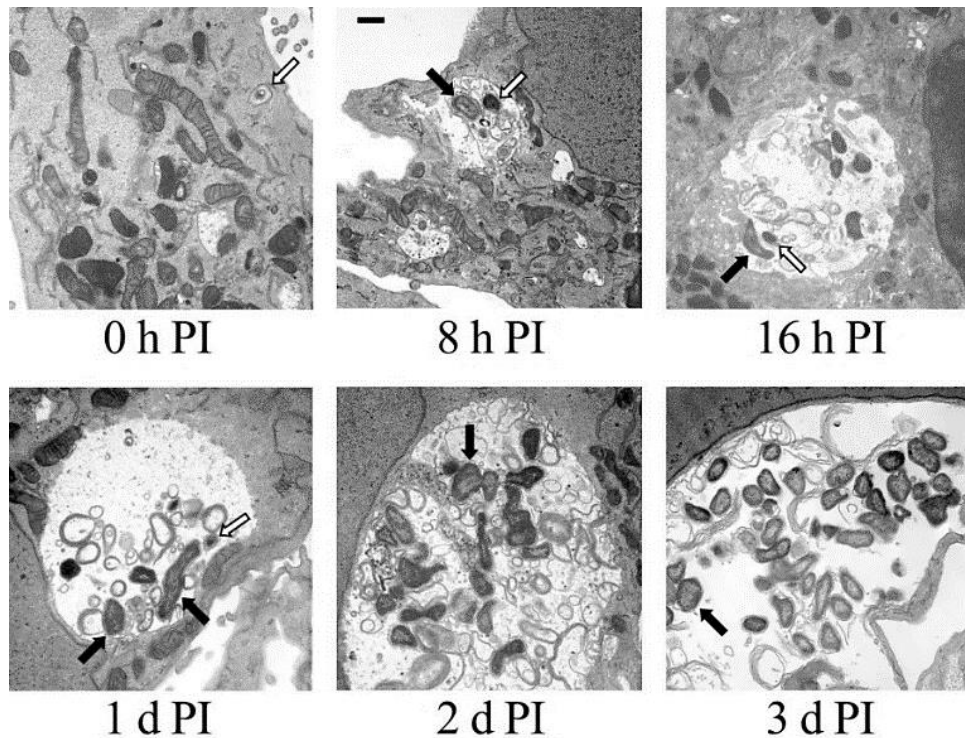


Figura 4. Muestra las diferencias entre las dos formas que presenta *C. burnetii*.

SCV marcada por flecha blanca y LCV marcada por flecha negra, nótese la diferencias morfológicas y el tiempo de post infección en horas y días (PI). Tomado de Coleman et al., 2004.

2.1.1.2. Virulencia y patogenicidad

Hasta la actualidad, se conoce a los lipopolisacáridos (LPS) como el único mecanismo de virulencia confirmado, pero *C. burnetii* tiene la capacidad de presentar una variación antigénica del LPS de acuerdo a la composición de la superficie de la membrana externa de la pared celular (Romero, 2018). De esta manera se presentan dos fases antigénicamente distintas: Fase I y Fase II (***Figura 5***).

En la naturaleza, *C. burnetii* se encuentra principalmente en la fase I. Esta fase se caracteriza por presentar una forma estructural lisa de longitud completa de LPS en su pared celular, donde expresan una cadena lateral O (Antígeno O), el cual no expresa la variante de fase II (Andoh, Russell-Lodrigue, Zhang, &

Samuel, 2005). Es considerada un tipo salvaje, altamente infecciosa y virulenta, debido a que se la ha aislado de animales, artrópodos y humanos infectados. Además, esta fase es capaz de inducir la producción de citoquinas inflamatorias en monocitos y macrófagos, las principales células huésped de *C. burnetii* (Dellacasagrande et al., 2000; Romero, 2018; Sobotta et al., 2016). El organismo que expresa la variante antigénica de fase I es altamente multiplicable en seres vivos inmunocompetentes, por tal motivo se requiere contención de bioseguridad de nivel 3 (Anderson et al., 2013b).

En cambio, la fase II se caracteriza por presentar una forma rugosa e incompleta de LPS, debido a reducciones bioquímicas en las cadenas de azúcares (Toman, Skultety, & Ihnatko, 2009). Los organismos que expresan antígenos de fase II son menos infecciosos, no se encuentran en el ambiente y han sido aislados en cultivos celulares (CFSPH, 2010). Estos organismos tienen la capacidad de multiplicarse en el fagolisosoma de las células huésped, pero no puede volver a la fase I, limitando su infectividad en huéspedes inmunocompetentes y siendo finalmente eliminados (Jones, Nicas, Hubbard, & Reingold, 2006). Esto hace que la bacteria que expresa la variante antigénica de fase II requiera contención de bioseguridad de nivel 2 (Anderson et al., 2013b).

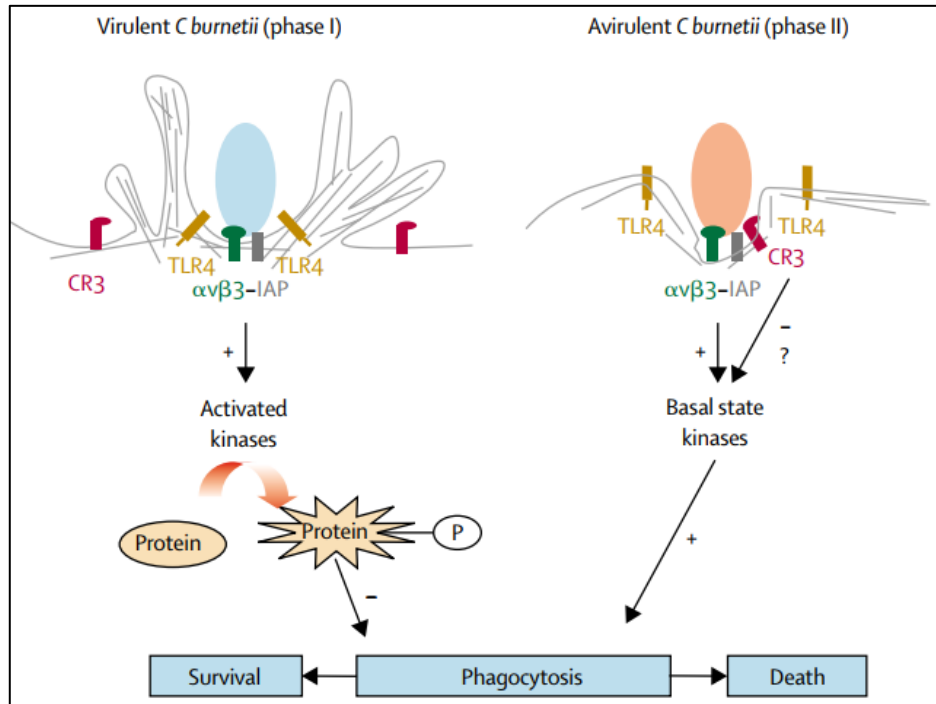


Figura 5. Fagocitosis de *Coxiella burnetii* fase I y fase II.

Se muestra los mecanismos moleculares que cada variante antigénica activa durante la fagocitosis en el macrófago. De esta manera CB fase I virulenta interactúa con la integrina $\alpha\beta3$ que conduce a la remodelación del citoesqueleto, excluye el receptor 3 del complemento (CR3), esto dificulta levemente su entrada. Además, provoca la activación de tirosina quinasa y a la fosforilación de sustratos endógenos mediante el compromiso de TLR4. Así este mecanismo lleva a la supervivencia de la fase I. En cambio, la internalización de CB fase II avirulenta requiere la cooperación de $\alpha\beta3$ y proteína asociada a la integrina (IAP) lo que activa la competencia fagocítica de CR3, esto provoca que CB fase II sea fagocitada con éxito. Tomada de Raoult et al., 2005.

La implicación más importante de ambas fases se encuentra en el ámbito del diagnóstico serológico (Velasco, 2007). En otras especies donde se distinguen dos tipos de infecciones: agudas y crónicas, tradicionalmente se secretan inmunoglobulinas específicas, con lo que se tienen títulos más altos de IgM en infecciones agudas e IgG en infecciones crónicas. Este concepto para *C. burnetii* varía ligeramente, puesto que cada variante antigénica estimula la secreción de IgM e IgG, inclusive se ha registrado la secreción de IgA (Angelakis, Raoult, Angelakis, Raoult, & Veterinary, 2011).

En base a este concepto, Raoult et al., (2005) y Abnave, Muracciole, & Ghigo, (2017) mencionan que en el estadio agudo de la infección se identifican niveles elevados de anticuerpos contra *C. burnetii* fase II (IgG e IgM), ya que estos son de fácil detección y de producción rápida en una cantidad mayor que los anticuerpos contra fase I (IgG e IgM), los cuales se detectan en el estadio crónico de la infección. Romero, (2018) asegura que este mecanismo se da porque el LPS completo de la fase I bloquea la unión de los anticuerpos frente a la proteína de membrana, dificultando la acción de la respuesta inmune humoral. Esto permite distinguir infecciones agudas de infecciones crónicas, especialmente en humanos (Mcquiston, Childs, & Thompson, 2002).

En animales su limitado uso, se ha guiado a la identificación de anticuerpos para ambas fases sin distinción alguna (Anderson et al., 2013^a). Pero no siempre va a primoinfectar *Cb* fase II, por lo tanto, cuando se presenta *Cb* fase I desde el estadio agudo, la infección no es controlada por el sistema inmune y se mantiene en el tiempo, provocando que pase desapercibida en las primeras semanas de infección y que posteriormente se secreten títulos de anticuerpos elevados contra *Cb* fase I, lo que dificulta su diagnóstico y que además representa el desarrollo del estadio crónico.

Asimismo, para la evasión inmune habrá conversión de cierta cantidad de *Cb* de fase I a fase II, transcurrido un lapso de tiempo de infección, lo que ocasionará un aumento en el título de anticuerpos contra fase II, caracterizando brotes hiperepidémicos¹ que ha sido reportado frecuentemente en la literatura, y que son fácilmente confundidos con cuadros agudos de la enfermedad (Corine E. Delsing, Warris, & Bleeker-Rovers, 2011).

¹ Hiperendémismo: Transmisión intensa y persistente de una enfermedad que desata dos o más cuadros endémicos en una temporada o estación. Conocido también como reemergente.

2.2. Epidemiología

2.2.1. Perspectiva general

Fiebre Q ha sido descrita en todo el mundo, excepto en Nueva Zelanda y la Antártida; pero es necesario comprender que las características epidemiológicas de la enfermedad varían acorde al área geográfica, incluyendo situaciones donde la enfermedad es endémica o hiperendémica, así como la ocurrencia de los grandes brotes epidémicos, como también en condiciones esporádicas inusuales (Million & Raoult, 2015). De esta manera, la prevalencia de Fiebre Q es increíblemente variable acorde a las disparidades epidemiológicas mencionadas y, debido a si es reportada la enfermedad; por ejemplo, Fiebre Q no fue sino hasta 1999 que se volvió una enfermedad de declaración obligatoria en E.E.U.U., donde hubo un aumento exponencial del número de casos humanos en tan solo un par de años después (cerca del 250%) (Mcquiston et al., 2006).

Basados en el área geográfica, se puede observar endemismo o brotes epidémicos. En áreas de endemidad, Fiebre Q se presenta en casos esporádicos, usualmente luego de haber identificado actividades como factores de riesgo, entre ellas: agricultura o ganadería, centros de faenamiento o incluso turismo rural. Este tipo de asociaciones se reportan mayoritariamente en países europeos, en donde ciertos casos de hiperendemismo pueden ser identificados (Organización Mundial de Sanidad Animal [OIE], 2015).

Por el contrario, pequeños brotes (también conocidos como brotes familiares) son muy comunes, debido al contacto con las fuentes de infección asociado a un deficiente manejo de bioseguridad o al desconocimiento de la existencia de la enfermedad en sectores de alto riesgo. Así también, casos anecdóticos han sido registrados, los cuales muestran reportes de la presencia de Fiebre Q en especies poco convencionales o por vías de transmisión inusuales que ponen en alerta el estado de vigilancia actual, lo que intriga aún más a la comunidad científica a seguir investigando sobre la enfermedad (Eldin et al., 2017).

2.2.2. Reservorios

Fiebre Q afecta principalmente al hombre y a los animales de granja (caprinos, ovinos y bovinos), quienes son los principales reservorios y fuentes de infección para el ser humano (Romero, 2018). A pesar de ello, Fiebre Q presenta una cantidad muy extensa de hospedadores, incluso diversos autores mencionan que la infección por *C. burnetii* se ha identificado en todo el reino animal, abarcando diversas especies de vertebrados, incluyendo fauna silvestre, mamíferos marinos, mamíferos domésticos, aves, reptiles, e incluso se ha reportado en artrópodos (Eldin et al., 2017; Maurin & Raoult, 1999).

2.2.2.1. Importancia de la fauna silvestre

La presencia de Fiebre Q en la fauna silvestre representa un riesgo significativo para la salud pública a nivel mundial; esto se da debido a la excepcional resistencia del patógeno al medio ambiente, permitiendo adaptarse e infectar a diversas especies de animales silvestres en diferentes ecosistemas alrededor del planeta.

Existen reportes en regiones cálidas, incluso desérticas donde han logrado identificar hospedadores como canguros y otros marsupiales (Banazis, Bestall, Reid, & Fenwick, 2010; A. Cooper, Stephens, Ketheesan, & Govan, 2013; Potter, Banazis, Yang, Reid, & Fenwick, 2011). A su vez, reportes han demostrado la presencia de *C. burnetii* en regiones muy frías como Alaska, donde Minor et al., (2013) identificaron al patógeno en lobos y leones marinos, asimismo, Duncan et al., (2017) evaluaron la presencia de dos cepas en el ambiente gélido, así como Myers et al., (2013) evaluaron la viabilidad de *C. burnetii* en placentas de focas, demostrando que las bacterias lograban sobrevivir en las placentas infectadas, a pesar de las condiciones climáticas extremas.

Otros estudios exhiben la presencia de *C. burnetii* en islas como el Reino Unido y las Canarias (Bolaños-Rivero, Carranza-Rodríguez, Rodríguez, Gutiérrez, & Pérez-Arellano, 2017; Meredith, Cleaveland, Denwood, Brown, & Shaw, 2015); quienes demuestran que las especies silvestres se deben considerar como

reservorios significativos de infección tanto para el ganado como para el ser humano.

En Sudamérica esta situación no es ajena, ya que Davoust et al., (2014) identificaron a un perezoso de tres dedos como la fuente más probable de los brotes de Fiebre Q en Cayena-Guayana Francesa, puesto que encontraron concentraciones elevadas de *C. burnetii* en sus heces y en garrapatas que lo parasitan. Además, Million & Raoult, (2015) mencionan que el incremento de casos diagnosticados con Fiebre Q en esta región, pueda tener relación con que han abierto un albergue para esta especie en el centro de la ciudad, lo que ha permitido una mayor interacción del patógeno con la población.

2.2.2.2. Hospedadores domésticos y el ser humano

Muchos animales y artrópodos actúan como reservorios de la bacteria. Sin embargo, la fuente más importante de infección humana son los rumiantes domésticos tales como bovinos, caprinos y ovinos, en quienes se ha visto mayor diseminación de la enfermedad desde su aparición, motivo por el cual se les considera como los reservorios primarios de *C. burnetii* (Anderson et al., 2013a).

Aunque se tenga en claro que estas especies sean la principal fuente de infección humana, los reportes de infección humana por otros animales domésticos son cada vez más frecuentes. Animales como gatos (Malo et al., 2018; Shapiro, Norris, Bosward, & Heller, 2017), perros (Chitanga et al., 2018; B. Davoust et al., 2019), cuyes, conejos y roedores (Bewley, 2013; Gregory, van Schaik, Russell-Lodrigue, Fratzke, & Samuel, 2019), caballos (Desjardins et al., 2018; Marenzoni et al., 2013), aves domésticas, en cautiverio urbano y periurbanas como loros y palomas (Shivaprasad et al., 2014; Stein & Raoult, 1999), y cerdos (Seo, Ouh, Lee, & Kwak, 2016), han mostrado la capacidad de diseminar la enfermedad al ser humano.

Aunque se ha mencionado la conexión de fauna urbana y silvestre, su reporte es limitado; uno de los estudios más completos en el ámbito es el que desarrolló

A. E. Cooper, (2011) en Queensland-Australia, quien elaboró una investigación seroepidemiológica y molecular involucrando a todos los posibles reservorios de *C. burnetii* tanto animales como artrópodos y el ser humano, encontrando una prevalencia de: 43,8% en lobos, 38,7% en gatos ferales, 16,8% en ganado cárnico, 21,8% en perros domésticos y 17,3% en perros salvajes y dingos, 6,1% en gatos domésticos y 3,5% en población humana. A su vez, detectó la prevalencia en especies silvestres (macrópodos, peramélidos y didelfimorfos) y en algunas especies de garrapatas. De manera que se evidenció la presencia de anticuerpos en una gran variedad de animales (de granja, domésticos, ferales y nativos marsupiales), así como también mediante ensayos PCR la presencia fehaciente de *C. burnetii*; esto representa la complejidad de la enfermedad dentro de un ecosistema donde gran variedad de animales pueden actuar como reservorios de *C. burnetii*.

2.2.2.3. Hospedadores artrópodos

C. burnetii ha sido descrito en un gran número de especies de garrapatas tanto duras como blandas. El primer aislamiento de cepas de la bacteria se realizó en un *Dermacentor andersoni* (garrapata dura) en Montana, aislando la tan conocida cepa *Nine Mile*, utilizada posteriormente en estudios de respuesta inmunológica por su alta virulencia (Davis, Cox, Parker, & Dyer, 2016). Es importante mencionar que la hematofagia es el factor determinante para que estos hospedadores adquieran *C. burnetii*.

Otro aspecto importante del ciclo, es su ausencia de especificidad de vector, siendo aislado de más de 40 especies de garrapatas duras, cerca de 15 especies de garrapatas blandas, así como de otros artrópodos como chinches, moscas (Nelder, Lloyd, Loftis, & Reeves, 2008) e incluso ácaros (Eldin et al., 2017). En animales, se ha detectado a *C. burnetii* en pulgas que parasitaban ratas, conejos y zorros (González-Barrio, 2015), a pesar de ello el rol que tienen en el ciclo de la enfermedad es todavía cuestionable.

2.2.3. Transmisión

C. burnetii tiene la capacidad de transmitirse por contacto directo o aerosoles contaminados, aunque han sido descritas varias vías de transmisión que son importantes abordar, entre animales y animal-humano. Se reitera que los animales domésticos, principalmente bovinos, caprinos y ovinos, son los principales causantes de la diseminación de la enfermedad hacia la población humana. De tal manera, Fiebre Q se puede diseminar por diversas rutas de transmisión:

2.2.3.1. Excreciones de animales

Los ruminantes domésticos infectados excretan *C. burnetii* durante el parto, especialmente si hay abortos. De manera que bovinos, ovinos y caprinos son capaces de excretar altas concentraciones de la bacteria a través de: líquido amniótico, feto, placenta y membranas fetales, en donde alcanzan concentraciones por encima de los mil millones por cm^3 (Mccaughey et al., 2010; Nusinovici, Frössling, Widgren, Beadeau, & Lindberg, 2015).

Sin embargo, Sting et al., (2013) mencionan que a pesar de no presentar abortos, los animales infectados con partos normales pueden excretar elevadas cantidades de *C. burnetii* similares a las que excreta un animal que abortó, constituyendo un papel importante en la transmisión de la enfermedad hacia la población humana.

Pero esta no es la única vía de excreción de la bacteria, otras vías donde se disemina *C. burnetii* luego del parto, son la leche, las descargas vaginales, heces, orina y semen (Annie Rodolakis, 2009; Romero, 2018). La excreción por estos medios puede tomar mucho tiempo (meses o años) basándose en la sucesión de partos y el patrón de excreción; así dicho patrón puede presentar una dinámica continua (manteniendo la excreción de *C. burnetii* permanente) o intermitente (reactivándose por el acontecimiento del parto) (B. Davoust et al., 2019).

En el bovino, la principal vía de excreción de *C. burnetii* es la leche, aunque se puede excretar por las demás vías mencionadas. Por tanto, Guatteo & Seegers, (2006) analizaron que un 85% de las vacas infectadas que no presentaban sintomatología clínica de un hato excretaban la bacteria por leche y que apenas un 2% excretaban simultáneamente por leche, heces y descargas vaginales simultáneamente.

En contraste, otro estudio afirma que en un hato con sintomatología clínica se observó que un 46% de los animales excretaban la bacteria en leche y secreciones vaginales (R. Guatteo, Joly, & Beaudeau, 2012), asegurando que esta es la combinación más común de excreción de *C. burnetii*, así existen autores que hablan de que un alto grado de excreción vía vaginal, puede sugerir un riesgo de excreción en leche (Raphaël Guatteo, Beaudeau, Joly, & Seegers, 2007).

Durante el parto, el periodo de mayor excreción en leche se da dos semanas antes y dos semanas después, pero no quiere decir que sea el único periodo de excreción, puesto que puede prolongarse durante un año, e incluso mantenerse constante por más de tres años (Raphaël Guatteo et al., 2006; A. Rodolakis et al., 2007). Por tal motivo se ha considerado al bovino como la especie de rumiante domestico en la que la excreción es más duradera, habiendo una correlación entre la serología y la excreción, así animales seropositivos excretan *C. burnetii* por un tiempo mayor que los seronegativos (Courcoul, Vergu, Denis, & Beaudeau, 2010).

En descargas vaginales y heces la excreción se encuentra alrededor de catorce días luego del parto (Raphaël Guatteo et al., 2006; A. Rodolakis et al., 2007). Como se ha descrito anteriormente, existen patrones de excreción, pero en el bovino, la excreción es constante en leche, demostrando que *C. burnetii* tiene un tropismo elevado por la glándula mamaria que por la vía digestiva o reproductiva (García-Ispuerto et al., 2013), además de que el bovino tiende a desarrollar infecciones crónicas con excreción persistente de *C. burnetii* en leche que otras especies (Romero, 2018).

2.2.3.2. Aerosoles contaminados

De la evidencia experimental como epidemiológica, no cabe duda que la transmisión por vía respiratoria a través de la inhalación de los aerosoles producidos por materiales contaminados son el mecanismo principal por el cual *C. burnetii* se transmite a los humanos, aunque no exime que esta vía sea una fuente importante de contagio hacia otros animales por lo que actualmente se ha investigado (H. J. Roest et al., 2012; Romero, 2018).

Las personas en contacto con animales de granja pueden infectarse por inhalación de aerosoles primarios como fetos, líquido amniótico, placenta u otras secreciones contaminadas. También pueden infectarse por inhalación de aerosoles secundarios formados de material contaminado por animales como: la cama, estiércol, lana, pelaje, cuero, la ropa y otros fómites (C. E. Delsing & Kullberg, 2008; Panaiotov et al., 2009). Además, el riesgo de contaminación por aerosoles está presente en el personal de laboratorio, personal de faenamiento y tratamiento de curtiembres que trabaja con animales infectados (Angelakis et al., 2011).

2.2.3.3. Ingestión

Conocida también como la vía de transmisión oral. Esta vía es una de las más controversiales debido a las diversas ambigüedades descritas, a pesar de ello bien se sabe que, especialmente en mamíferos, *C. burnetii* puede diseminarse en leche, aún más si ésta es consumida cruda; ya sea entre animales, cuando existe amamantamiento de crías, o bien hacia humanos por no existir un proceso de pasteurización, ya sea directamente con la leche o con subproductos de la misma, así esta es considerada una vía de infección secundaria (Benson, Brock, & Mather, 1963; Eldin et al., 2017; Fishbein & Raoult, 1992; Hatchette et al., 2001; Krumbiegel & Wisniewski, 1970; Maurin & Raoult, 1999).

Según Eldin et al., (2013), el ADN de *C. burnetii* se ha detectado alrededor del 64% de los productos lácteos en Francia y más frecuentemente los de origen bovino; a pesar de ello, no se logró aislar bacterias viables del queso y yogurt en

dicho estudio. Sin embargo, existen otros estudios que afirman la presencia del ADN de *C. burnetii* en dichos subproductos (Capuano et al., 2012; Galiero et al., 2016), además se menciona que los productos elaborados con leche no pasteurizada presentan una mayor concentración bacteriana (Hirai, Nakama, Chiba, & Kai, 2012).

En base a esto, Gale, Kelly, Mearns, Duggan, & Snary, (2015) mencionan que los riesgos de contraer *C. burnetii* a través del consumo de leche y productos lácteos no pasteurizados (incluido el queso) no son insignificantes, pero son menores en comparación con la transmisión por inhalación de aerosoles de productos parturientes y contacto con el ganado. En consecuencia, incluso si la ruta digestiva no puede representar una amenaza para la salud pública hoy en día, no deja de ser una alerta para que se tomen medidas de control y prevención (principalmente el manejo de la pasteurización desde que se describió su termolabilidad) (Enright et al., 1957; Huebner, Jellison, Beck, & Wilcox, 2016).

2.2.3.4. Otras vías menos frecuentes

En humanos, De acuerdo con Angelakis et al., (2011) han sido reportadas: La vía percutánea, la cual está basada en la capacidad de los artrópodos (generalmente garrapatas) para transmitir *C. burnetii* hacia mamíferos domésticos. La vía de transmisión sexual en animales, fue planteada al aislar *C. burnetii* del semen de un toro (D. Kruszewska & Tylewska-Wierzbanowska, 1997), así como también a través del análisis de la viabilidad de la bacteria en el tracto reproductivo de un ratón (D. Kruszewska & Tylewska-Wierzbanowska, 1993). De igual manera, la vía de transmisión sexual en humanos se reportó por Milazzo et al., (2001), quienes identificaron el contagio de *C. burnetii* de un hombre a su esposa. Asimismo, Danuta Kruszewska, Lembowicz, & Tylewska-Wierzbanowska, (1996) determinaron la ruta de transmisión de la bacteria en familias conyugales mediante el estudio serológico seriado.

Otros mecanismos mucho menos frecuentes de transmisión de *C. burnetii* son por vía conjuntival (muy común si es personal que trabaja con animales); a través

del contacto de producto contaminado en heridas abiertas (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo [INSHT], 2017).

Con respecto a transmisión zoonótica, se han reportado casos familiares, posiblemente ocurridos por la exposición a perras (Buhariwalla, Cann, & Marrie, 1996; D'amato et al., 2014) y gatas parturientas (Malo et al., 2018). Casos exclusivamente en animales, han sido descritos en perros que se relacionan con comerse productos del parto de rumiantes como placentas contaminadas (Romero, 2018), igualmente se han reportado brotes silvestres, asociado al consumo de presas contaminadas (Meredith et al., 2015). Otros han mencionado el riesgo de transmisión vertical por amamantamiento del calostro, así como a la ingestión de heces contaminadas (P. Plummer, 2019). Un resumen del ciclo se describe en el siguiente esquema (**Figura 6**).

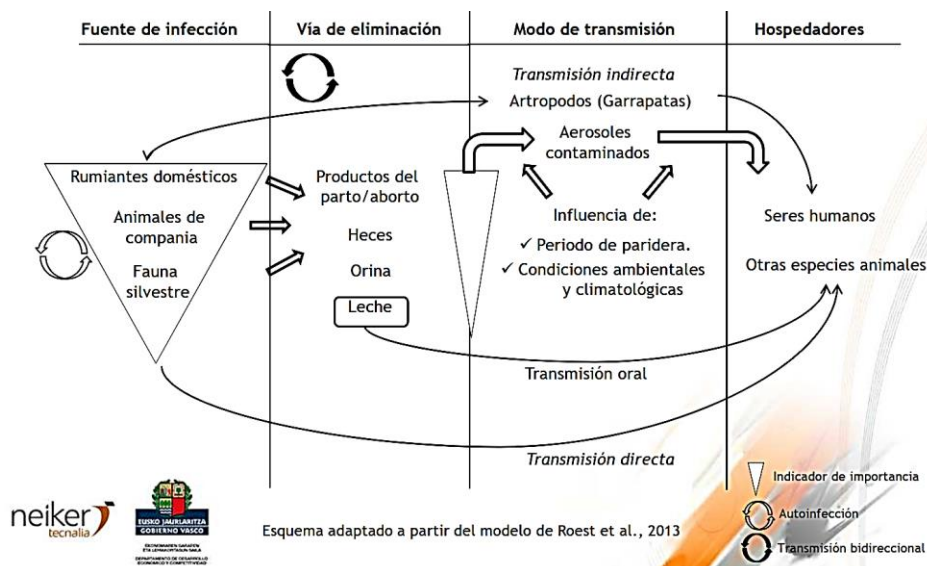


Figura 6. Ciclo epidemiológico de Fiebre Q.

Se toma en cuenta la fuente de infección, la excreción, el modo de transmisión y sus hospedadores. El siguiente esquema es un modelo adaptado de Mori & Roest, 2018.

2.2.4. Factores de riesgo

Debido a la complejidad de *C. burnetii* en cuanto a su epidemiología y transmisión, se resumen en cuatro principales patrones de riesgo. El primero ocurre en rumiantes domésticos, quienes actúan como los principales reservorios y diseminadores hacia la población humana; el segundo está relacionado a la población humana y su actividad profesional; el tercero y no menos importante, el ambiente, ya que gran parte del desarrollo epidemiológico de Fiebre Q tiene que ver con patrones espaciales y estacionales (P. Plummer, 2019).

Tomando en cuenta el papel de los rumiantes domésticos en la epidemiología de Fiebre Q, es importante mencionar que el mayor riesgo de transmisión ocurre durante el parto por inhalación, ingestión o contacto directo con fluidos y/o productos del parto, como la placenta (P. Plummer, 2019).

De igual manera, la bacteria se disemina en orina, heces, sangre y leche cruda, por lo que estar en contacto de cualquier tipo con estos productos contaminados se considera un factor de riesgo (P. Plummer, 2019). Por tanto, dentro de este grupo se han desarrollado diversos estudios actualmente, donde se destacan por su relevancia, definiendo factores de riesgo de alto impacto. Entre los siguientes tenemos:

- Dentro de la producción bovina, se ha considerado como un factor de riesgo la presencia de otras especies en la producción lo que eleva la seropositividad a la enfermedad en el bovino; tanto perros y gatos (Cantas, Muwonge, Sareyyupoglu, Yardimci, & Skjerve, 2011; Meredith et al., 2015) como la crianza de ovinos y caprinos (Schimmer, 2018; van Engelen et al., 2014).
- Se ha visto una relación positiva entre la presencia de *C. burnetii* y la edad de los animales: mientras mayor es la edad, mayor riesgo de seropositividad (Browne et al., 2017; Selmi et al., 2018); el estado reproductivo: hembras que han tenido historial de abortos o registros reproductivos deficientes (Selmi et

al., 2018; To et al., 1998; Vaidya et al., 2010), así como la presencia de crías recién nacidas (Schimmer, 2018); el sexo, especialmente en hembras (Larson et al., 2019); y la raza, donde la enfermedad es predominante en ganado lechero (especialmente Holstein) más que el ganado cárnico (Yohannes, 2018).

- La producción intensiva se encuentra directamente relacionada con el riesgo de presencia de Fiebre Q , ya que aumenta la concentración en la bacteria en las excretas de los animales y así al ambiente por medio de las esporas (Romero, 2018). De tal manera que, dichos sistemas de producción ocasionan que incremente la densidad animal, con ello el hacinamiento y el estrés, provocando un aumento en la interacción de animales infectados y susceptibles (González-Barrio, 2015; Romero, 2018). Dentro de este ámbito, la automatización del sistema de ordeño es tomado como un factor de riesgo elevado para la presencia de *C. burnetii* en la producción lechera (Schimmer, 2018; van Engelen et al., 2014).
- La entrada de nuevos animales a la granja es considerada un riesgo potencial para la presencia de *C. burnetii* en el hato, por tanto la cuarentena de un animal recién introducido puede reducir la seroprevalencia en animales de la producción (Eldin et al., 2014; Yohannes, 2018).
- La utilización del semen de toro para inseminación artificial se considera un factor de riesgo, ya que se ha visto la resistencia de la bacteria en pajuelas mal almacenadas (Meadows, Jones-Bitton, McEwen, Jansen, & Menzies, 2015; Romero, 2018).
- Por otra parte, la entrada de humanos a la granja, hace que exista un mayor número de fuentes de infección hacia los animales, puesto que la bacteria puede transportarse en ropa, zapatos y material ergonómico contaminado, haciendo que estos actúen como vectores mecánicos (Romero, 2018; Woldehiwet, 2004).
- Además, se identificaron como factores de riesgo: la entrada de alimentos (Karagiannis et al., 2009), los componentes con los que están elaborados los alimentos (Zubair et al., 2016), el contacto con estiércol, heno, paja, pieles y

curtiembres de animales infectados (H. I. J. Roest et al., 2011) y la utilización de pastos mixtos en sistemas silvopastoriles (Romero, 2018).

- El factor de riesgo más estudiado es la comercialización de la leche y subproductos de animales seropositivos y contaminados. Frente a este aspecto, hay diversas investigaciones que argumentan la posibilidad de presentar infección por consumo de leche cruda, representando un factor de alto riesgo (Browne et al., 2017; Esmaeili, Golzar, Ayubi, Naghili, & Mostafavi, 2017; Fishbein & Raoult, 1992; Karagiannis et al., 2009; Selby, 2018; Signs et al., 2012; Szymanska-Czerwinska, Jodelko, Pluta, Kowalk, & Niemczuk, 2011). Pexara, Solomakos, & Govaris (2018) concluyeron mediante revisión sistemática que la prevalencia en leche cruda de *C. burnetii* iba de un rango entre 0% al 95% alrededor del mundo y que la probabilidad de contraer la bacteria mediante su consumo es elevada, más cuando no se ha logrado pasteurizar.
- Un patrón que ha fijado la atención de los expertos como factor de riesgo actualmente es la estacionalidad de partos (Romero, 2018). En producción bovina, este sugiere una diseminación constante ya que se dan a lo largo del año, pero Taurel, Guatteo, Joly, Seegers, & Beaudeau, (2011) demostraron una mayor prevalencia en bovinos con estacionalidad de partos al sur de Francia.
- En Ecuador, Carbonero et al., (2015) informaron que alimentar a los terneros con leche comercial en lugar de leche materna se relacionó con una mayor seropositividad en el ganado, esto puede asociarse debido a la presencia de recipientes y materiales para la elaboración de la fórmula contaminados. Asimismo, los autores describen que se identificó como factor de riesgo la pobre higiene y desinfección del cordón umbilical de terneros, lo que sugiere una vía alternativa de infección.
- Por último, Schimmer, (2018) y Gauchard, Hattenberger, Chevalier, & Thomann, (2004) mencionan que la comercialización de leche a granel, junto a la introducción de animales nuevos, la propagación de animales de compañía y plagas, el uso de materiales importados y la inseminación artificial son factores de riesgo con un impacto muy alto por lo que es

necesario realizar una evaluación de los riesgos para la salud pública y también definir estrategias que minimicen el riesgo de diseminación de Fiebre Q en la crianza de animales.

La dinámica de la transmisión de la enfermedad envuelve, entre otras, a la población humana y sus actividades relacionadas con el ámbito agrícola-ganadero (Mori & Roest, 2018), por ello diversos estudios perciben que la aparición de la enfermedad en humanos es esporádica y está limitada a un cierto grupo de individuos: carniceros, granjeros, veterinarios, personal de matadero, personal de laboratorio y personal que trabaja en manufactura de alimentos y/o material para la ganadería (Mori & Roest, 2018; Whitney et al., 2009).

En la actualidad, esto ha ido alterando por diversos patrones socioculturales, demográficos y espaciales (Carrieri et al., 2002; De Rooij et al., 2016; El-Mahallawy et al., 2016; Panaiotov et al., 2009). Un estudio informó de un brote en trabajadores de una fábrica que realizaba filtración de partículas (HEPA). Sugiriendo que los trabajadores infectados no habían logrado tomar las medidas de protección de la propagación de organismos por el viento. Además, se identificó un caso no ocupacional de Fiebre Q en el cónyuge de unos de los empleados infectados, lo que muestra el desafío que sugiere el control de la fuente (Bond et al., 2016).

A partir de ello, Pexara, Solomakos, & Govaris (2018) informan que, a pesar de que se considere predominantemente un riesgo ocupacional de los profesionales que trabajan con animales no se limita a estos grupos, ya que actualmente han emergido reporte de casos en personas que poco o nada han tenido contacto con animales, lo que indica la importancia del control de Fiebre Q dentro de la salud pública en los diversos continentes (Damasceno & Guerra, 2018; Yohannes, 2018).

Por este motivo, el CFSPH, (2010) ha clasificado a *C. burnetii* como un agente potencial de bioterrorismo de categoría B, lo que ha resultado en una enfermedad de reporte obligatorio en algunos países como en E.E.U.U. en donde

se ha revelado que la enfermedad es más común de lo que se pensaba previamente.

Según Schimmer, (2018) se han identificado como factores de riesgo moderado de infección: las localizaciones de las granjas en regiones urbanas o periurbanas, personas que viven en áreas con alta densidad de ganado, el uso de coberturas, cortinas o rompevientos en los establos, manejo de suministros animales y la falta de bioseguridad asociado a una deficiente higiene. A continuación, se describe un esquema del personal de riesgo más susceptible y que se considera con el nivel de conocimiento más bajo acerca de la exposición a Fiebre Q (**Figura 7**).

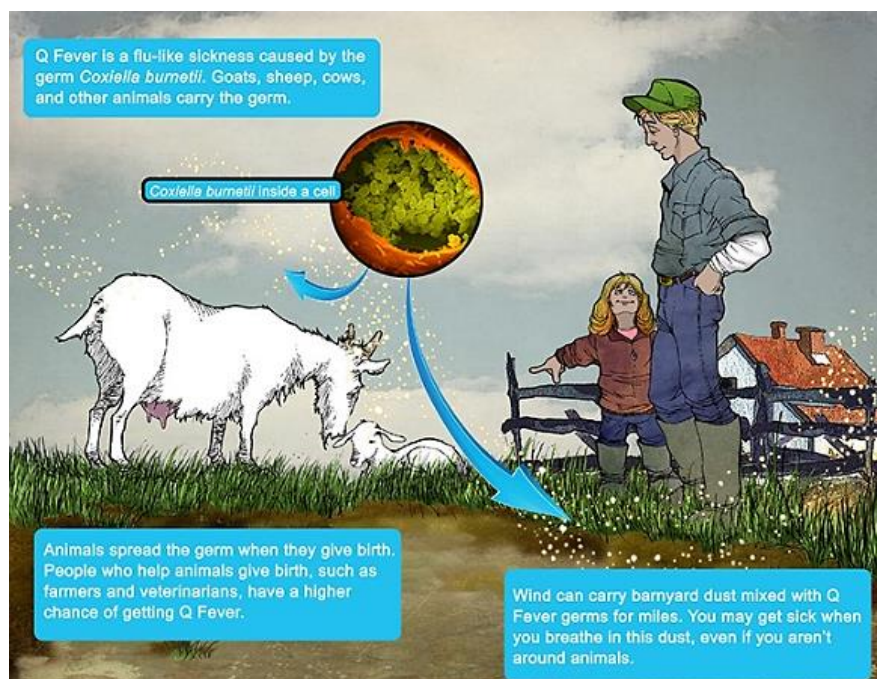


Figura 7. Transmisión y personal en riesgo de infección por *C. burnetii*.

*“Ciertas profesiones tienen un mayor riesgo de exposición a *C. burnetii*, incluidos veterinarios, trabajadores de plantas de procesamiento de carne, trabajadores de lácteos, ganaderos e investigadores en instalaciones que albergan ovejas y cabras. Las personas que trabajan en estas áreas pueden necesitar tomar precauciones adicionales, pero la transmisión no se limita a estos sectores”*. Extraído de Anderson et al., 2013b.

Por último, los factores de riesgo asociados al medio ambiente son diversos pero muy importantes, puesto que pueden representar hasta un 95% de la causalidad de la aparición de Fiebre Q en regiones sin endemismo, en profesionales sin riesgo ocupacional, o incluso en hospedadores poco frecuentes como elefantes (Larson et al., 2019). En el contexto nacional, el ambiente puede llevar a la aparición de *C. burnetii* en especies que se encuentran vulnerables o en peligro de extinción, de manera que es necesario el desarrollo de firmes investigaciones.

2.2.5. Prevalencia Global

En Europa, la enfermedad es bien descrita; entre los años 2007 y 2010, los Países Bajos sufrieron la devastación más grande jamás descrita de Fiebre Q, presentando 4000 casos reportados y cerca de 40000 casos totales (H. I. J. Roest et al., 2011).

El brote se había suscitado en una localidad rural con baja seroprevalencia (2.4%), pero en regiones cercanas, se encontraban desarrollando la producción intensiva de cabras lecheras, por lo que hubo un aumento en la población caprina, cerca de 6,4 millones de animales, y esto también produjo la expansión del territorio productivo hacia zonas periurbanas (Eldin et al., 2017).

Se conoce mediante un estudio retrospectivo que los animales infectados fueron introducidos al país y que gracias a ello, se logró evidenciar la epizootia había empezado en 2005, con tasas de aborto bordeando el 60% en algunas granjas (Dijkstra et al., 2012).

De manera que, la combinación de un gran número de animales infectados, la ubicación de granjas cerca de zonas urbanas, la falta de vigilancia y el bajo nivel de protección inmunológica explican la magnitud de la epidemia de Fiebre Q (**Figura 8**).

Las autoridades holandesas tuvieron que desarrollar estrategias de salud pública para controlar el brote, siendo la notificación obligatoria de abortos en granjas y

vacunación obligatoria para granjas con más de 50 animales infectados, pero estas medidas no llegaron a surgir efecto e informándose el aumento de casos mortales en humanos, se decidió, un año más tarde, en sacrificar sistemáticamente cabras y ovejas gestantes, llegando al sacrificio más de cincuenta mil cabras (Hogerwerf et al., 2011; Schneeberger, Wintenberger, van der Hoek, & Stahl, 2014). En 2010 el reporte de casos humanos comenzó a disminuir.

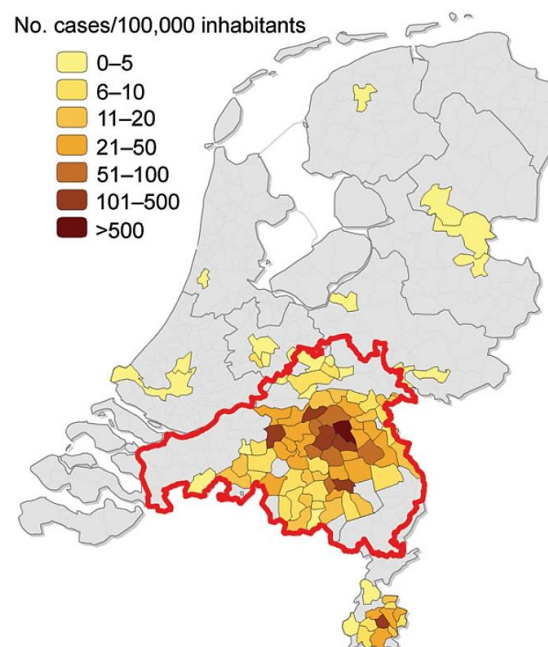


Figura 8. Número de casos por cada 100000 habitantes de Fiebre Q en Holanda en 2009.

Densidad de 1,133 casos reportados de Fiebre Q aguda en humanos. El área delimitada en rojo es donde la vacunación de cabras y ovejas lecheras fue obligatoria en 2009. Tomado de Hogerwerf et al., 2011.

Como consecuencia de la epidemia, pacientes con problemas cardíacos podrían haber estado expuestos a *C. burnetii* desarrollando infecciones vasculares y/o valvulares mortales (Wielders et al., 2015). También mujeres embarazadas podrían haber estado expuestas lo que conduciría a complicaciones obstétricas y abortos espontáneos (Morroy et al., 2015). Por lo tanto, las consecuencias a largo plazo para la salud pública de la epidemia de Fiebre Q, principalmente de

un gran número de infecciones crónicas, sigue siendo una preocupación importante.

En cuanto a las pérdidas en producción ganadera, los costos económicos se aproximaron a 307 millones de euros, lo que incluyó: el control de la enfermedad distribuido en diagnóstico, vacunación y sacrificio; las pérdidas productivas por animal enfermo, pérdidas en producción láctea, abortos, y fertilidad; y los costos en salud pública por DALYs y YLDs (Van Asseldonk, Prins, & Bergevoet, 2013; Wulansari, Mahawati, & Hartini, 2013). Asimismo, Torgerson et al., (2018) describen que las pérdidas animales llegaron a abarcar hasta 85 millones de euros en los brotes de Fiebre Q en los Países Bajos en el periodo 2007-2011.

Otros estudios estimaron que las pérdidas totales causadas en este brote se encuentran entre los 161 y 336 millones de euros o entre 225 y 600 millones de euros, y en todos los casos se estimó que la pérdida en la calidad de vida se aproxima 150 millones de euros y por inhabilidad laboral se estima 96.5 millones de euros (González-Barrio, 2015; Tempelman, Prins, & Koopmans, 2011; van Asseldonk, Bontje, Backer, van Roermund, & Bergevoet, 2015).

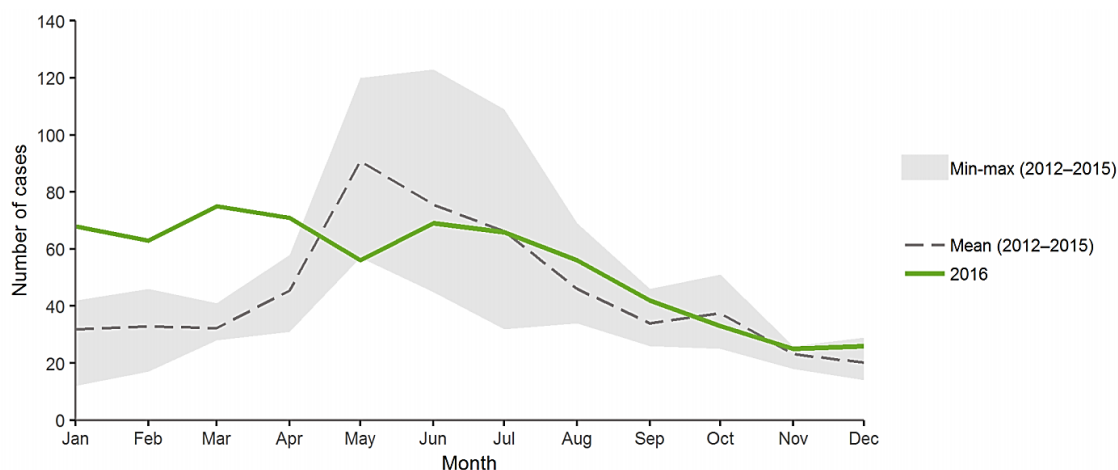
A partir de ello, cada año es más intensivo el control de los brotes y su difusión hacia la población para el manejo, las estrategias de vacunación y declaración obligatoria han permitido disminuir el número de casos, a la vez que se investiga más de los genotipos que se encuentran.

En Reino Unido la situación es menor que en el continente pero se relaciona a brotes industriales (Van Woerden et al., 2004). Otros países como Alemania, Bulgaria, Eslovaquia, Francia, España, Italia y Suiza han reportado casos en rumiantes menores entre los años 1980 y 2007 (Anastácio, Carolino, Sidi-Boumedine, & da Silva, 2016; García, 2019).

Actualmente el EFSA canales de comunicación global de la prevalencia y estatus sanitario de cada país. Además, proporciona herramientas para el manejo de eventualidades, lo que ha permitido enfocarse más en el control de Fiebre Q,

esto fue corroborado en un estudio en Holanda, donde analizaron la variación espacial de la enfermedad tras el gran brote suscitado, identificando que no hubo correlación entre la seroprevalencia analizada y la incidencia de casos que hubo en los años del brote epidémico (Pijnacker et al., 2017).

Otra organización que se encuentra al pendiente es la ECDC, quien, en su reporte anual de vigilancia en 2016, mostró la distribución de los casos por países y por diversos factores, corroborando la disminución de los brotes y reiterando la eficacia del control (**Figura 9**).



Source: Country reports from Cyprus, the Czech Republic, Estonia, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Iceland, Ireland, Latvia, Lithuania, Luxembourg, Malta, the Netherlands, Norway, Poland, Portugal, Romania, Slovakia, Slovenia and Sweden.

Figura 9. Reporte anual de vigilancia 2016.

Distribución de casos confirmados de Fiebre Q por mes en la Unión Europea entre los años 2012 y 2015. Tomado de European Centre for Disease Prevention and Control [ECDC], 2016.

En Estados Unidos, el primer caso se reportó en 1999, y a partir de ello, los estudios han ido perfilándose por determinar la prevalencia y minimizar los riesgos que puede traer consigo un brote de Fiebre Q. Los animales han mostrado una extensa variación en la seroprevalencia: cabras (41.6%), ovejas (16.5%), vacas (3.4%) (Mcquiston & Childs, 2002).

Otros estudios recientes identificaron la seroprevalencia en muestras de leche de bovino en tanque a granel de 528 granjas, identificaron 76.9% de

seroprevalencia (United States Department of Agriculture [USDA] & Animal and Plant Health Inspection Service [APHIS], 2011); años más tarde, otro estudio que condujo a través de 2001 y 2003, registraron una prevalencia del 94%, la cual ha sido la más grande registrada hasta ese momento en el mundo (Pexara et al., 2018). La prevalencia de *C. burnetii* en bovinos es 60.08% y en caprinos es 2.50% (Bauer et al., 2016, 2015).

En especies silvestres se ha descrito en coyotes, lobos, roedores, mapaches, liebres, ciervos y aves, de esta manera el CDC ha llegado a definir que la enfermedad es enzootica en rumiantes y animales salvajes a través de muchas regiones del país, con ello aumenta la exposición humana al patógeno (Anderson et al., 2013a).

En América del Sur, la presencia de *C. burnetii* se ha descrito extensamente en las Guayanas donde existe un hiperendemismo (Epelboin et al., 2016).

En Brasil, se ha logrado identificar a nivel molecular (Mares-Guia et al., 2014) y se han reportado casos que sugieren a los clínicos tener en cuenta a la Fiebre Q como uno de los diferenciales endémicos de enfermedad febril (Da Costa, Brigatte, & Greco, 2006) y que además compromete a la salud pública como a la fauna silvestre (Damasceno & Guerra, 2018).

En Colombia con una prevalencia del 25% en hatos lecheros. Contreras, Máttar, González, Álvarez, & Oteo (2014) identificaron ADN de *C. burnetii* en 45% de las muestras de leche de tanques a granel y una prevalencia del 61% en los trabajadores de dichas fincas, este último concuerda con los resultados obtenidos del estudio realizado por Betancur et al. (2015) que describe una prevalencia del 60% en trabajadores de las fincas de Antioquia.

En Chile y Venezuela reportan una prevalencia de 14% y 60,63% en rebaños ovinos y caprinos respectivamente (González & Moreira, 2003; Ordóñez, 2017; Oropeza, Dickson, Maldonado, & Kowalski, 2010) En Chile, apareció un brote de Fiebre Q en octubre de 2017, donde se presentaron cuadros respiratorios en

adultos, algunos de gravedad, siendo relacionados con la labor agropecuaria; esto llamó la atención rápidamente, puesto que familiares y personal de salud reportaron casos. En total de aquel brote, 47 casos fueron asociados, sin muertes y recuperados, pero siguieron con seguimiento lo que llevó a alertar a las autoridades y en la actualidad diversos estudios se están llevando a cabo para conocer el estatus nacional (Ministerio de Salud, 2017; Ministerio del Interior y Seguridad Pública, 2018).

En Argentina y Uruguay la situación es más estudiada. En 2013, un grupo de investigadores argentinos aislaron *C. burnetii* extraídas de garrapatas, demostrando el rol potencial en la transmisión del agente por vectores (Pacheco et al., 2013). Asimismo, otro reporte determinó una seropositividad del 15,4% en caninos domésticos de la ciudad de Buenos Aires (Cicuttin, Lobo, Anda, & Jado García, 2013).

En Uruguay el primer reporte ya había sido en el año 1956, de un trabajador de frigorífico; la prevalencia actual en humanos bordea entre 4.2% y 5.5%, en animales se ha identificado un 0.9% para animales de abasto y hasta un 30% en animales de industria. En ovinos se encontró un 10.3% de seropositividad, en equinos de 5.5% hasta 21.7%, en cerdos su positividad rodea los 21.2% (Somma Moreira, Caffarena, Pérez, Somma Saldias, & Monteiro, 2007).

En Ecuador, Manock et al. (2009) contemplaron el primer reporte de Fiebre Q en humanos evidenciando el 4,9% de seropositividad contra *C. burnetii* en pacientes febriles de la Amazonía.

Años más tarde, Carbonero et al. (2015) y Ordóñez (2017) reportaron la prevalencia de *C. burnetii* en bovinos, teniendo una similitud entre sus resultados: la prevalencia real a nivel nacional fue de 12,6%; la prevalencia por hatos fue de 46,9% y la prevalencia intrarrebaño osciló entre 8% al 100% (\bar{x} = 25%), de igual manera Carbonero et al., (2015) reportó los factores de riesgo que se relacionan con la presencia de *C. burnetii* en el estudio: edad del ganado,

alimentación de las crías con lacto reemplazantes y seropositividad al virus sincitial bovino.

Asimismo, Echeverría et al. (2019) realizaron un estudio de seroprevalencia para Fiebre Q en bovinos y trabajadores de granjas lecheras, donde obtuvieron el 43% y 34% de prevalencia respectivamente y también identificaron la asociación de Fiebre Q con Neosporosis en un brote de abortos en el trópico (Changoluisa et al., 2019).

Por otro lado, Rojas et al. (2012) identificaron mediante PCR en tiempo real, la presencia de *C. burnetii* en leche cruda en Chimborazo y en las zonas fronterizas con Colombia y Perú. Este estudio compone el primer reporte en detectar el genoma de *C. burnetii* en leche de bovino, lo que demuestra la presencia del patógeno en el país.

2.3. Patogenia

En los animales como en los humanos la ruta de entrada de *C. burnetii* es, esencialmente, la respiratoria. El tiempo de incubación puede llevar desde 21-28 días hasta las 12 semanas, variado especialmente por la dosis de infección, la inmunidad del hospedador y el tiempo de exposición (Martinez, Cantet, Fava, Norville, & Bonazzi, 2014; Porten et al., 2006; Vincent et al., 2015).

Por tanto, los primeros objetivos del patógeno durante la infección son los macrófagos alveolares y las células de Kupffer, así se ha logrado encontrar a *C. burnetii* en monocitos y en macrófagos dispersos por varios órganos como: bazo, ganglios, médula ósea, páncreas, hígado, corazón y pulmones (Gauchard et al., 2004). A pesar de ello, en los animales de granja es poco común encontrar infecciones pulmonares o cardíacas, únicamente existe un reporte anecdótico de infección experimental en novillas por inoculación intradérmica, que les ocasionó neumonía y una de ellas murió tres meses después con una insuficiencia cardíaca (Pérez, 2012).

Tras la primoinfección la infección se torna latente hasta que las condiciones intracelulares sean óptimas para invadir los órganos diana; la razón de su afinidad en las diferentes especies todavía sigue siendo desconocida. Posteriormente se activa infección aguda, donde *C. burnetii* se encuentra en la sangre, los pulmones, hígado y el bazo, distribuyéndose hacia todo el organismo; por ejemplo, a la glándula mamaria y al tracto reproductivo en los rumiantes, esto puede llegar a tomar de 15 días hasta 36 meses o incluso años (A. Rodolakis et al., 2007).

Para cuando la enfermedad se vuelve crónica tuvo que haberse establecido en los órganos diana y es allí que durante la fase crónica se presenta un desprendimiento persistente de la bacteria en la leche, heces y orina (Yohannes, 2018), aunque se ha visto que diferentes rutas de excreción como la de fluidos del periparto (García-Ispuerto et al., 2013).

2.4. Manifestaciones Clínicas

En los animales la Fiebre Q es también conocida como Coxiellosis, siendo una enfermedad muy variable. A pesar de que la infección es muy común en bovinos, caprinos y ovinos, en la mayoría de los casos es asintomática, incluida la falta de fiebre (Selby, 2018). Pero cuando esta se presenta, las mermas en la producción son debidas a:

- Trastornos reproductivos: estos incluyen endometritis (De Biase et al., 2018), metritis, muerte fetal y mortinatos (Vidal et al., 2017), placentitis (Bildfell, Thomson, Haines, McEwen, & Smart, 2000), reducción del peso al nacer e infertilidad (González-Barrio, 2015), pero el más importante son los abortos durante el último tercio de gestación y los trastornos placentarios que deja seguido de ello, lo que devasta la producción y dificulta que la hembra pueda volver a reproducirse (Rahal et al., 2018; To et al., 1998; Yohannes, 2018). El nivel de mortalidad prenatal del hato y la tasa de abortos es comparativamente más alto en ovejas y cabras que en las vacas y la tasa de abortos puede oscilar entre el 3 al 80% (Anderson et al., 2013a).

En la mayoría de los casos abortivos, el feto parece físicamente normal, no se aprecian lesiones ni signos de infección, pero si es observable un exudado decolorado y engrosamiento fibroso intracotiledonario en una placenta infectada (Angelakis et al., 2011; Krauss, 1989).

La inflamación grave del miometrio es la manifestación clínica frecuentemente observadas en cabras, mientras que en vacas la metritis es la única y patognomónica manifestación (A. Rodolakis et al., 2007).

- Es bien establecido que *C. burnetii* se excreta en leche, ha sido aislada de la glándula mamaria y sus linfonodo de casos mastítico (Agerholm, 2013). Por lo tanto, la presencia de cuadros de mastitis clínica o subclínica debe ser un diferencial muy importante para los veterinarios.

Un caso muy reconocido en la literatura es el que describieron Barlow et al., (2008), quienes identificaron la asociación entre la excreción de *C. burnetii* en leche y la mastitis subclínica crónica en el ganado lechero. En este explican una relación positiva entre el estado de PCR de *C. burnetii* y la puntuación en el recuento lineal de células somáticas, proporcionando evidencia de que puede haber manifestaciones específicas de infección por *C. burnetii* en la glándula mamaria.

Así mismo ese año, otro estudio fue llevado a cabo para describir la microbiota láctea de las glándulas mamarias de vacas lecheras en función del estado de inflamación antes y después del período de seco (resultados del cultivo y el recuento de células somáticas). Se recogieron muestras de leche de todos los cuartos inscritos hasta 150 días en leche y se sometieron a cultivo, así como a extracción de ADN total. Las bacterias más prevalentes incluían aquellas típicas de intestino y piel, pero *C. burnetii* fue mayor para la categoría de cuartos con nueva inflamación (6.8%) que las otras bacterias.

Además, los investigadores hacen hincapié que los animales con la mayor prevalencia de *C. burnetii* no se mostraban signos de mastitis clínica ni abortos, pero si habían tenido antecedentes de cuadros subclínicos a comparación de otras vacas y que actualmente se encontraban en el grupo de cuartos con nueva inflamación tras los resultados de cultivo y conteo de

células somáticas, lo que demostraría significativamente al patógeno como oportunista asintomático (Metzger et al., 2018).

- Otros trastornos asociados: en los animales infectados crónicamente, clínicamente son imperceptibles y se puede observar aislados del rebaño, bajas productivas, problemas mastítico recurrentes y autolimitantes, afecciones osteoarticulares, llevándolos al descarte y haciendo que la identificación del agente sea subreportada (Barlow et al., 2008; Metzger et al., 2018; P. Plummer, 2019; Schukken, Barkema, Lam, & Zadoks, 2007).

Hace pocos años, Agerholm, (2013) sugirió que se deben definir criterios para establecer y confirmar un caso de Coxiellosis en el ganado, ya que las infecciones experimentales han demostrado que los animales pueden desarrollar una condición febril autolimitante en los primeros días después de la exposición, lo que parece explicar que en la literatura clásica afirman como cuadro subclínico o asintomático.

Aunque la inoculación directa de la bacteria a una dosis alta parece poco frente a la exposición espontánea, hace probable que al menos algunos animales se vuelvan febriles. Esto permite pasar desapercibido para el criador o no estar relacionado con la Fiebre Q. Por ello la necesidad de validar a la PCR como método para determinar *C. burnetii* como causa de aborto, y varios estudios han usado este propósito (Agerholm, 2013).

Así, el EFSA propuso la siguiente definición de caso de Fiebre Q en animales (Anastácio et al., 2016; Saegerman, Speybroeck, Dal Pozzo, & Czaplicki, 2015):

- Confirmado: manejado bajo tres criterios (patrón clínico de Fiebre Q, principalmente aborto, muerte fetal o mastitis subclínica; confirmación de la presencia del agente por PCR-positivo, aislamiento, tinción o pruebas de inmunofluorescencia; y serología positiva).
- Probable: manejado bajo dos criterios (patrón clínico de Fiebre Q, principalmente aborto, muerte fetal o mastitis subclínica; y serología positiva).

Esto permite evaluar la exposición a la Fiebre Q con un costo asequible, combinando el reconocimiento clínico de los hatos sospechosos por parte de veterinarios y el ELISA en leche de tanque a granel para confirmar la exposición (Czaplicki, Houtain, Mullender, Manteca, & Saegerman, 2009).

Cabe mencionar que si no existen signos clínicos la EFSA recomienda utilizar la tasa anormal de aborto en el hato como la principal señal de advertencia. Un umbral de aborto del 3% se usa generalmente para clasificar rebaños sanos, pero el aumento de este umbral podrá deberse a problemas infecciosos como no. Por tal razón, el umbral solo se tomará como un indicador no específico y habrá que intervenir con pruebas moleculares para confirmar, así como la asociación de infecciones. Una correlación común es la que se ha definido entre *Neospora caninum* y las infecciones por *C. burnetii* en bovinos (Agerholm, 2013; Echeverría et al., 2019; Garcia-Ispuerto, Tutusaus, & López-Gatius, 2014; González-Barrio, 2015).

Se ha visto que en las hembras, la multiplicación del patógeno es reactivada con la gestación, lo que ocasiona la colonización en la placenta, y que su excreción puede persistir mucho tiempo después del aborto o el parto (cerca de 70 días en ovejas y 110 días en vacas) (Raphaël Guatteo et al., 2006). Pero las hembras abortarían solo una vez y muy esporádicamente en otros partos (Raphaël Guatteo et al., 2006). En cuadro de infección crónica el punto crítico constituye la glándula mamaria y sus respectivos ganglios linfáticos, en donde se puede llegar a encontrar hasta 20 meses tras la infección (Bontje, Backer, Hogerwerf, Roest, & van Roermund, 2016; Gauchard et al., 2004).

2.5. Diagnóstico

No existen signos clínicos específicos de infección por *C. burnetii* en animales, aunque se establezcan pautas clínicas. Por lo tanto, el diagnóstico de laboratorio es la única forma de confirmar la enfermedad. Dado que el patógeno es altamente infeccioso, se requieren laboratorios de nivel 3 de bioseguridad y

personal de laboratorio altamente capacitado para manipular las muestras contaminadas (Yohannes, 2018).

2.5.1. Recolección y almacenamiento de muestras

Para el diagnóstico de laboratorio, si es posible, el hisopado vaginal que sea el mismo día del parto, o por lo menos 8 días después, lo que permitiría limitar los resultados de PCR de falsos negativos (Marrie & Pollak, 1995). Además, se puede tomar leche del tanque, leche individual, calostro (Marrie, Stein, Janigan, & Raoult, 1996), muestra vaginal o fecal para la investigación de la excreción de *C. burnetii* (Courcoul et al., 2010).

Varias muestras humanas y animales son adecuadas para la detección del agente, pero su disponibilidad depende de la presentación clínica. Todas las muestras, excluyendo la sangre completa, deben mantenerse a 4°C y almacenarse a -80°C, además deben enviarse en hielo seco al laboratorio de diagnóstico (Fournier & Marrie, 1998; Melenotte et al., 2018).

2.5.2. Cultivo

El aislamiento de *C. burnetii* se lleva a partir de muestras biológicas fuera de las células HEL² utilizando las técnicas de cultivo de células con vial de cáscara o cultivo en los sacos de yema de huevos embrionados (Eldin et al., 2017). El aislamiento de *C. burnetii*, debido a su presentación intracelular obligada, ha requerido la aplicación de huevos embrionados, animales de laboratorio y, actualmente, líneas celulares (Hogerwerf et al., 2011).

En todo caso, la dificultad diagnóstica y su practicidad limitan mucho su uso para la práctica profesional. Las técnicas de cultivo y aislamiento son consideradas técnicas de referencia para el diagnóstico de infecciones bacterianas (Romero,

² Línea celular de eritroleucemia humana con expresión de globina espontánea e inducida.

2018), pero particularmente para Fiebre Q, se considera la PCR como la prueba Gold Standard.

2.5.3. Tinción

C. burnetii puede ser visualizada microscópicamente tras ser teñida en muestras de tejidos procedentes de muestras contaminadas como placentas u órganos de fetos, como también de secreciones vaginales. Entre las técnicas de tinción más comunes se encuentran: el método Stamp, Giménez, Macchiavello, Köster modificado y Ziehl-Neelsen modificado (Agerholm, 2013; Romero, 2018).

Siendo las tres primeras las que más se utilizan y permiten identificar al patógeno de mejor manera. Microscópicamente, la presencia de grandes masas de cocobacilos de color rojo (***Figura 10***) indicará un fuerte diagnóstico presuntivo de *C. burnetii* (Yohannes, 2018).

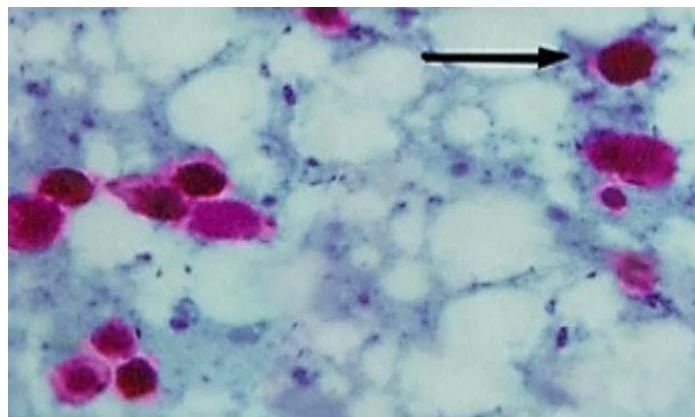


Figura 10. Tinción de Giménez para *C. burnetii*.

La flecha indica las grandes masas de cocobacilos de color rojos a nivel intracelular lo que hace referencia a las SCV de *C. burnetii*. Tomado de Yohannes, 2018.

Entre las limitaciones se encuentran: la necesidad de una elevada carga bacteriana en la muestra para su observación, baja especificidad debido a que se pueden ser sujeta a confusión con otros microorganismos que causan aborto

como son *Chlamydia spp.* y *Brucella spp.*, que microscópicamente se visualizan similar (Raphael Guatteo & Seegers, 2006).

2.5.4. Inmunohistoquímica

Técnicas de inmunohistoquímica como inmunofluorescencia e inmunoperoxidasa, pueden ser empleadas para el diagnóstico de *C. burnetii* en tejidos placentarios y fetos que hayan sido puestos en parafina, frotis de tejidos o hisopos vaginales fijados con acetona (Bildfell et al., 2000; Hazlett et al., 2013; Muskens, Wouda, Von Bannisseht-Wijsmuller, & Van Maanen, 2012).

El principio de esta técnica es mostrar mediante la adición de anticuerpos específicos que se unen a la bacteria seguido del empleo de un anticuerpo secundario marcado con una proteína de fluoresceína en el caso de inmunofluorescencia, o con peroxidasa en el caso de la técnica respectiva (Romero, 2018).

Se ha utilizado para identificar pacientes Fiebre Q positivos con cuadros crónicos de endocarditis, hepatitis y esplenomegalia (Brouqui, Dumler, & Raoult, 1994; Fournier & Marrie, 1998) Actualmente esta técnica ha mejorado y se puede emplear una hibridación en vivo fluorescente (Jensen et al., 2007), especialmente en muestras de placenta en donde se emplean sondas de nucleótidos que hibridan el genoma. La ventaja es que permiten visualizar y estimar la cantidad de bacterias presentes (Hazlett et al., 2013).

Sus limitaciones se encuentran en un costo elevado y su complejidad técnica, además de que es necesario tener una muestra en donde se sabe que la bacteria se encuentra en altas concentraciones como la placenta y los fluidos del parto (R. Van den Brom, van Engelen, Roest, van der Hoek, & Vellema, 2015).

2.5.5. Prueba de Fijación del Complemento (CFT)

La presente técnica se basa en la capacidad del sistema del complemento del sistema inmune del huésped para unirse al complejo antígeno anticuerpo, lo que neutraliza la capacidad del complemento en lisar eritrocitos. Dependiendo del título de anticuerpos se puede definir como una infección activa (tít. 1/80 o mayor) o como infección persistente (tít. Entre 1/10 y 1/40) en suero (Romero, 2018).

La ventaja que presenta es que no requiere anticuerpos específicos de especie, por lo que consideraba a esta técnica esencial para el diagnóstico serológico de Fiebre Q tiempo atrás (Yohannes, 2018).

En cambio, las desventajas se encuentran en la baja sensibilidad y en que no puede detectar etapas tempranas de infección debido a que los anticuerpos que fijan el complemento no aparecen en individuos expuestos en las primeras etapas de la infección, por lo que se requieren muestras de animales en fases convalecientes y agudas para diagnosticar con precisión (Angelakis et al., 2011). Esto hace que, hoy en día, otras técnicas se hayan posicionado por encima de esta (Nathalie Arricau-Bouvery et al., 2006).

2.5.6. Inmunofluorescencia (IFA)

IFA es una prueba especie específica y no se usa con frecuencia para el diagnóstico de infección por *C. burnetii* en animales. Ha sido ampliamente utilizada y sigue siendo un método de uso frecuente para el diagnóstico de infección humana (Lucchese et al., 2015). IFA permite la diferenciación entre la sospecha de infección clínica aguda y crónica en humanos basada en la proporción de anticuerpos de IgG de fase I y fase II (Yohannes, 2018).

Si el título de la fase I es mayor o igual que la fase II, la muestra es indicativa de exposición crónica y si el título de la fase II es mayor que el título de la fase I, la muestra es indicativa de una exposición aguda (Serrano-Pérez et al., 2015).

Lamentablemente, la principal limitación es que todavía no hay kit comercial que use IFA para investigación veterinaria, lo cual hace que su uso sea menos extendido que ELISA.

2.5.7. Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)

Esta técnica es el método de selección preferentemente recomendado por la OIE para el diagnóstico y monitorización en el ganado, constituyendo la técnica más aplicada en la actualidad para este campo (Romero, 2018; R. Van den Brom et al., 2015). Su utilidad permite llevar a cabo estudios de cribado, rápidos y sencillos en campo, así como investigaciones seroepidemiológicas a gran escala (Bauer et al., 2016; Boone et al., 2017; Pérez, 2012; Schimmer, 2018; Taurel et al., 2011).

La mayoría de los test comerciales son desarrollados para detectar IgG (de fase I y fase II), debido a que tienen mayor sensibilidad diagnóstica, pero no existe ningún kit comercial para la detección de IgM por el momento (Canevari et al., 2018). Aunque si se ha utilizado pruebas ELISA para detectar IgM en ciertas investigaciones, las cuales han permitido identificar perfiles serológicos en los que se muestra IgM fase II en ausencia de IgG fase I, lo que es indicativo de infección temprana (H. I. Roest, Post, Van Gelderen, Van Zijderveld, & Rebel, 2013).

Las ventajas que tienen las pruebas ELISA son tanto por su alta sensibilidad y especificidad como por su amplitud diagnóstica y su practicidad (Rizzo et al., 2016), lo que permite tener a la mano una técnica automatizable, que se puede adaptar con un gran número de muestras. Además, presenta una eficiencia en los costos, existe una presencia sólida en el mercado y su interpretación es objetiva; asimismo, puede llevarse a cabo estudios con muestras de leche, que permite ser obtenida sin ningún proceso invasivo y permite realizar una evaluación inicial del nivel de anticuerpos en granjas de producción láctea (Anastácio et al., 2016; R. Van den Brom et al., 2015; van Engelen et al., 2014).

La evidencia de su uso incluso en fauna silvestre es bien documentada, tal es el caso de un estudio que identificó anticuerpos contra *C. burnetii* de fase I y fase II determinados en suero mediante ELISA en un zoológico de Eslovaquia. La prevalencia varió entre un 5% en gamos hasta un 70% en muflones, concluyendo que algunos animales pueden arrojar *C. burnetii* y presentar un riesgo de infección antes del desarrollo de anticuerpos, incluso algunos animales infectados no seroconvierten (Dorko, Rimárová, Pilipčinec, & Trávniček, 2009).

De igual manera, otro estudio conducido para la detección de *C. burnetii* en leche y suero, concluyó que la prueba de ELISA aplicada a leche es una herramienta conveniente para establecer el estado serológico de las vacas lecheras lactantes hacia la infección por *C. burnetii* (R. Guatteo, Beaudeau, Joly, & Seegers, 2007).

Por otro lado, estudios de comparación y apoyo diagnóstico se han desarrollado con PCR, ELISA, IFA, CFT en donde demuestran que luego de la PCR, la serología específica ELISA, y sus variantes como MONA-ELISA (múltiple de actividad normal) (Sting et al., 2013) permiten una estimación posible de la excreción de patógenos incluso antes del parto, así como permite lograr resultados valiosos determinando la fase de infección (Million & Raoult, 2015; P. J. Plummer et al., 2018; Serrano-Pérez et al., 2015; Walraph, Zoche-Golob, Weber, & Freick, 2018).

2.5.8. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Las pruebas detalladas para la detección molecular están enfocadas en la PCR que se refiere en la amplificación de fragmentos de ADN específicos de un patógeno para generar un gran número de copias (Barandika, Alvarez-Alonso, Jado, Hurtado, & García-Pérez, 2019). En los últimos 30 años, el PCR ha sido la técnica más utilizada para la detección del ADN bacteriano, con todas sus variantes (Angelakis et al., 2011).

Las diferentes técnicas de PCR sirven para ser utilizadas en muestras de distinta procedencia, tanto de extracción clínica (placenta, semen, hisopados vaginales,

leche, heces) (Desjardins et al., 2018; García-Seco et al., 2016; Hazlett et al., 2013; Pérez, 2012), de alimentos y sus derivados (Eldin et al., 2013; Galiero et al., 2016), como de muestras ambientales (De Rooij et al., 2016; Desjardins et al., 2018; Duncan et al., 2017).

Sus ventajas se encuentran en que se puede utilizar muestras congeladas como frescas, conservadas o fijadas (Fournier & Marrie, 1998; Romero, 2018); otro tipo de PCR múltiple ha logrado detectar *C. burnetii* y otros patógenos causantes de abortos (Mertens, Gerlach, Neubauer, & Henning, 2017; Metzger et al., 2018).

2.5.9. Diagnóstico Diferencial

En animales, el diagnóstico diferencial incluye diversas enfermedades que causan aborto e infertilidad como neosporosis, leptospirosis, brucelosis, listeriosis y salmonelosis (Changoluisa et al., 2019). Pero también se debe tomar en cuenta los diferenciales para causas de mastitis subclínica en donde las bacterias oportunistas pueden colonizar y confundirse con *C. burnetii* o producir una infección múltiple (Button & Stough, 2002; Epelboin et al., 2016; Metzger et al., 2018; Ordóñez, 2017; P. Plummer, 2019; Woldehiwet, 2004).

2.6. Tratamiento

La sensibilidad de *C. burnetii* al tratamiento antimicrobiano está limitado por su naturaleza intracelular, lo que dificulta que este sea eficaz en animales infectados (R. Van den Brom et al., 2015). En rumiantes domésticos el empleo de la antibioterapia ha sido manejada como un método de control en producciones ganaderas que han sido infectadas por *C. burnetii*. Con esto permiten, por un lado, limitar la tasa de abortos para restringir las pérdidas económicas y, por otra parte, reducir el grado de excreción de la bacteria evitando su dispersión hacia el ambiente y su consecuente contacto con animales susceptibles (Berri, Souriau, Crosby, & Rodolakis, 2002; Romero, 2018).

El uso de las tetraciclinas, especialmente la oxitetraciclina, ha sido registrado frecuentemente en la literatura. El plan terapéutico corresponde a dos aplicaciones de oxitetraciclina a dosis de 20 mg/kg durante el último mes de gestación, generalmente entre los días 100 y 120 (Angelakis et al., 2011; Berri et al., 2002; García-Pérez et al., 2009; Pérez, 2012; A. Rodolakis et al., 2007). La vía de administración recomendada es la intramuscular, debido a que la vía oral tiene una pobre absorción, además que afecta la microbiota del animal (Romero, 2018). De acuerdo con A. Rodolakis et al., (2007) este tratamiento no suprime totalmente los abortos, ni el desprendimiento de *C. burnetii* durante el parto.

En hatos donde se conocen a los animales infectados, la segregación de animales preñados, la quema o entierro de despojos reproductivos (utilizando precauciones zoonóticas) o la administración de tetraciclina a dosis de 8mg/kg/día profilácticamente en el suministro de agua antes del parto puede reducir la propagación del organismo (Angelakis et al., 2011; Ordóñez, 2017).

Cabe mencionar que en hatos donde se maneje este tipo de actividades profilácticas, se debe tener muy presente que el riesgo ocupacional veterinario puede ser mayor, ya que se ha asociado a una mayor seropositividad en el personal veterinario con el tratamiento del ganado, definiéndolo como un factor de riesgo. Por tanto, la decisión de manejar de forma profiláctica un hato sospechoso, debe ser tomada mediante el análisis de todos los aspectos de costo beneficio a profundidad (Whitney et al., 2009).

2.7. Control, Prevención y Salud Pública

El control de Fiebre Q se torna difícil debido a la amplia distribución de hospedadores tanto domésticos como silvestres, Entre las medidas de control de la enfermedad se percibe principalmente la vacunación; en cuanto a la prevención se habla de manejar medidas de higiene y profilaxis. Conforme a esto, el éxito de estos programas se basarán en conocer la proporción de animales infectados, el contacto entre animales infectado-susceptibles, las

características de producción y enfoque de manejo (Ordóñez, 2017; Pérez, 2012).

2.7.1. Vacunación

La vacunación ha logrado ser una medida eficaz en el control de la Fiebre Q, ayudando a prevenir el aborto y reduciendo la excreción de la bacteria a través de la leche, heces, orina y otro tipo de secreciones (Bontje et al., 2016; H. I. Roest et al., 2013; R. Van den Brom et al., 2015).

Tal es su efectividad que, hoy en día, se considera la medida más efectiva para la disminución de la excreción en animales infectados y su vez, disminuye la contaminación ambiental en producciones que han sido diagnosticadas. Así, por ejemplo, un estudio reciente evaluó la eficacia de una vacuna inactivada monovalente que contiene *C. burnetii* de fase I para prevenir el desprendimiento de la bacteria en vacas lecheras susceptibles dentro de hatos infectados en comparación con un placebo, donde concluyeron que en hatos donde la seroprevalencia es baja, es necesario la vacunación obligatoria para que la infección no se extienda (Raphaël Guatteo, Seegers, Joly, & Beaudeau, 2008).

La mayor tasa de efectividad se observa cuando se aplica en rumiantes no infectados antes de su primer parto, cuando todavía son novillas (Hogerwerf et al., 2011; R. Van den Brom et al., 2015). Además de manejar una revacunación anual, en zonas de riesgo, así como a animales de reemplazo y a vacas de gestaciones avanzadas (García-Ispierto et al., 2013; Taurel et al., 2011).

Cuando los animales se han infectado naturalmente, la vacunación no detiene el aborto, a menudo también continúa el desprendimiento, probablemente causado por una infección persistente de la glándula mamaria y el útero (Raphaël Guatteo et al., 2006; A. Rodolakis, 2006).

En producciones lácteas, se ha observado la efectividad de la vacunación, donde se ha reducido la excreción de la bacteria en leche, orina y heces, así como la

disminución de la subfertilidad y la pérdida fetal temprana asociada a infecciones por *C. burnetii* (García-Ispuerto et al., 2013; Serrano-Pérez et al., 2015).

Actualmente, la única vacuna comercial que se emplea en animales domésticos es Coxevac ® producida a partir de la cepa *Nine Mile* de fase I completa inactivada con formalina (Organización Mundial de Sanidad Animal [OIE], 2015; Romero, 2018).

Esta se aplica por vía subcutánea, protegiendo más de tres meses con una nueva dosis a las tres semanas y con una revacunación anual en caprinos y cada nueve meses en ovinos. En humanos, únicamente en Australia se maneja la vacunación en el personal de riesgo Q-Vax ®, demostrando tener una eficacia por encima del 98% (Bond et al., 2016).

2.7.2. Medidas de Higiene y Profilaxis

Se recomienda tomar en cuenta todas las normas de bioseguridad establecidas por el CDC para el manejo en el ámbito de reproductivo de hatos infectados, puesto que se considera a *C. burnetii* como un agente potencial de bioterrorismo (Anderson et al., 2013a). Para minimizar la transmisión hacia el humano, la principal actividad es la pasteurización de la leche o derivados lácteos de los hatos infectados, con ello prevenir la infección oral, ya que se considera la segunda ruta más común descrita en la literatura, después del contacto con los fluidos del parto (Raphaël Guatteo et al., 2006).

Se pueden proponer varias acciones para prevenir y reducir la contaminación ambiental. Las normas de higiene están orientadas a minimizar la excreción; por ejemplo, el manejo de materia fecal y residuos durante el parto.

El estiércol debe ser tratado con cal o cianuro de calcio al 0.4% o cianamida cálcica al 0.6% (N Arricau-Bouvery, Souriau, Moutoussamy, Ladenise, & Rodolakis, 2001; Berri et al., 2002; Pérez, 2012) antes de esparcirse en los campos; esto se debe hacer en ausencia de viento para evitar la propagación

del microorganismo a distancia (A. Rodolakis, 2006). Se puede manejar compostaje, lo que provoca una fermentación que mata a la bacteria a medida que la temperatura aumenta.

Las personas ocupacionalmente expuestas, por ejemplo, veterinarios y granjeros, deben usar ropa y equipo de protección personal, aunque se ha demostrado que no previene completamente las infecciones en humanos (Whelan et al., 2011). Sin embargo, se debe manejar un estricto código de vestimenta en las granjas positivas, lo que sería conveniente llevar ropa desechable como overoles y mascarillas o ropa que no pueda salir de las instalaciones y guantes para manipular cualquier producto (Pérez, 2012; Shakespeare, 2009).

Una de las medidas más drásticas que se ha descrito en los brotes de Fiebre Q humana, es el sacrificio de animales gestantes y de animales infectados, además que se prohíbe la monta e inseminación con lo que se evitan los partos y abortos (Mori & Roest, 2018). Durante la alerta de un brote, se deben aplicar algunas medidas sanitarias para reducir la transmisión hacia la población humana. Algunas de ellas pueden referirse (Anderson et al., 2013a):

- Cambios en las prácticas agrícolas, incluido el manejo del estiércol, la cobertura y el compostaje natural o el arado.
- Desinfección de las instalaciones infectadas, incluyendo caminos y entornos de la producción.
- Manejar un sistema adecuado de biocontención y bioseguridad y, declarar el estatus al organismo competente (Yohannes, 2018).
- Establecer los focos de infección y aislarlos, así como establecer el esquema de dispersión de la enfermedad, por lo que las granjas de hasta 50 km a la redonda, deben ser serológicamente analizadas (Organización Mundial de Sanidad Animal [OIE], 2018).
- De ser necesario, aislar al personal en riesgo para su posterior análisis clínico y serológico, así como proceder a la vacunación obligatoria del resto del personal en riesgo (Mori & Roest, 2018; Sellens et al., 2018).

2.7.3. Zoonosis y Salud Pública

La Fiebre Q, como se conoce, ocurre con mayor frecuencia en personas que tienen contacto profesional con especies de alto riesgo, pero se debe tener en cuenta que no la enfermedad no solo se limita a este grupo como se ha descrito anteriormente (Pexara et al., 2018). Una revisión profunda de los reportes en distintos profesionales es la que muestra Romero, (2018) en su investigación.

La mayoría de los brotes en personas se han asociado con la dispersión del viento de productos del parto desecados, contaminados con *C. burnetii*. Los agricultores y los veterinarios están en riesgo cuando realizan labor obstétrica a ovejas, cabras o vacas; mientras que, los trabajadores de los mataderos están en riesgo al contacto con cadáveres, pelo y lana infectadas (Carrieri et al., 2002; Porten et al., 2006). Por otro lado, la transmisión puede ocurrir por el consumo de leche no pasteurizada; mientras que, el manejo de tejido infectado representa una amenaza para el personal de laboratorio (Harris et al., 2013).

La Fiebre Q se ha reportado en el personal y pacientes humanos en centros médicos donde se utilizaron ovejas con infección latente para la investigación (Carcopino, Raoult, Bretelle, Boubli, & Stein, 2007). Por ello los centros médicos que utilizan rumiantes para la investigación deben intentar adquirir los animales de hatos libres de Coxiellosis o usar machos cuando sea posible. Además de manejar equipos que permitan protegerse de la exposición a aerosoles durante los procedimientos médicos de alto riesgo, por ejemplo, el manejo de equipos para filtrar el aire, reducir la humedad y la temperatura y desinfectar el ambiente periódicamente con luz ultravioleta (P. Plummer, 2019).

La vigilancia de la excreción de *C. burnetii* en los hatos se puede realizar de varias maneras. La investigación obligatoria o voluntaria de fetos abortados, placentas y/o corderos nacidos muertos es una herramienta de diagnóstico adecuada, pero depende de la conciencia y voluntad de los ganaderos de enviar estos materiales para la necropsia (Woldehiwet, 2004).

La investigación voluntaria se recomienda en hatos con seropositividad aunque no hayan presentado abortos espontáneos, ya que no todas las gestaciones en los rumiantes terminan en aborto, por lo que puede darse un parto normal y corresponder a un animal seropositivo que este eliminando la bacteria, lo que se estaría pasando por alto (R. Van den Brom et al., 2015).

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El estudio se realizó en una Hacienda de alta producción lechera ubicada en el km 40 vía Quevedo, en la parroquia Luz de América, en el cantón Santo Domingo, en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, en la región Costa del país sudamericano Ecuador. La Hacienda yace en la parroquia Luz de América al suroeste de la provincia, conectada por la vía panamericana *troncal de la costa* que conecta Santo Domingo con Quevedo.

La Hacienda se encuentra ubicada a 500 msnm a 120 km del mar con latitud 0°32'05"S y longitud 79°22'35"O, con una superficie de 450 ha, en una zona climática tropical y lluviosa, presenta una temperatura promedio de 19°C (26.1°C – 28.5°C) y un volumen de precipitación de 3000 a 4000 mm anuales, variando de 428 mm entre el mes más seco y el más húmedo (INAMHI, 2014; Rivas, 2015). La Hacienda es parte de una empresa que tiene diversas actividades productivas; entre las que son de importancia para el estudio están: La Producción Ganadera y Láctea.

Además, existen acuerdos de confidencialidad con la Universidad de las Américas, por lo que no se puede revelar más información acerca de la Hacienda o de la Empresa en estudio.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

La población estudiada constituyó un total de 1032 bovinos presentes en la Hacienda, siendo todas hembras cruce 3/8 de la raza Sahiwal y Jersey encontrándose en diferentes etapas productivas. Con esta población se partió para realizar el análisis epidemiológico.

3.2.2. Muestra

Las muestras biológicas correspondieron a 1032 muestras de sangre recolectadas para diagnosticar la seroprevalencia a *Coxiella Burnetii*, aplicando ELISA indirecto.

Con la finalidad de juzgar a los datos bajo los mismos criterios y que no existan sesgos en el presente estudio, se estableció que entran al análisis animales con las siguientes características:

- Bovinos que hayan completado su última lactancia y estén secas.
- Bovinos que tengan más de dos lactancias en adelante.

De la población inicial se obtuvo 135 animales para proceder con el análisis de los registros. Además, cada animal posee un chip intraluminal que describe sus parámetros productivos almacenados en una base de datos digital. Así se seleccionó para el estudio los registros productivos de dos lactancias (una previa y la actual terminada) de cada vaca que está en la base de datos de la empresa, por lo que se obtuvieron 270 lactancias.

3.3. Materiales

- De campo:
 - 1 bolsa roja para los desechos biológicos
 - 1100 agujas vacutainer y 10 porta-tubos vacutainer
 - 1100 tubos vacutainer tapa roja
 - 22 gradillas de espuma con capacidad para 50 muestras
 - 2 hieleras Cooler Coleman con capacidad para 600 muestras
 - 1 uniforme completo (overol y botas)
 - 20 cajas de guantes de látex /x100u
 - 1 caja de crayones para marcaje animal /x20u
 - 1 aerosol de alcohol
 - 1 bastón registrador que anexa los datos a una base electrónica

- De laboratorio:
 - 4 Kits ELISA ID Screen® Q Fever Indirect Multi-species
 - 1 mandil o bata de laboratorio
 - 3 cajas de pipetas Pasteur /x500u
 - 3 micropipetas con capacidad de 20, 200 y 1000 µL
 - 5 cajas de puntas para pipetas 20 – 1000µL /x500u
 - 1 centrifugadora
 - 1032 tubos eppendorf para almacenar suero sanguíneo.
 - 1 espectrofotómetro lector de ELISA

- De oficina:
 - De la base de datos pública: ID de los animales, edad, número de lactancia, promedio de producción por lactancia, días en producción, número de mastitis presentes, días abiertos, presencia de abortos, Intervalo entre partos, y número de inseminaciones (Obtenido del Coordinador que almacena las bases de datos de las haciendas de la empresa). Esta información se recolecta en formato Excel.
 - Aplicación Android: *Rueda de producción*, donde la información de la Hacienda se almacena en tiempo real con lo que se tiene conocimiento de la movilización de los animales con el diagnóstico preliminar.
 - Computador *Asus* con sistema operativo Windows 10.
 - Programa Informático: Microsoft Excel.
 - Programa Estadístico: Jamovi, JASP y RStudio.

3.4. Metodología

3.4.1. Muestras biológicas

3.4.1.1. Extracción de muestras biológicas

La toma de muestras biológicas se llevó a cabo en la Hacienda en la provincia de Santo Domingo. El procedimiento se basó en la “*Guía para la correcta toma*”

de sangre en bovinos de la Universidad Nacional de Colombia” (Zambrano & Díaz, 2016).

- a) Se rotuló el tubo vacutainer de acuerdo con el bovino muestreado.
- b) Se colocó guantes de látex.
- c) Se alistó la aguja vacutainer conectada al porta-tubos.
- d) Se levantó la cola del bovino hasta posicionarla casi vertical, y se sujetó el tercio medio de la misma.
- e) Se limpió la zona con papel de cualquier residuo fecal.
- f) Se localizó mediante palpación la vena coccígea en la línea media, a nivel del espacio intervertebral coccígeo.
- g) Se empató el tubo en el porta-tubos armado sin perforar todavía.
- h) Se insertó la aguja en el espacio intervertebral perpendicular a la cola.
- i) Se perforó el tapón de goma del tubo con el otro extremo de la aguja vacutainer.
- j) Se mantuvo estable la inyección, hasta consumir todo el vacío y retirar el tubo.
- k) Se desechó la aguja en el guardián y el material contaminado en la bolsa roja.
- l) Se colocó el tubo en la gradilla de espuma.

3.4.1.2. Procesamiento, transporte y almacenamiento de muestras biológicas

El procesamiento de las muestras correspondió desde su transporte de la Hacienda hasta el laboratorio “*Centro Internacional de Zoonosis (CIZ)*” ubicado en el 3er piso de la Residencia Universitaria de la Universidad Central del Ecuador, Quito-Ecuador. En dicho lugar se procesaron y analizaron las muestras.

- a) Luego de terminada la jornada de extracción de sangre cada día, se almacenaron las gradillas de espuma en el Cooler Coleman para mantener la cadena de frío.

- b) Al completar todas las muestras de sangre extraídas se llevó el Cooler en transporte terrestre hacia el laboratorio CIZ.
- c) En el laboratorio CIZ, se centrifugaron los tubos para la obtención de suero.
- d) Se rotularon los tubos eppendorf con la misma identificación de los tubos vacutainer.
- e) Se extrajo el suero sanguíneo con las pipetas pasteur de los tubos vacutainer y se colocó en los tubos eppendorf. Aprox. 2 ml.
- f) Se almacenaron los sueros sanguíneos a -20°C, listos para procesar con ELISA.

3.4.1.3. Análisis e interpretación de la técnica ELISA

El análisis de los sueros sanguíneos se basó en la aplicación del Kit ELISA ID Screen ® Q Fever Indirect Multi-species (Innovative diagnostic kits [IDVET Corp.], 2019).

Este kit tiene como principio detectar anticuerpos contra antígenos de fase I y fase II, dirigidos contra *Coxiella Burnetii* en suero, plasma o leche. Acorde a la información provista por el fabricante, esta prueba ELISA tiene 100% de sensibilidad (IC_{95%}: 89.28% - 100%) y 100% de especificidad (IC_{95%}: 97.75% - 100%)(Echeverría et al., 2019).

El mismo procedimiento se repitió para las 12 placas ELISA (cada placa contiene 96 pocillos); cabe mencionar que dentro de cada kit se presentaban los materiales que se detallan en el procedimiento, además se utilizaron las micropipetas con sus respectivas puntas para llevar a cabo el ELISA.

- a) Las muestras de suero fueron ensayadas a la dilución final 1:50 como sigue:
 - a. En una placa pre-dilución, añadir:
 - i. 5 µl de Control Positivo a los pocillos E12 y F12
 - ii. 5 µl de Control Negativo a los pocillos G12 y H12

- iii. 5 µl de cada muestra a analizar en los pocillos restantes.
- iv. 245 µl de Diluyente 2 a cada pocillo
- b. En la Placa Elisa, añadir:
 - i. 100 µl de Control Positivo pre-diluido a los pocillos E12 y F12
 - ii. 100 µl de Control Negativo pre-diluido a los pocillos E12 y F12
 - iii. 100 µl de las muestras pre-diluidas a los pocillos restantes
- b) Se cubrió la placa y se incubó a 45 min ± 4 min a 21°C (± 5°C).
- 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.
- d) Se preparó el Conjugado 1X diluyendo el Conjugado Concentrado 10X al 1:10 en el Diluyente 3.
- e) Se añadió 100 µl de Conjugado 1X a cada pocillo.
- f) Se cubrió la placa y se incubó a 30 min ± 3 min a 21°C (± 5°C).
- g) 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.
- h) Se añadió 100 µl de la Solución de revelación a cada pocillo.
- i) Se cubrió la placa y se incubó a 15 min ± 2 min a 21°C (± 5°C) en la oscuridad.
- j) Se añadió 100 µl de Solución de parada a cada pocillo, en el mismo orden que en el literal h) para detener la reacción.

Para la interpretación de las muestras procesadas se utilizó el espectrofotómetro lector de ELISA (ver Anexos).

- a) Se procedió a abrir el programa para el análisis de datos ID Soft™ en un ordenador para el cálculo de los diferentes parámetros del kit.
- b) La lectura de las placas se realizó a la densidad óptica de 450 nm.
- c) Para la validación:

- a. La densidad óptica media del Control Positivo (DO_{CP}) es superior a 0.350.
 - b. El cociente del promedio de las densidades ópticas de los Controles Positivo y Negativo (DO_{CP} y DO_{CN}) es superior a 3.
- d) Para la interpretación:
- a. Para cada muestra, se calculó el porcentaje S/P (S/P%):

$$\frac{S}{P}\% = \frac{DO_{muestras} - DO_{cn}}{DO_{cp} - DO_{cn}} \times 100$$

- b. Para la interpretación de las muestras de suero o plasma:

SUERO O PLASMA	
RESULTADO	ESTATUS
S/P % < 40	NEGATIVO
S/P % ≥ 40	POSITIVO

3.4.2. Obtención de datos de los registros productivos

Se realizó un estudio retrospectivo del periodo 2018-2019, donde se recabó información de la base de datos pública que proporcionó la empresa. La recolección de datos estuvo enfocada en la información accesible por lactancia de vacas presentes en la Hacienda.

La información tomada fue: edad, número de lactancia, promedio de producción por lactancia anterior y actual terminada, duración de las lactancias anterior y actual terminada, número de veces que presentó mastitis en la última lactancia, presencia de abortos en la última lactancia, días abiertos para la última lactancia, intervalo entre partos, y número de inseminaciones para la última lactancia.

3.4.3. Variables

En el estudio se emplearon las siguientes variables en la base de Datos (**Tabla 1**).

Tabla 1. Operacionalización de las variables

Variables	Tipo de variable	Definición	Indicadores	Unidad de medida	Ítem	Instrumento
Diagnóstico	Cualitativa Independiente	Vacas diagnosticadas serológicamente a <i>C. burnetii</i>	Serodiagnóstico	Positivo - Negativo	+ / -	ELISA ID Screen® Q Fever Indirect Multi-species
Número de Lactancia	Cuantitativa Independiente	Número de lactancia en la que se encuentra actualmente	Lactancia	Número de Lactancia	Lts	Base de Datos Empresa
Edad	Cuantitativa Independiente	Edad biológica en años que tienen las vacas	Edad	Años	Años	Base de Datos Empresa
Mastitis	Cualitativa Independiente	Presentación de mastitis clínica o subclínica durante la última lactancia	Mastitis	Presencia - Ausencia	S/N	Base de Datos Empresa
Duración de la lactancia	Cuantitativa Dependiente	Días desde el parto hasta el secado	Duración de la lactancia	Días en leche	Días	Base de Datos Empresa
Producción de Leche	Cuantitativa Dependiente	Litros de leche producidos en la lactancia anterior y última	Producción láctea	Número de litros	Lts	Base de Datos Empresa
Abortos	Cuantitativa Independiente	Presentación de abortos durante la última lactancia	Abortos	Presencia - Ausencia	S/N	Base de Datos Empresa
Días abiertos	Cuantitativa Dependiente	Días desde el parto hasta que se tiene preñez	Días abiertos	Días abiertos	Días	Base de Datos Empresa
Intervalo entre partos	Cuantitativa Dependiente	Días que pasan entre un parto y el siguiente	Partos	Días entre partos	Días	Base de Datos Empresa
Inseminación	Cualitativa Dependiente	Número de veces inseminada hasta confirmación de preñez	Inseminación	Número de inseminaciones	Ins.	Base de Datos Empresa

3.4.4. Diseño Experimental

El presente estudio se basó en determinar cuál es el impacto que ocasiona *Coxiella burnetii* en la producción láctea en base a la comparación de parámetros productivos obtenidos de vacas seropositivas y seronegativas. Este estudio consta de varias partes:

En primer lugar, se realizó el diagnóstico serológico (ELISA indirecto) de los bovinos de la Hacienda frente a *Coxiella burnetii* por medio de la toma, procesamiento y análisis de las muestras. En segundo lugar, de la base de datos pública de la empresa se obtuvieron los parámetros productivos correspondientes a las lactancias (previa y actual terminada) de las vacas, con ello se estandarizaron los datos y se definieron las variables. En tercer lugar, se desarrollaron los análisis estadísticos con diferentes enfoques: se desarrolló estudio observacional transversal mediante la aplicación del chi cuadrado, para determinar si existe relación entre el diagnóstico serológico y el número de lactancia, y el diagnóstico con la edad; también se realizó regresión lineal con la finalidad de entender si la producción de la última lactancia está influenciada por el diagnóstico a Fiebre Q; de igual manera, se aplicó regresión logística para determinar si la edad, presencia de abortos y mastitis, influyen la producción de la última lactancia, la duración de la lactancia, los días abiertos, el intervalo entre partos y el número de inseminaciones, tomando al diagnóstico a Fiebre Q como un cofactor.

Por otro lado, se ejecutó un estudio observacional longitudinal aplicando Repeated Measure ANOVA con la finalidad de conocer la diferencia entre la producción de la lactancia del año 2018 y 2019 de los mismos animales. Además, se aplicó Z-Test de datos relacionados, con el objetivo de identificar diferencias en la producción láctea de las vacas seropositivas del año 2018 y 2019, de igual manera se aplicó para las vacas seronegativas.

Por último, se llevó a cabo un estudio retrospectivo de caso y control, en la cual se seleccionó una muestra aleatoria de 64 individuos, distribuidos por cada

lactancia para el grupo caso (vacas seropositivas) y control (vacas seronegativas), y se aplicó el análisis de One Way ANOVA y T-Test de datos no relacionados para conocer la relación que existe entre las producciones de ambos grupos de la última lactancia.

3.5. Análisis estadístico

3.5.1. Estadística descriptiva

El análisis estadístico descriptivo se basó en el protocolo implementado por Ordóñez, (2017), ya que se al haber sido realizado en Ecuador se ajusta perfectamente a las condiciones del país, pudiéndose replicar.

Para el desarrollo de la estadística descriptiva se procederá a la valoración de los parámetros de tendencia central y parámetros de dispersión, así se realizará el cálculo de: media, mediana, moda, desviación estándar, percentiles siendo detalladas en gráficos y diagramas.

3.5.2. Estadística analítica

Una vez estandarizados los datos y definidas las variables, se tabularon en Excel para luego ser transformados en archivos compatibles con los programas RStudio, JASP y JAMOVI. Para ello, las variables dependientes son: producción de leche, duración de la lactancia, días abiertos, intervalo entre partos y número de inseminaciones.

Las variables independientes son: diagnóstico, edad, número de lactancia, presencia de mastitis y abortos. Además, se utilizó un nivel de confianza del 95% y se calcularon intervalos de confianza acordes con los resultados obtenidos.

Por último, las pruebas de hipótesis que se establecieron para cada prueba estadístico se describen a continuación:

3.5.2.1. Chi Cuadrado

La aplicación de Chi cuadrado permitió resolver las siguientes hipótesis estadísticas: “Existe relación alguna entre el diagnóstico serológico a *Coxiella burnetii* y el número de lactancia” y “Existe relación alguna entre el diagnóstico serológico a *Coxiella burnetii* y la edad de las vacas”. Las hipótesis que se toman para este estudio son:

Ho: No existen diferencias significativas entre las variables.

Hi: Si existen diferencias significativas entre las variables.

3.5.2.2. Regresión Lineal

La aplicación de Regresión lineal permitió resolver la siguiente hipótesis estadística: “Qué influencia tiene el diagnóstico serológico a *C. burnetii* en la producción de la última lactancia”.

Ho: No existe influencia del diagnóstico en la producción de la última lactancia.

Hi: Si existe influencia del diagnóstico en la producción de la última lactancia.

3.5.2.3. Regresión Logística

La aplicación de Regresión logística permitió resolver las siguientes hipótesis estadísticas: “Qué influencia tiene la presencia de abortos y mastitis sobre la producción de la última lactancia, los días abiertos, el intervalo entre partos y el número de inseminaciones, tomando en cuenta al diagnóstico como un cofactor”.

Ho: No existe influencia alguna de las variables.

Hi: Si existe influencia alguna de las variables.

3.5.2.4. Repeated Measure ANOVA

La aplicación de Repeated Measure ANOVA permitió resolver la siguiente hipótesis estadística: “Qué relación existe entre las producciones lácteas de 2018 y 2019 de los animales con diagnóstico serológico a *Coxiella burnetii*”. Las hipótesis que se toman para este estudio son:

Ho: No existen diferencias significativas entre la producción de 2018 y 2019.

Hi: Si existen diferencias significativas entre la producción de 2018 y 2019.

3.5.2.5. Z-test de datos relacionados

La aplicación de T-test de datos relacionados permitió resolver la siguiente hipótesis estadística: “Existen diferencias entre la producción láctea de 2018 frente a la producción láctea de 2019 de los seropositivos” y “Existen diferencias entre la producción láctea de 2018 frente a la producción láctea de 2019 de los seronegativos”. Las hipótesis que se toman para este estudio son:

Ho: No existen diferencias significativas entre la producción de 2018 y 2019.

Hi: Si existen diferencias significativas entre la producción de 2018 y 2019.

3.5.2.6. Estudio de Caso y Control

El presente análisis, es una adaptación del estudio caso y control para variables cuantitativas, por lo tanto, se evaluó retrospectivamente la producción láctea de dos grupos: individuos seropositivos (grupo caso) e individuos seronegativos (grupo control) que presentan características similares.

Por tanto, se agruparon individuos clasificados por su número de lactancia (segunda a séptima), donde se extrajo una muestra aleatoria (***Tabla 2***).

Cada grupo contemplaba un número de animales caso y un número de animales control para la realización de la prueba de One-Way ANOVA con la siguiente hipótesis estadística: “Qué relación existe entre las producciones lácteas del año 2019 de los animales seropositivos y seronegativos de todas las lactancias”, mientras que para el T-Test de datos no relacionados la hipótesis estadística es: “Qué relación existe entre las producciones lácteas del año 2019 de los animales seropositivos y seronegativos para cada una de las lactancias”.. Las hipótesis que se toman para estos estudios son:

Ho: No existen diferencias significativas entre las producciones de seropositivos y seronegativos de cada lactancia.

Hi: Si existen diferencias significativas entre las producciones de seropositivos y seronegativos de cada lactancia.

Tabla 2. Número de muestras para el estudio Caso-Control por lactancia

Número de Lactancia	Número de Muestra
2	12 (6 grupo caso – 6 grupo control)
3	20 (10 grupo caso – 10 grupo control)
4	8 (4 grupo caso – 4 grupo control)
5	12 (6 grupo caso – 6 grupo control)
6	6 (3 grupo caso – 3 grupo control)
7	6 (3 grupo caso – 3 grupo control)
TOTAL	64 muestras (32 grupo caso – 32 grupo control)

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Diagnóstico

El diagnóstico serológico se realizó a la población total mediante la aplicación de ELISA indirecto. Los resultados obtenidos fueron: de 1032 animales presentes en la Hacienda, 494 individuos presentaron seropositividad (47,87%) y 538 individuos presentaron seronegatividad (52,13%). Los resultados del diagnóstico se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. *Resultados del Diagnóstico serológico a Coxiella burnetii*

Diagnóstico	Animales	Prevalencia	Intervalos de Confianza
Positivos	494	47,87 %	0.4787 [0.4482 – 0.5091] ^{95% IC}
Negativos	538	52,13 %	0.5213 [0.4908 – 0.5517] ^{95% IC}
Total	1032	100%	-

4.1.2. Estadística descriptiva

En primer lugar, se muestra una breve descripción de la estadística descriptiva de la población inicial, referente a los 1032 animales (494 animales seropositivos y 538 animales seronegativos) diagnosticados a Fiebre Q³ (***Tabla 4 & 5***).

Luego de los resultados iniciales, se aborda a profundidad la estadística descriptiva de la población objetivo, que fue de 135 animales, correspondientes a 66 animales seropositivos y 69 animales seronegativos a Fiebre Q. Los resultados se muestran en detalle a continuación (***Tabla 6, 7, 8 & 9***) (***Figuras 11, 12, 13, 14 & 15***).

³ Para mayor practicidad estadística se reemplazó a los animales seronegativos con 0, y a los animales seropositivos con 1.

Tabla 4. *Tabla de frecuencias con respecto a la etapa productiva*

Frecuencias para Etapa Productiva			
FQ	ETProd	Frecuencia	Porcentaje
0	VacaOrdeño	431	80.11
	VacaSeca	107	19.88
	TOTAL	538	100.00
1	VacaOrdeño	396	80.16
	VacaSeca	98	19.83
	TOTAL	494	100.00

El 80% de las vacas en estudio se encontraban en ordeño, mientras que el 20% pertenecían a las vacas secas, las cuales fueron objetivo para el análisis estadístico.

Alrededor del 40% de las vacas en ordeño son seropositivas a Fiebre Q, mientras que cerca del 10% de las vacas secas son seropositivas, lo que muestra que la mayor parte de animales seropositivos a Fiebre Q se encontraban en producción.

Tabla 5. *Tabla de frecuencias con respecto a la etapa reproductiva*

Frecuencias para Etapa Reproductiva			
FQ	ETRpro	Frecuencia	Porcentaje
0	Fresca ¹	48	8.92
	Insemin	107	19.88
	Noinsem ²	42	7.80
	Preñada	219	40.70
	Seca	88	16.35
	Vacía	34	6.32
	TOTAL	538	100.00
1	Fresca ¹	33	6.68
	Insemin	92	18.62
	Noinsem ²	41	8.30
	Preñada	203	41.09
	Seca	78	15.78
	Vacía	47	9.51
	TOTAL	494	100.00

Nota. ¹Fresca: vaca recién parida

²Noinsem: vaca que van al descarte y ya no se inseminan

Las vacas recién paridas corresponden al 7.8% del total de la población, de las cuales el 3.19% fueron seropositivas a Fiebre Q.

Las vacas preñadas representan el 40.9%, de las cuales el 19.67% fueron seropositivas a Fiebre Q.

Las vacas que se han inseminado se muestran con el 19.3%, de las cuales el 8.91% fueron seropositivas a Fiebre Q.

Las vacas secas y vacías representan el 23.9%, de las cuales el 12.1% fueron seropositivas a Fiebre Q.

Las vacas destinadas al descarte corresponden al 8.1%, de las cuales el 3.97% fueron seropositivas a Fiebre Q.

Esto puede sugerir que Fiebre Q no tiene predilección por ninguna etapa reproductiva en especial, ya en cada una de ellas llega a representar cerca del 50% de la categoría. Sin embargo, en vacas preñadas y secas se encuentra alrededor del 30%, lo que hace suponer una mayor susceptibilidad a Fiebre Q en estas categorías.

Tabla 6. *Tabla de frecuencias con respecto a las lactancias*

LACT	Frecuencia para Lactancia		Total
	FQ		
	0	1	
2	9	13	22
3	20	20	40
4	7	11	18
5	9	9	18
6	12	4	16
7	6	6	12
8	4	0	4
10	1	2	3
11	1	1	2
Total	69	66	135

El 60% de la población se encuentra agrupada entre la segunda, tercera y cuarta lactancia. De esta población, el 32.6% de vacas fueron seropositivas a Fiebre Q. Esto sugiere que la mayoría de las vacas se encuentran en las lactancias más importantes para expresar su potencial genético y deberían contar con buenos índices de producción. Sin embargo, la situación es diferente como se muestra en el análisis estadístico de caso-control, por lo que no se descarta la posibilidad de que Fiebre Q tenga un efecto sobre la producción en las distintas lactancias.

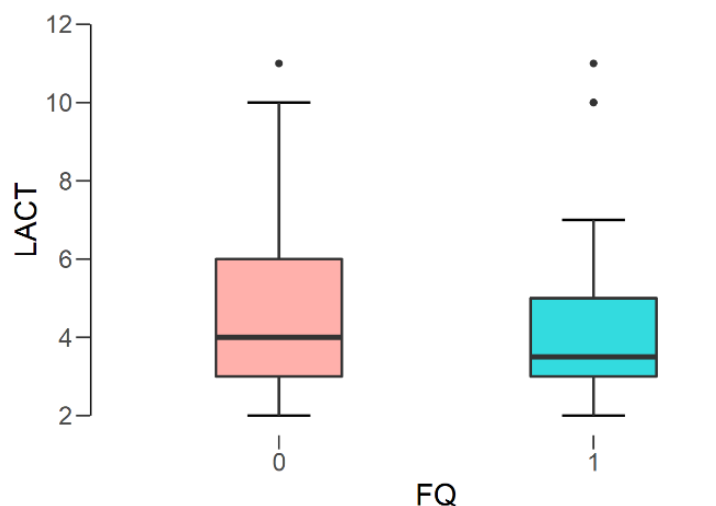


Figura 11. Caja de bigotes que describe la dispersión de los datos por lactancia.

La mayoría de los datos, como se observa en la caja de bigotes, se encuentran entre las lactancias más importantes para expresar su potencial productivo y genético (segunda, tercera y cuarta lactancia).

En este sentido, se puede apreciar de mejor manera el posible efecto que tiene *Coxiella burnetii* en la producción de las primeras lactancias limitando la expresión de todo el potencial productivo y muy probablemente se verán perjudicadas las lactancias siguientes al quedar latente en su fase crónica ocasionando pérdidas imperceptibles y provocando efectos secundarios en la producción como en problemas de mastitis subclínica y/o abortos, lo que llevaría al descarte. Se reitera que cerca del 50% de los descartes, son seropositivos a Fiebre Q.

Tabla 7. *Tabla de frecuencias con respecto a la presencia de mastitis*

Frecuencia para la presencia de mastitis			
FQ	MAST¹	Frecuencia	Porcentaje
0	0	45	65.21
	1	24	34.78
	Total	69	100.00
1	0	40	60.60
	1	26	39.39
	Total	66	100.00

Nota. ¹MAST: Presencia de Mastitis: 0= ausencia / 1=presencia

El 37% de la población ha presentado mastitis en la última lactancia (período 2019). El 19.3% de las vacas que han presentado mastitis fueron seropositivas a Fiebre Q. Esto sugiere que la producción lechera puede verse afectada por la presencia de Fiebre Q, provocando pérdidas en producción total e inversión económica para control y tratamiento.

Tabla 8. *Tabla de frecuencias con respecto a la presencia de abortos*

Frecuencia para la presencia de abortos			
FQ	ABORT¹	Frecuencia	Porcentaje
0	0	63	91.30
	1	6	8.69
	Total	69	100.00
1	0	61	92.42
	1	5	7.57
	Total	66	100.00

Nota. ¹ABORT: Presencia de Abortos: 0= ausencia / 1=presencia

De acuerdo con la base de datos, la empresa tiene una tasa de abortos del 3% anual (población bovina total de la empresa, n=18000). En el presente ható se registró el 8.14% de abortos en el periodo 2018-2019, de los cuales el 3.7% fueron vacas seropositivas a Fiebre Q.

En este sentido, no se descarta la posibilidad de haber problemas reproductivos relacionados con la presencia de Fiebre Q que afecten la reproducción del ható y que, además, eso pueda llevar al descarte sin previo diagnóstico.

Tabla 9. *Estadística descriptiva respecto a la producción láctea 2018-2019*

FQ ^b	LTOTP ^c		DELP ^d		LTOTA ^e		DELA ^f		DABI ^g	
	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1
Valor	69	66	69	66	69	66	69	66	69	66
Media	2320.43	2207.1	299	298.1	2247.5	2081.2	260.3	252.8	224.6	203.1
Mediana	1990	2085	293	301	2160	1575	275	214.5	201	143
Desv. Estándar	1711.01	1359.5	133.9	91.58	1415.6	1456.9	111.2	135.7	136	145.1
Mínimo	80	150	97	113	320	110	33	32	43	3
Máximo	10290	6620	912	526	5500	5720	516	590	580	555

Nota. ^a Existe más de una moda

^bFQ: diagnóstico a Fiebre Q: 0= seronegativos / 1= seropositivos

^cLTOTP: producción total de la lactancia de 2018 (lactancia previa)

^dDELP: duración de la lactancia previa

^eLTOTA: producción total de la lactancia de 2019 (última lactancia)

^fDEL: duración de la última lactancia

^gDABI: días abiertos del último periodo

En el año 2018, la media de producción total de los animales seropositivos fue de 2207.1 Lts de leche, mientras que para el año 2019, la media de producción total fue de 2081.2 Lts de leche. La reducción de la producción en el periodo 2018-2019 en los animales seropositivos fue de aproximadamente 125.9 Lts., que representa el 5.7%.

En el año 2018, la media de producción total de los animales seronegativos fue de 2320.43 Lts de leche, mientras que para el año 2019, la media de producción total fue de 2247.5 Lts de leche. La reducción de la producción en el periodo 2018-2019 en los animales seronegativos fue de 72.93 Lts., que representa el 3.14%.

Respecto a la duración de la lactancia en los animales seropositivos, para el año 2018 tuvo una duración de 298 días, mientras que para el año 2019, tuvo una duración de 252 días. Habiendo una reducción de la lactancia en el periodo 2018-2019 de 46 días, que representa el 15.43%.

Respecto a la duración de la lactancia en los animales seronegativos, para el año 2018 tuvo una duración de 299 días, mientras que para el año 2019, tuvo una

duración de 260 días. Habiendo una reducción de la lactancia en el periodo 2018-2019 de 39 días, que representa el 13%.

Esto demuestra que en el periodo 2018-2019, la reducción de la producción de los animales seropositivos tiene una mayor variación (5.7%) en comparación con la reducción de la producción de los animales seronegativos (3.14%). En este sentido, no se descarta la posibilidad de que Fiebre Q tenga un efecto negativo sobre la producción láctea a través del tiempo, debido a que se podría estar presentando en forma crónica la enfermedad, esto se ve aclarado con los resultados de la regresión logística y el Z-test de datos relacionados, así como el estudio de caso-control en sus respectivas secciones.

Por otra parte, la duración de la lactancia en el periodo 2018-2019, la reducción de la duración de la lactancia de los animales seropositivos tiene una mayor variación (15.43%) en comparación con la reducción de la duración de la lactancia de los animales seronegativos (13%). Por tanto, no se descarta la probabilidad de que Fiebre Q tenga un efecto negativo sobre la duración de la lactancia a través del tiempo, ya que podría estar ocasionando inconvenientes que lleven a un secado más rápido y reducir el tiempo de lactancia.

Respecto a los días abiertos, los resultados muestran que en los animales seronegativos existe un mayor número de días ($d=224$) a diferencia de los días abiertos en los seropositivos ($d=203$). Esto puede deberse a diversos factores de manejo (detección de celo, número de inseminaciones). En este sentido, la probabilidad de que Fiebre Q se relacione con esta variable es baja.

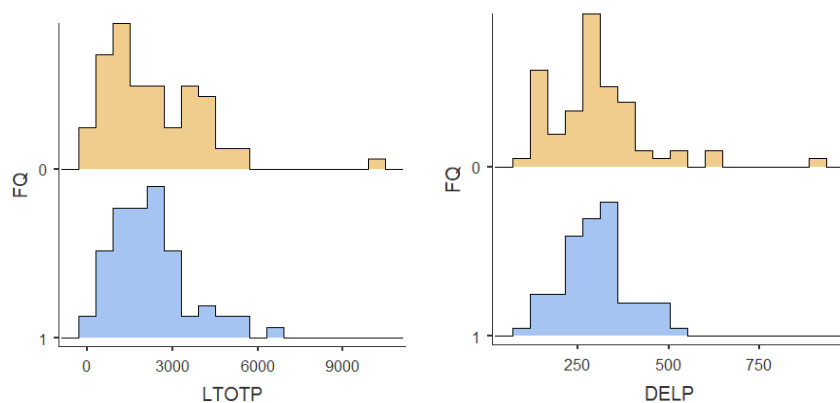


Figura 12. Histograma de los datos de la producción láctea de 2018 (lactancia previa).

En la figura 12, se observa a la izquierda la producción total en litros y a la derecha se observa el tiempo de duración de la lactancia previa en días; donde el color amarillo corresponde al grupo de seronegativos y el azul al grupo de seropositivos.

Esto demuestra que siguen una distribución normal. Además, existen ciertos individuos que se encuentran dispersos en el grupo de seronegativos; sin embargo, se encuentran bajo el límite permisible de dos desviaciones estándar (**Tabla 9**). Es importante mencionar que la producción del año 2018 de los animales seropositivos a Fiebre Q se observa más prominente, así como la duración de la lactancia se observa más sostenida y regular.

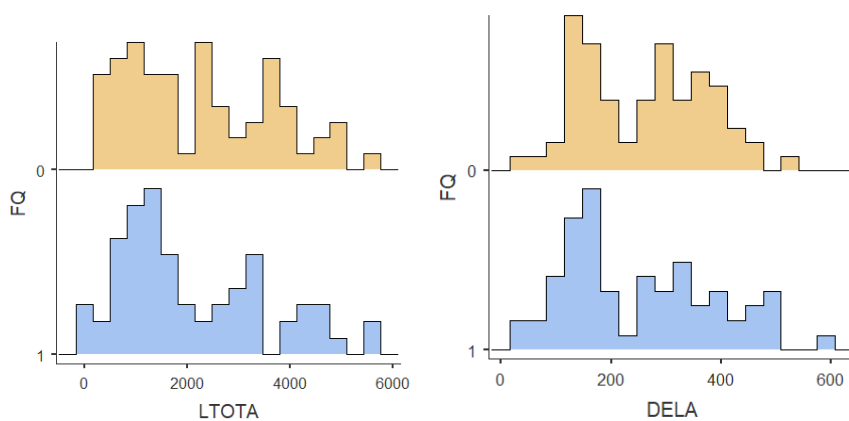


Figura 13. Histograma de los datos de la producción láctea de 2019 (última lactancia).

En la figura 13, se observa a la izquierda la producción total en litros y a la derecha se observa el tiempo de duración de la última lactancia en días. Es importante comparar esta figura con la anterior, puesto que existe mayor uniformidad, lo que demuestra que siguen una distribución normal. Además, la producción del año 2019 de los animales seropositivos a Fiebre Q se observa menos prominente que la del año 2018 y la duración de la lactancia se ve más estrecha y dispersa. Lo que puede suponer un efecto de la enfermedad a través del tiempo.

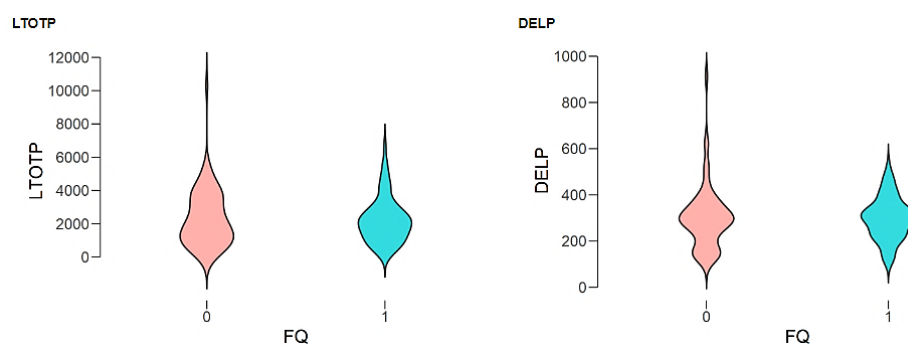


Figura 14. Distribución en violín de los datos de la producción láctea de 2018 (lactancia previa).

En la figura 14, se observa a la izquierda la dispersión de la producción total de la lactancia y a la derecha se observa la dispersión de la duración de dicha lactancia. En esta figura, se hace más visible la dispersión de los datos en los animales seronegativos con respecto a los seropositivos, lo que sugiere que Fiebre Q puede llevar un efecto negativo tanto en la producción láctea como en la duración de la lactancia.

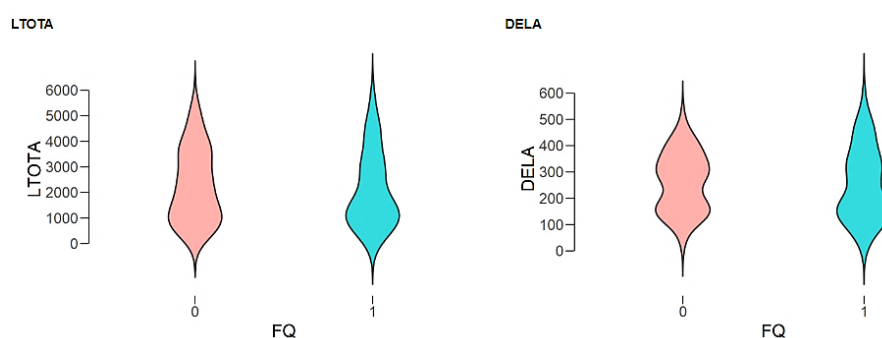


Figura 15. Distribución en violín de los datos de la producción láctea de 2019 (última lactancia).

En la figura 15, se observa a la izquierda la dispersión de la producción total de la lactancia y a la derecha se observa la dispersión de la duración de dicha lactancia. Aquí, se hace más evidente la reducción de los parámetros productivos de la última lactancia, especialmente en los animales seropositivos (5.7% en producción láctea y 15.43% en la duración de la lactancia), lo que permite sugerir un efecto negativo de Fiebre Q sobre dichos parámetros productivos.

4.1.3. Estadística analítica

4.1.3.1. Chi cuadrado

De acuerdo con la hipótesis estadística “Existe relación alguna entre el diagnóstico serológico a *Coxiella burnetii* y el número de lactancia” se obtuvo el siguiente resultado:

Tabla 10. Prueba de Chi-cuadrado (Diagnóstico VS Número de Lactancia)

Chi.sq test			.
	Value	df	p
X ²	9.888	8	0.273
N	135		

Por lo tanto, se toma como válida la hipótesis nula, ya que el *p value* = >0.05.

De esta manera, se descarta que el serodiagnóstico a Fiebre Q tenga algún efecto sobre el número de lactancia de la población en estudio.

De acuerdo con la hipótesis estadística “Existe relación alguna entre el diagnóstico serológico a *Coxiella burnetii* y la edad de las vacas” se tiene los siguientes resultados:

Tabla 11. Prueba de Chi-cuadrado (Diagnóstico VS Edad)

Chi.sq test			.
	Value	df	p
X ²	22.354	10	0.013
N	135		

Si existen diferencias significativas, por lo tanto, se toma como válida la hipótesis alternativa, ya que el $p\text{ value} = <0.05$.

En este sentido, se afirma que Fiebre Q puede llevar un efecto negativo sobre la producción láctea dependiendo la edad que tengan las vacas.

4.1.3.2. Regresión Lineal

La hipótesis estadística fue: “Qué influencia tiene el diagnóstico serológico a *C. burnetii* en la producción de la última lactancia”. El resultado fue el siguiente:

Tabla 12. *Regresión Lineal (Diagnóstico VS Producción de la última lactancia)*

Regresión Lineal						
Model		Unstandardized	Standard Error	Standardized	t	p
1	(Intercept)	2247.536	172.875		13.001	< .001
	FQ	-166.324	247.245	-0.058	-0.673	0.502

No existe influencia del diagnóstico en la producción láctea de la última lactancia, por lo cual se toma la hipótesis nula como verdadera, ya que el $p\text{ value} = >0.05$.

Así, se descarta la posibilidad de que Fiebre Q tenga un efecto directo sobre la producción láctea de la última lactancia.

4.1.3.3. Regresión Logística

La primera prueba con regresión logística fue: “Existe influencia de la presencia de abortos y mastitis sobre la producción de la última lactancia, tomando en cuenta al diagnóstico a Fiebre Q como un cofactor”. El resultado de este análisis fue:

Tabla 13. *Regresión Logística (Mastitis-Abortos VS Producción Láctea, cf. Diagnóstico)*

Model Coefficients – MAST

Predictor	Estimate	SE	Z	p
Intercept	-0.234	0.376	-0.622	0.534
FQ:				
1 – 0	0.170	0.360	0.472	0.637
LTOTA	-1.80e-4	1.30e-4	-1.386	0.166

Note. Estimates represent the log odds of "MAST = 1" vs. "MAST = 0"

5. Model Coefficients – ABORT

Predictor	Estimate	SE	Z	P
Intercept	-3.284	0.741	-4.434	< .001
FQ:				
1 – 0	-0.104	0.640	-0.162	0.871
LTOTA	3.65e-4	2.10e-4	1.737	0.082

Note. Estimates represent the log odds of "ABORT = 1" vs. "ABORT = 0"

En ambos casos, tanto presencia de abortos como de mastitis, se toma como verdadera la hipótesis nula, ya que el p value = >0.05 . Por tanto, no existen diferencias significativas.

Por lo tanto, no existe asociación alguna entre la presencia de abortos o mastitis sobre la producción láctea de la última lactancia, siendo tomado en cuenta al diagnóstico como un cofactor.

La siguiente hipótesis fue: "Existe influencia de la presencia de abortos y mastitis sobre la duración de la lactancia, tomando en cuenta al diagnóstico a Fiebre Q como un cofactor". El resultado fue:

Tabla 14. *Regresión Logística (Mastitis-Abortos VS Duración Lactancia, cf. Diagnóstico)*

Model Coefficients – ABORT

Predictor	Estimate	SE	Z	P
Intercept	-3.43173	0.87911	-3.904	< .001
FQ:				
1 – 0	-0.16453	0.63882	-0.258	0.797
DELA	0.00386	0.00257	1.505	0.132

Note. Estimates represent the log odds of "ABORT = 1" vs. "ABORT = 0"

Model Coefficients – MAST

Predictor	Estimate	SE	Z	P
Intercept	0.08907	0.45666	0.195	0.845
FQ:				
1 – 0	0.17468	0.36193	0.483	0.629
DELA	-0.00281	0.00151	-1.857	0.063

Note. Estimates represent the log odds of "MAST = 1" vs. "MAST = 0"

En ambos casos, no existen diferencias significativas, por lo que se toma como verdadera la hipótesis nula, entendiéndose que el $p\text{ value} = >0.05$.

Por lo tanto, se descarta la asociación entre la duración de la lactancia y presencia de abortos o mastitis, siendo considerado al diagnóstico como un factor influyente.

La siguiente hipótesis fue: "Existe influencia de la presencia de abortos y mastitis sobre los días abiertos, tomando en cuenta al diagnóstico a Fiebre Q como un cofactor". El resultado se muestra a continuación:

Tabla 15. *Regresión Logística (Mastitis-Abortos VS Días Abiertos, cf. Diagnóstico)*

Model Coefficients – ABORT

Predictor	Estimate	SE	Z	P
Intercept	-2.89973	0.69406	-4.178	< .001
FQ:				
1 – 0	-0.10959	0.63512	-0.173	0.863
DABI	0.00226	0.00210	1.080	0.280

Note. Estimates represent the log odds of "ABORT = 1" vs. "ABORT = 0"

Model Coefficients – MAST

Predictor	Estimate	SE	Z	P
Intercept	-0.15960	0.38381	-0.416	0.678
FQ:				
1 – 0	0.15319	0.36139	0.424	0.672
DABI	-0.00215	0.00135	-1.586	0.113

Note. Estimates represent the log odds of "MAST = 1" vs. "MAST = 0"

En ambos casos, tanto para la presencia de abortos como de mastitis, se acoge a la hipótesis nula como válida, ya que el p value = >0.05 . En este sentido, no existen diferencias significativas.

De esta manera, queda descartada la influencia de la presencia de abortos o mastitis sobre los días abiertos, tomando en cuenta al diagnóstico como un cofactor.

Otra hipótesis fue: "Existe influencia de la presencia de abortos y mastitis sobre el intervalo entre partos, tomando en cuenta al diagnóstico a Fiebre Q como un cofactor". El resultado fue el siguiente:

Tabla 16. *Regresión Logística (Mastitis-Abortos VS Intervalo entre Partos, cf. Diagnóstico)*

Model Coefficients – ABORT				
Predictor	Estimate	SE	Z	p
Intercept	-1.978	1.27427	-1.553	0.121
FQ:				
1 – 0	-0.173	0.63604	-0.273	0.785
IEPAR	-7.97e-4	0.00260	-0.307	0.759

Note. Estimates represent the log odds of "ABORT = 1" vs. "ABORT = 0"

Model Coefficients – MAST				
Predictor	Estimate	SE	Z	p
Intercept	-0.160	0.71917	-0.223	0.823
FQ:				
1 – 0	0.169	0.35970	0.469	0.639
IEPAR	-9.94e-4	0.00144	-0.691	0.490

Note. Estimates represent the log odds of "MAST = 1" vs. "MAST = 0"

En ambos casos, tanto en la presencia de abortos como de mastitis no existen diferencias significativas, así la hipótesis nula se adopta como válida debido al p value = >0.05 .

De acuerdo con este resultado, la presencia de abortos o mastitis no tiene efecto sobre el intervalo entre partos, siendo tomado en cuenta como cofactor al diagnóstico.

La siguiente hipótesis fue: "Existe influencia de la presencia de abortos y mastitis sobre el número de inseminaciones, tomando en cuenta al diagnóstico a Fiebre Q como un cofactor". El resultado obtenido fue el siguiente:

Tabla 17. *Regresión Logística (Mastitis-Abortos VS Inseminaciones, cf. Diagnóstico)*

Model Coefficients – ABORT

Predictor	Estimate	SE	Z	p
Intercept	-2.1683	0.578	-3.748	< .001
FQ:				
1 – 0	-0.1390	0.633	-0.220	0.826
VINS	-0.0698	0.156	-0.448	0.654

Note. Estimates represent the log odds of "ABORT = 1" vs. "ABORT = 0"

Model Coefficients – MAST

Predictor	Estimate	SE	Z	p
Intercept	-0.64448	0.3369	-1.9129	0.056
FQ:				
1 – 0	0.19685	0.3571	0.5512	0.581
VINS	0.00575	0.0807	0.0713	0.943

Note. Estimates represent the log odds of "MAST = 1" vs. "MAST = 0"

En ambos casos, se acoge como verdadera a la hipótesis nula porque el *p value* = >0.05 . Por ello, no existen diferencias significativas.

Para este caso, la presencia de abortos o mastitis no tiene impacto sobre el número de inseminaciones, habiéndose tomado en cuenta al diagnóstico como un factor influyente.

Debido al resultado del análisis de Chi-cuadrado obteniendo diferencias significativas, se realizó regresión logística para aclarar la siguiente hipótesis "Qué influencia tiene la edad sobre la producción láctea, tomando en cuenta como el diagnóstico a Fiebre Q como un cofactor". Los resultados mostraron lo siguiente:

Tabla 18. *Regresión Logística (Edad VS Producción Láctea, cf. Diagnóstico)*

Regresión Logística – EDAD					
EDAD	Predictor	Estimate	SE	Z	p
5 - 4	Intercept	-1.55207	0.21613	-7.181	< .001
	FQ:				
	1 – 0	2.92507	0.23942	12.217	< .001
	LTOTA	3.26e-4	2.60e-4	1.253	0.210
6 - 4	Intercept	-0.41341	0.43621	-0.948	0.343
	FQ:				
	1 – 0	1.51686	0.38634	3.926	< .001
	LTOTA	4.80e-4	2.35e-4	2.044	0.041
7 - 4	Intercept	0.07422	0.42799	0.173	0.862
	FQ:				
	1 – 0	0.70479	0.40739	1.730	0.084
	LTOTA	3.98e-4	2.41e-4	1.651	0.099
8 - 4	Intercept	0.26489	0.41838	0.633	0.527
	FQ:				
	1 – 0	0.43008	0.41212	1.044	0.297
	LTOTA	3.82e-4	2.41e-4	1.588	0.112
9 - 4	Intercept	0.25262	0.42184	0.599	0.549
	FQ:				
	1 – 0	1.05715	0.40634	2.602	0.009
	LTOTA	1.22e-4	2.63e-4	0.462	0.644
10 - 4	Intercept	-0.90273	0.35102	-2.572	0.010
	FQ:				
	1 – 0	-0.07067	0.34195	-0.207	0.836
	LTOTA	6.61e-4	2.40e-4	2.756	0.006
11 - 4	Intercept	-0.07399	0.34805	-0.213	0.832
	FQ:				
	1 – 0	0.41318	0.30841	1.340	0.180
	LTOTA	4.28e-5	3.12e-4	0.137	0.891
12 - 4	Intercept	-17.45116	0.03094	-564.087	< .001
	FQ:				
	1 – 0	16.75452	0.03094	541.569	< .001
	LTOTA	3.85e-4	3.36e-4	1.145	0.252
13 - 4	Intercept	0.98721	0.02925	33.750	< .001
	FQ:				
	1 – 0	-0.34789	0.03081	-11.293	< .001
	LTOTA	-0.00130	5.60e-4	-2.315	0.021
15 - 4	Intercept	-2.58492	0.00529	-488.347	< .001

Regresión Logística – EDAD

EDAD	Predictor	Estimate	SE	Z	p
	FQ:				
	1 – 0	-12.49127	4.60e-8	-2.71e-8	<.001
	LTOTA	7.21e-4	2.86e-4	2.520	0.012

Si hay diferencias significativas con respecto a las edades, donde se muestra el p value = <0.05.

En base a este resultado, se muestra que sí existe un impacto de la edad en la producción, dependiendo de la seropositividad. Viéndose diferencias significativas en las edades: 6, 10, 13 y 15 años. Por lo tanto, mientras mayor es la edad del animal, mayor es la probabilidad de ser seropositivo y de tener una mayor probabilidad de efectos negativos sobre la producción láctea.

En este sentido queda demostrado que la edad es un factor en el que influye Fiebre Q directamente; sin embargo, la asociación con el número de lactancia y la producción láctea se define en el estudio de caso-control.

5.1.1.1. Repeated Measure ANOVA

La hipótesis estadística para el análisis Repeated Measure ANOVA fue “Qué relación existe entre las producciones lácteas de 2018 y 2019 de los animales con diagnóstico serológico a *Coxiella burnetii*”. El resultado fue el siguiente:

Tabla 19. *Repeated Measure ANOVA (Producción Láctea 2018 de seropos. y seroneg. VS Producción Láctea 2019 de seropos. y seroneg.)*

Within Subjects Effects					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
RM Factor 1	666646.202	1	666646.202	0.454	0.501
RM Factor 1 * FQ	47397.313	1	47397.313	0.032	0.858
Residual	1.952e +8	133	1.467e +6		

Note. Type III Sum of Squares

Between Subjects Effects					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p

Within Subjects Effects

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
FQ	1.319e +6	1	1.319e +6	0.440	0.508
Residual	3.983e +8	133	2.995e +6		

Note. Type III Sum of Squares

En cuanto al resultado, no existen diferencias significativas entre la producción de 2018 y 2019 de la población en estudio, porque el $p\ value = >0.05$. Sin embargo, la utilización de One Way ANOVA en el estudio de caso-control refleja resultados contundente, que en este análisis pasa desapercibido.

5.1.1.2. Z-test de datos relacionados

La primera hipótesis estadística resuelta con la utilización del Z-test de datos relacionados fue: “Existen diferencias entre la producción láctea de 2018 frente a la producción láctea de 2019 de los animales seropositivos”. El resultado muestra:

Tabla 20. *Z-test de datos relacionados (Producción Láctea 2018 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seropositivos)*

Z-Test de datos relacionados

	T	df	P
LTOTPpos - LTOTApr	11.678	206	< .001

En base al resultado, se toma como verdadera a la hipótesis alternativa, debido a que el $p\ value = <0.05$. Por lo tanto, si existen diferencias significativas entre la producción láctea de 2018 y 2019 de los animales seropositivos.

Esto muestra que se puede estar presentando la forma crónica de Fiebre Q, donde la principal característica es el impacto en la producción láctea a través del tiempo y por medio de la recopilación de una base de datos extensa y detallada, por lo que, para el presente caso puede estar pasando imperceptible en un único periodo como se vio anteriormente.

La siguiente hipótesis estadística fue: “Existen diferencias entre la producción láctea de 2018 frente a la producción láctea de 2019 de los animales seronegativos”. El resultado que se obtuvo fue:

Tabla 21. *Z-test de datos relacionados (Producción Láctea 2018 seronegativos VS Producción Láctea 2019 seronegativos)*

Z-test de datos relacionados					
		t	df	p	
LTOTPneg	-	LTOTAneg	0.326	68	0.745

Se adopta como válida a la hipótesis nula, en sentido de que el $p\text{ value} = >0.05$. Así se define que no existen diferencias significativas.

Los animales seronegativos a Fiebre Q no tienen diferencias en el análisis de su producción láctea en estos periodos a diferencia de los seropositivos, por lo que afirma que en los animales seropositivos se puede tener un leve impacto en la producción láctea.

5.1.1.3. Estudio de Caso y Control

Se recuerda, que para el estudio de caso-control se seleccionó un grupo aleatorio de animales seropositivos (grupo caso) y animales seronegativos (grupo control) siendo clasificados por su número de lactancia (**Tabla 2**). Con ello poder reiterar los análisis estadísticos One Way ANOVA y T-test de datos no relacionados con ello, aclarar si la producción por número de lactancia depende o no del diagnóstico a Fiebre Q.

La hipótesis estadística de One-Way ANOVA despejada fue: “Qué relación existe entre las producciones lácteas del año 2019 de los animales seropositivos y seronegativos de todas las lactancias” y para el T-test la hipótesis fue: “Qué relación existe entre las producciones lácteas del año 2019 de los animales seropositivos y seronegativos para cada una de las lactancias”. El resultado luego de la ejecución de One Way ANOVA fue:

Tabla 22. *One Way ANOVA del Estudio Caso-Control (Producción Láctea 2019 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seronegativos de todas las lactancias)*

One-Way ANOVA				
	F	df1	df2	P
LTOTA	136	1	45.4	< .001

El Resultado del One Way ANOVA refleja que la hipótesis alternativa es acogida como verdadera, es decir que si existen diferencias significativas debido a que el $p\text{ value} = <0.05$.

Esto muestra que Fiebre Q tiene un efecto sobre la producción láctea, y que varía de acorde a cada lactancia. A pesar de no haber tenido el mismo resultado con la población inicial para el estudio ($n=135$), queda demostrado que Fiebre Q puede pasar imperceptible cuando se hace el estudio en un solo periodo.

El resultado del análisis de T-Test de datos no relacionados fue:

Tabla 23. *T-test de datos no relacionados del Estudio Caso-Control (Producción Láctea 2019 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seronegativos para la segunda lactancia)*

T-test de datos no relacionados				
		Statistic	df	P
LTOTA	Student's t	4.53	10.0	0.001

Tabla 24. *T-test de datos no relacionados del Estudio Caso-Control (Producción Láctea 2019 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seronegativos para la tercera lactancia)*

T-test de datos no relacionados				
		Statistic	df	p
LTOTA	Student's t	7.13	18.0	< .001

Tabla 25. *T-test de datos no relacionados del Estudio Caso-Control (Producción Láctea 2019 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seronegativos para la cuarta lactancia)*

T-test de datos no relacionados				
		statistic	df	P
LTOTA	Student's t	9.23	6.00	< .001

Tabla 26. *T-test de datos no relacionados del Estudio Caso-Control (Producción Láctea 2019 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seronegativos para la quinta lactancia)*

T-test de datos no relacionados				
		statistic	df	P
LTOTA	Student's t	5.67	10.0	< .001

Tabla 27. *T-test de datos no relacionados del Estudio Caso-Control (Producción Láctea 2019 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seronegativos para la sexta lactancia)*

T-test de datos no relacionados				
		statistic	df	P
LTOTA	Student's t	3.19	4.00	0.033

Tabla 28. *T-test de datos no relacionados del Estudio Caso-Control (Producción Láctea 2019 seropositivos VS Producción Láctea 2019 seronegativos para la séptima lactancia)*

T-test de datos no relacionados				
		statistic	df	P
LTOTA	Student's t	4.31	4.00	0.013

El análisis de cada lactancia muestra que sí existen diferencias significativas, esto se corrobora ya que el p value = <0.05; demostrando así el impacto que tiene Fiebre Q sobre la producción láctea en promedio se encuentra en 5.7%.

5.2. Discusión

5.2.1. Frecuencia de Presentación de Fiebre Q

El diagnóstico serológico a Fiebre Q de la presente granja lechera correspondió al 47.87% (IC_{95%}: 44,82% - 50.91%), teniendo una población de 1032 bovinos en estudio. En base a este resultado, existen estudios previos que describen prevalencia de Fiebre Q con un análisis previo de abortos o historial de abortos. Por ejemplo, en Brasil, De Oliveira et al., (2018) describieron una seroprevalencia de 55.1% en una granja lechera donde se habían presentado abortos. Similares resultados en Venezuela, donde Oropeza, Dickson, Maldonado, & Kowalski, (2010) informan de una prevalencia del 60.63% en un hato con un historial elevado de abortos. En Colombia, se ha descrito una prevalencia en bovinos del 61.6% en el valle de Antioquia (Eraso-Cadena et al., 2018), basándose en un análisis regional de presentación esporádica de abortos. Otro estudio similar se realizó en Ecuador, debido a la presencia de un brote de abortos en la empresa a la que pertenece la granja en estudio, donde Changoluisa et al., (2019) determinaron que Fiebre Q había sido asociado como agente causal secundario, y que el agente primario causante del brote fue Neospora, lo que demuestra la habilidad de oportunismo de *C. burnetii* y que la enfermedad puede pasar desapercibida.

A pesar de que los estudios mencionados se realizaron a partir de la presencia de abortos, en la presente investigación, la presencia de abortos se tomó como una variable con la finalidad de poder asociar con otros parámetros productivos.

Sin embargo, al no haberse realizado el diagnóstico respectivo y únicamente haber recopilado información de una base de datos, se sugiere que la presentación de abortos directamente ocasionados por Fiebre Q puede estar subreportada o bien presentar una fase crónica que permanece latente y que se reactiva con la preñez y de esta manera haber obtenido una prevalencia elevada en el presente estudio (De Biase et al., 2018; Sting et al., 2013; R. Van den Brom et al., 2015).

La prevalencia de Fiebre Q en Ecuador va desde 8% al 100% a nivel de rebaños bovinos, habiendo una prevalencia nacional del 14.5% (Ordóñez, 2017); este resultado estuvo asociado a factores como: nivel de producción, manejo del ordeño, higiene y bioseguridad, condiciones climáticas, entre otros. Asimismo, otro estudio realizado por Carbonero et al., (2015), reportan una prevalencia de Fiebre Q por hato del 46.9%, estos asocian la presentación de la enfermedad a factores como: materiales y alimentación de terneros con leche comercial, higiene y desinfección del cordón umbilical. En ambas investigaciones, las condiciones de estudio son diferentes a las del presente estudio; a pesar de ello, son importantes para describir que diversos factores pueden influenciar la presencia de Fiebre Q en el Ecuador.

La granja en estudio pertenece a una empresa de producción lechera, donde se han llevado dos estudios previos de la prevalencia de Fiebre Q. El primer estudio lo realizaron Changoluisa et al., (2019) con lo mencionado de la presentación de abortos. El segundo fue llevado a cabo por Echeverría et al., (2019) quienes reportaron una prevalencia del 42.9%, esto demuestra fuertemente la presencia de Fiebre Q en la empresa. De acuerdo con Gonzáles-Barrio, (2015) & Romero, (2018), la elevada prevalencia de Fiebre Q en las grandes industrias lecheras, puede deberse al nivel de producción intensiva con ello un alto nivel de estrés y hacinamiento, lo que ocasiona una inmunosupresión en los animales y lleguen a infectarse. Además, la comercialización de piensos, pieles y subproductos contaminados (Karagiannis et al., 2009; René Van Den Brom et al., 2015; Zubair et al., 2016), el ingreso de nuevos animales (Eldin et al., 2014; Yohannes, 2018), el ordeño automatizado (Schimmer, 2018; van Engelen et al., 2014)

La empresa y el hato en estudio manejan condiciones similares a las que se describen anteriormente para la presentación de Fiebre Q, lo que pone en manifiesto la importancia de un adecuado manejo productivo y un correcto control de estas características para minimizar la presentación de casos, que si bien es cierto pueden llegar a ser inespecíficos o subclínicos, afectan a la producción láctea y que pueden repercutir en la economía de la empresa.

5.2.2. Estadística descriptiva

En base a los resultados de la estadística descriptiva de la población en estudio (n=135), se considera una aparente relación entre la presencia de Fiebre Q con ciertas variables, siendo detallado a continuación:

El 32.6% de las vacas seropositivas a Fiebre Q, estaban entre la segunda y la cuarta lactancia, esto sugiere que puede haber un efecto sobre la producción de estas lactancias. Sin embargo, Eldin et al., (2017) describen que los efectos en las primeras etapas de vida productiva por Fiebre Q son poco visibles, y si se presentan, lo más probable es que sean cuadros subclínicos e inespecíficos. Además, describe que la magnitud de estos efectos es observable a mediano y principalmente a largo plazo. Igualmente, esto se ve fundamentado en lo que mencionan Walraph et al., (2018), quienes afirman que se logra identificar un título de anticuerpos *C. burnetii* de fase II más alto en las primeras etapas de vida productiva, pero rápidamente ese nivel decrece con el tiempo, pero la bacteria se torna resistente y es ahí donde acarrea todos los problemas productivos y reproductivos.

Respecto a la presentación de mastitis, el 19.3% de las vacas seropositivas presentaron mastitis (sin especificar si es clínica o subclínica), pero como es de conocimiento general, la mastitis puede deberse a varios factores tanto infecciosos como de manejo. A pesar de ello, no es ajeno descartar la posibilidad de que *C. burnetii* sea el agente causal de mastitis ya que en ciertos estudios afirman la asociación de Fiebre Q con mastitis subclínica y con la microflora natural de la glándula mamaria (Barlow et al., 2008; Metzger et al., 2018).

La empresa maneja una tasa de abortos anual del 3%. Dentro del presente hato, se registró el 8.14%, que se considera parte de la tasa anual de la empresa. De estos resultados, el 3.7% corresponden a vacas seropositivas a Fiebre Q para el periodo 2018-2019.

En este sentido, Abushahba, Abdelbaset, Rawy, & Ahmed, (2017) hablan de que las pérdidas reproductivas por Fiebre Q, respecto a los abortos, no son observables directamente en un solo periodo y que deben tener seguimiento durante toda la vida reproductiva y de ser posible, estudiada en la progenie. Además, como se observó en el estudio de Changoluisa et al., (2019), Fiebre Q puede ser considerada un agente secundario y puede estar asociado a infecciones cruzadas por otros agentes patógenos como fue el caso de Neospora, lo que hace más complejo el diagnóstico, pero con un adecuado manejo serológico y molecular se puede llegar a determinar y con ello establecer medidas de control. Por lo tanto, diversos autores informan que si bien es cierto, la presencia de los brotes de abortos puede deberse a diversos factores infecciosos o no, como la presencia de Fiebre Q, primero se debe manejar un plan diagnóstico adecuado para descartar otras enfermedades reproductivas como DVB, IBR, entre otras (Abushahba et al., 2017; Changoluisa et al., 2019; De Biase et al., 2018; R. Guatteo et al., 2012; Muleme et al., 2017; P. J. Plummer et al., 2018).

La producción láctea de los animales seropositivos en el periodo 2018-2019, se reduce en un 5.7%, lo que muestra que la producción láctea se ve influenciada por el diagnóstico a través del tiempo; esto lo corroboran varias investigaciones, que muestran una reducción en la producción láctea por efecto de la seropositividad a Fiebre Q y su repercusión a nivel económico (Betancur et al., 2015; R. Guatteo et al., 2012; Muleme et al., 2017). Por ejemplo, un estudio desarrollado en una empresa láctea caprina informa que la producción láctea anual se ve afectada por *C. burnetii* hasta un 8.1%, esto en producciones intensivas que manejan estacionalidad de partos (Van Asseldonk et al., 2013). Recientemente, Torgerson et al., (2018) lograron identificar las pérdidas en la producción láctea por brote de Fiebre Q, teniendo una repercusión económica de 85 millones de euros y llegando a reducir hasta un 20% en la producción láctea y en fertilidad.

Respecto a la duración de la lactancia, en el periodo 2018-2019 existe una reducción del 15.43% en los animales seropositivos, lo que no descarta la

probabilidad de que Fiebre Q tenga un efecto sobre la duración de la lactancia. Así, una investigación reciente, afirma que Fiebre Q puede llegar a ocasionar brotes infecciosos de abortos que afecten la producción láctea, lo que lleve a reducir la duración de la misma tras el parto, y que eso merme la producción (Muleme et al., 2017). Con respecto al número de inseminaciones no hubo una relación positiva con la presencia de Fiebre Q.

A pesar de lo que informan diversos autores, de las investigaciones recientes y del análisis de la estadística descriptiva para el presente estudio, los resultados de la estadística analítica muestran una leve asociación de las variables y el diagnóstico serológico a Fiebre Q.

5.2.3. Estadística analítica

5.2.3.1. Relación entre el Diagnóstico y el Número de Lactancia

Los resultados luego de utilizar Chi-cuadrado reflejan que el diagnóstico a Fiebre Q y el número de lactancia no tuvieron relación alguna para el presente estudio. La comprensión detrás de esto se debe a que *C. burnetii* puede presentarse en cualquier momento de la vida tras haber infectado a un animal, lo cual no afirma tener predilección por una lactancia en particular.

5.2.3.2. Relación entre el Diagnóstico y la Edad

Los resultados de la aplicación del Chi-cuadrado muestran que, el diagnóstico a Fiebre Q y la edad si arrojaron diferencias significativas. Posteriormente, se corroboraron estos resultados con la aplicación de la regresión logística, mostrando que si existe influencia de la edad en la producción láctea tomando en cuenta al diagnóstico a Fiebre Q como un cofactor; estas diferencias significativas se observaron en las edades: 6, 10, 13 y 15 años.

La interpretación del resultado es que, mientras mayor edad presenta el animal más riesgo tiene de ser seropositivo a Fiebre Q. Este resultado coincide con los mencionados en otros estudios (Alvarez et al., 2012; Böttcher et al., 2011; Mazeri

et al., 2012; Ordóñez, 2017; Paul, Agger, Agerholm, & Markussen, 2014). El principio de esto es que, mientras más envejece mayor es la exposición y la susceptibilidad inmunológica a *C. burnetii* como lo mencionan los distintos autores. Además, tendrá la capacidad de provocar infecciones recurrentes durante toda la vida, presentándose cuando el animal esta inmunodeprimido (Carbonero et al., 2015).

5.2.3.3. Influencia del Diagnóstico sobre la Producción Láctea 2019

El resultado del análisis de regresión lineal reflejó que no hay influencia del diagnóstico sobre la producción láctea de la última lactancia (año 2019). Esto se debe a que, la seropositividad no necesariamente se va a relacionar con la producción de una lactancia en específico como se evaluó. El motivo, es porque no se conoce cuándo se infectó el animal, con ello no se conoce la etapa de infección que está cursando, ya que pudiese estar cursando una infección crónica subclínica.

Diversos autores han descubierto que la seropositividad no dependerá exclusivamente de la última producción, incluso del último parto, ya que la enfermedad permanecerá latente y se reactivará cuando exista inmunosupresión en el animal, pero generalmente es autolimitante (Canevari et al., 2018; Eldin et al., 2017; García-Seco, Pérez-sancho, García, & Miguel, 2011; R. Guatteo et al., 2007, 2012; Raphael Guatteo & Seegers, 2006). Debido a esto, es que la enfermedad es difícil de diagnosticar en una producción, de manera que el seguimiento y los métodos profilácticos serán necesarias luego de la valoración de la situación epidemiológica de la región.

5.2.3.4. Relación de la Presencia de Mastitis sobre la Producción Láctea 2019, tomando en cuenta al Diagnóstico como un cofactor

Los resultados del análisis de regresión logística muestran que no hay influencia de mastitis sobre la producción láctea de la última lactancia. Dicha situación es similar a lo que ocurrió con el resultado del análisis anterior, ya que es bien

documentado que *C. burnetii* ocasiona mastitis subclínica (Barlow et al., 2008; Annie Rodolakis, 2009), pero un estudio reciente afirma que se ha aislado la bacteria de la microbiota normal de la glándula mamaria (Metzger et al., 2018), demostrando que no siempre ocasionará cuadros clínicos, y que, en la presente investigación, los cuadros de mastitis que se dan, pueden estar asociados a otros factores, mas no con la presencia de *C. burnetii*; entre ellos, estrés y condiciones de alto hacinamiento, el manejo de pezoneras automáticas así como la facilidad de sufrir golpes y traumatismos como lo asocian González-Barrio, (2015) & Romero, (2018) a la producción intensiva.

5.2.3.5. Relación de la Presencia de Abortos sobre la Producción Láctea 2019, tomando en cuenta al Diagnóstico como un cofactor

Los resultados del análisis de regresión logística mostraron que no existe influencia de la presencia de abortos sobre la producción de la última lactancia. En este sentido, los animales que abortaron, muy esporádicamente vuelven a abortar en otro parto, a pesar de ello permanecen con problemas en el tracto reproductivo que son recurrentes pero imperceptibles para definir un cuadro infeccioso sintomático, generalmente son cuadros subclínicos, lo que provocan que el animal disminuya sus parámetros productivos y reproductivos cuando la enfermedad avanza en su estado crónico (Raphaël Guatteo et al., 2006; Muleme et al., 2017; Vaidya et al., 2010). Debido a esto, se describe la causa más probable de que los resultados de la última lactancia no hayan tenido diferencias significativas.

5.2.3.6. Relación entre las Producciones Lácteas de 2018 y 2019

El resultado del análisis de Repeated Measure ANOVA mostró que no hubo diferencias entre la producción láctea de 2018 frente a la producción de 2019 de los animales seropositivos y seronegativos (n=135). Esto puede deberse a diversos factores, entre ellos, el manejo de los parámetros como duración de la lactancia y días abiertos, que pueden ocasionar que no se muestren diferencias aparentemente (Muleme et al., 2017). No se descarta la posibilidad de que el

diagnóstico tenga alguna relación en un estudio longitudinal como lo muestra el estudio de caso-control.

5.2.3.7. Relación entre las Producciones Lácteas de 2018 y 2019 de los animales seropositivos

El resultado obtenido al aplicar el análisis de Z-test de datos relacionados reflejó la existencia de diferencias significativas entre las producciones de 2018 y 2019 de los animales seropositivos. La reducción en la producción láctea corresponde hasta un 5.7%, lo que muestra que Fiebre Q si representa un efecto leve en la producción láctea de esta granja. Esto corrobora la afirmación de Carbonero et al., (2015), quienes enfatizan en que mientras más envejece el animal, se encuentra más en riesgo de ser seropositivo a *C. burnetii* presentar fallas productivas.

5.2.3.8. Relación entre las Producciones Lácteas de 2018 y 2019 de los animales seronegativos

Por el contrario, el resultado obtenido al aplicar el análisis de Z-test de datos relacionados reflejó que no existen diferencias significativas entre las producciones de 2018 y 2019 de los animales seronegativos De manera que, hace más presumible el hecho de que la seropositividad a *C. burnetii* puede influenciar en la producción láctea en los animales seropositivos, haciendo necesario la realización de más estudios de caso-control.

5.2.3.9. Estudio de Caso y Control

Se recuerda, que para el estudio de caso-control se seleccionó un grupo aleatorio de animales seropositivos (grupo caso) y animales seronegativos (grupo control) siendo clasificados por su número de lactancia (***Tabla 2***). Con ello poder reiterar los análisis estadísticos One Way ANOVA y T-test de datos no relacionados con ello, aclarar si la producción por número de lactancia depende o no del diagnóstico a Fiebre Q.

5.2.3.10. Relación entre el Diagnóstico y las Producciones Lácteas de 2019 de grupo caso (seropositivos) y grupo control (seronegativos)

El resultado del One Way ANOVA muestra que existen diferencias significativas en la producción de la última lactancia del grupo caso (n=32) y control (n=32); es decir, la producción láctea puede estar estrechamente influenciada por el diagnóstico a Fiebre Q. Esto permite afirmar lo que diversas investigaciones han descubierto acerca de que la seropositividad no dependerá exclusivamente de la última lactancia y eso provocará que Fiebre Q pase desapercibida en estudios con toda la población, permaneciendo latente y siendo reactivada cuando existe inmunosupresión (Bae et al., 2019; Canevari et al., 2018; P. J. Plummer et al., 2018). Por lo que, en el presente estudio, se justifica el haber llevado a cabo un estudio de caso-control realizando un filtro de individuos más homogéneo para lograr identificar de este modo las diferencias significativas.

5.2.3.11. Relación entre las Producciones Lácteas de grupo caso (seropositivos) y grupo control (seronegativos) en cada lactancia

En este sentido, el T-test de datos no relacionados reflejó por cada lactancia diferencias significativas. Esto corrobora lo que ciertos autores mencionan acerca del riesgo de infección por *C. burnetii* (Canevari et al., 2018; López-Gatius, Almeria, & Garcia-Ispierto, 2012; Mccaughey et al., 2010; Ordóñez, 2017), en donde describen, entre otras, al número de lactancia como un factor de riesgo y que dependiendo de la epidemiología de la región pueden llegar a ser susceptibles todas las categorías o como se ha descrito antes, solo aquellas categorías que abarcan individuos de mayor edad. Para el presente estudio de caso-control se define que Fiebre Q provoca una reducción promedio de 5.7% en la producción láctea para la última lactancia, aunque se sugiere que este valor es únicamente un aproximado de la reducción real, lo que debería conducir al desarrollo de un análisis longitudinal retrospectivo de mayor tiempo.

5.3. Limitantes

Una limitación del presente estudio es que no se tiene el conocimiento del momento en que los animales se infectaron, por tanto, no se puede inferir como el momento en que se infectaron al estudio desarrollado por Echeverría et al., (2019), sino como un diagnóstico base para comenzar el seguimiento periódico de los animales para describir la eco epidemiología de la enfermedad.

Por otra parte, se considera que el periodo de años en estudio fue muy limitado para realizar el seguimiento de la producción láctea de los animales y poder observar la verdadera magnitud que tiene Fiebre Q en el presente hato. A pesar de ello, se pudo reflejar en los resultados del análisis estadísticos ciertas pautas para identificar el impacto que acarrea en la producción actual.

Otra limitación es la posibilidad de que los animales seropositivos para este estudio hayan desarrollado Fiebre Q crónica sin haber sido identificados en la serología. En este sentido, un diagnóstico objetivo y preciso de los efectos a largo plazo en la salud animal de Fiebre Q es difícil, pero las pruebas serológicas para anticuerpos específicos de fase I y fase II pueden ayudar a clasificar mejor a los pacientes. Sin embargo, esto no se realizó en el estudio porque los kits de diagnóstico no están disponibles en Ecuador.

Por último, una base de datos tan extensa como es la que maneja la empresa se encuentra en constante innovación, de manera que puede darse el caso de algún error de registro de datos. A pesar de ello, la confiabilidad de los datos es muy elevada.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Se concluye que el impacto que ocasiona Fiebre Q en la presente granja de alta producción es leve con una elevada seroprevalencia que representa el 47.87%. Además, el análisis de los índices productivos reflejó que las variables con mayor importancia para el estudio fueron el diagnóstico, la edad, la producción láctea y en menor medida la presencia de abortos, la presencia de mastitis, duración de la lactancia y el número de lactancias.

En definitiva, el análisis descriptivo muestra que puede existir una relación aparente entre Fiebre Q y las siguientes variables: número de lactancia (el 32.6% de vacas seropositivas se encuentra entre la segunda y cuarta lactancia), la presencia de mastitis (19.3%), la presencia de abortos (3.7%), la producción láctea (reducción en 5.7%) y la duración de la lactancia (reducción en 15.43%). En relación con esto, la importancia de Fiebre Q en esta producción lechera radica en que estas variables pueden estar fuertemente influenciadas por la presencia de la enfermedad, pero únicamente se detalla para el periodo 2018-2019. Por lo que, la importancia del análisis descriptivo también demuestra la necesidad de desarrollar estudios de tipo longitudinal retrospectivos de más años, que permitan identificar una verdadera asociación entre Fiebre Q y estas variables a través del tiempo y no solo para un periodo como el presente estudio, haciendo que no se logre apreciar la magnitud real de la enfermedad.

Tras realizar el análisis estadístico, se concluye que Fiebre Q acarrea efectos leves en la producción ganadera mediante una presentación crónica. Para este caso, el diagnóstico a Fiebre Q se relaciona con la edad; donde se concluye que mientras más aumenta la edad existe mayor riesgo de ser seropositivo a Fiebre Q y que las edades más afectadas son: 6, 10, 13, 15 años. Adicionalmente, se descarta que la presencia de abortos y mastitis influencia la producción de la última lactancia. En relación con el estudio de caso-control se concluye que Fiebre Q provoca una reducción en 5.7% de la producción láctea para la última

lactancia. De igual manera permite aclarar que la seropositividad no dependerá de la última lactancia y que el impacto puede volverse imperceptible cuando se estudia una población que no se encuentra bajo los mismos criterios de selección (caso-control). Todo esto sugiere que, existe una presentación crónica de Fiebre Q y que es necesario un estudio longitudinal retrospectivo.

5.2. Recomendaciones

En cuanto al diagnóstico, se recomienda manejar dos pruebas diagnósticas, PCR y ELISA, que han sido comúnmente utilizadas para asegurar tanto la presencia de la enfermedad como la obtención de una prevalencia real. En base a esto, distintos autores describen que, en estadios crónicos de la enfermedad, los animales no se encuentran excretando la bacteria y esto puede ocasionar que pase desapercibido únicamente con la serología.

En cuanto al estudio, se recomienda profundizar en un análisis de caso y control con registros de hasta 5 años atrás, con la finalidad de observar la fluctuación en los parámetros zootécnicos de la Hacienda y entender el causal de las variaciones actuales. Asimismo, realizar controles cada 6 meses, debido a que la presentación de la enfermedad en esta región es elevada, algunos animales pueden seroconvertir y manifestar clínicamente a la enfermedad, además de introducir con ello, los kits de diagnóstico de fase específica, para detallar la presentación aguda o crónica de la enfermedad.

Son varias las pautas que se dieron en el presente estudio, por lo tanto, es recomendable:

En primer lugar, su divulgación para que cada vez el conocimiento veterinario sea más amplio y se pueda tener a la Fiebre Q entre los diferenciales que causan abortos esporádicos y mastitis subclínicas.

En segundo lugar, que sirva como base para estudios sobre la ecología de la enfermedad, puesto que nuestro país es megadiverso, la presencia de distintos

hospedadores, así como de los medios de transmisión pueden ser favorables para que la enfermedad sea endémica.

En tercer lugar, que permita a futuro establecer la importancia económica y zoonótica en las empresas de alta producción lechera, con ello, tener un control sanitario más seguro y confiable, así como el ofrecimiento de productos derivados certificados y de alta calidad.

REFERENCIAS

- Abnave, P., Muracciole, X., & Ghigo, E. (2017). Coxiella burnetii lipopolysaccharide: What do we know? *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 18. <https://doi.org/10.3390/ijms18122509>
- Abushahba, M. F. N., Abdelbaset, A. E., Rawy, M. S., & Ahmed, S. O. (2017). Cross-sectional study for determining the prevalence of Q fever in small ruminants and humans at El Minya Governorate, Egypt. *BMC Research Notes*, 10(1), 4–9. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2868-2>
- Agerholm, J. S. (2013). Coxiella burnetii associated reproductive disorders in domestic animals--a critical review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 55, 13. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-55-13>
- Alvarez, J., Perez, A., Mardones, F. O., Pérez-Sancho, M., García-Seco, T., Pagés, E., ... Domínguez, L. (2012). Epidemiological factors associated with the exposure of cattle to Coxiella burnetii in the Madrid region of Spain. *Veterinary Journal*, 194(1), 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.02.022>
- Anastácio, S., Carolino, N., Sidi-Boumedine, K., & da Silva, G. J. (2016). Q Fever Dairy Herd Status Determination Based on Serological and Molecular Analysis of Bulk Tank Milk. *Transboundary and Emerging Diseases*, 63(2), e293–e300. <https://doi.org/10.1111/tbed.12275>
- Anderson, A., Bijlmer, H., Fournier, P.-E., Graves, S., Hartzell, J., Kersh, G. J., ... Sexton, D. J. (2013a). Diagnosis and management of Q fever--United States, 2013. *MMWR. Recommendations and Reports: Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and Reports / Centers for Disease Control*, 62(3), 1–30. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23535757>
- Anderson, A., Bijlmer, H., Fournier, P.-E., Graves, S., Hartzell, J., Kersh, G. J., ... Sexton, D. J. (2013b). Diagnosis and Management of Q Fever — United States, 2013 Recommendations from CDC and the Q Fever Working Group Morbidity and Mortality Weekly Report Centers for Disease Control and Prevention MMWR Editorial and Production Staff MMWR Editorial Board. *Mmwr*, 62(3). Retrieved from <http://www.cdc.gov/mmwr/cme/conted.html>
- Andoh, M., Russell-Lodrigue, K. E., Zhang, G., & Samuel, J. E. (2005). Comparative virulence of phase I and II Coxiella burnetii in immunodeficient mice. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1063, 167–170. <https://doi.org/10.1196/annals.1355.026>
- Angelakis, E., Raoult, D., Angelakis, E., Raoult, D., & Veterinary, Q. (2011). Q fever. 140, 297–309. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.07.016>
- Arricau-Bouvery, N, Souriau, A., Moutoussamy, A., Ladenise, K., & Rodolakis, A. (2001). Etude de l'excrétion de Coxiella burnetii dans un modèle expérimental caprin et décontamination des lisiers par la cyanamide calcique- Study of Coxiella burnetii excretion in an experimental goat model

- and decontamination of dung with calcium Cyanamid. *Rencontres Recherches Ruminants*, 8, 153–156.
- Arricau-Bouvery, Nathalie, Hauck, Y., Bejaoui, A., Frangoulidis, D., Bodier, C. C., Souriau, A., ... Vergnaud, G. (2006). Molecular characterization of *Coxiella burnetii* isolates by infrequent restriction site-PCR and MLVA typing. *BMC Microbiology*, 6, 1–14. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-6-38>
- Bae, M., Jin, C. E., Park, J. H., Kim, M. J., Chong, Y. P., Lee, S. O., ... Wang, L. (2019). Diagnostic usefulness of molecular detection of *Coxiella burnetii* from blood of patients with suspected acute Q fever. *Medicine (United States)*, 98(23). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000015724>
- Banazis, M. J., Bestall, A. S., Reid, S. A., & Fenwick, S. G. (2010). A survey of Western Australian sheep, cattle and kangaroos to determine the prevalence of *Coxiella burnetii*. *Veterinary Microbiology*, 143(2–4), 337–345. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.12.002>
- Barandika, J. F., Alvarez-Alonso, R., Jado, I., Hurtado, A., & García-Pérez, A. L. (2019). Viable *Coxiella burnetii* in hard cheeses made with unpasteurized milk. *International Journal of Food Microbiology*, 303(March), 42–45. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.010>
- Barlow, J., Rauch, B., Welcome, F., Kim, S. G., Dubovi, E., & Schukken, Y. (2008). Association between *Coxiella burnetii* shedding in milk and subclinical mastitis in dairy cattle. *Veterinary Research*, 39(3), 1–9. <https://doi.org/10.1051/vetres:2007060>
- Bauer, A. E., Hubbard, K. R. A., Johnson, A. J., Messick, J. B., Weng, H. Y., & Pogradichniy, R. M. (2016). A cross sectional study evaluating the prevalence of *Coxiella burnetii*, potential risk factors for infection, and agreement between diagnostic methods in goats in Indiana. *Preventive Veterinary Medicine*, 126, 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.01.026>
- Bauer, A. E., Olivas, S., Cooper, M., Hornstra, H., Keim, P., Pearson, T., & Johnson, A. J. (2015). Estimated herd prevalence and sequence types of *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples from commercial dairies in Indiana. *BMC Veterinary Research*, 11(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0517-3>
- Benson, W. W., Brock, D. W., & Mather, J. (1963). Serologic Analysis of a Penitentiary Group Using Raw Milk From a Q Fever Infected Herd. *Public Health Reports*, 78, 707–710. <https://doi.org/10.2307/4591908>
- Berri, M., Souriau, A., Crosby, M., & Rodolakis, A. (2002). Shedding of *Coxiella burnetii* in ewes in two pregnancies following an episode of *Coxiella* abortion in a sheep flock. *Veterinary Microbiology*, 85(1), 55–60. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00480-1](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00480-1)
- Betancur, C. A., Rubio, M., Barrera, J., & Bedoya, J. C. (2015). Seroprevalence of *Coxiella burnetii* in cattle farm workers in the department of Antioquia. *Acta*

Medica Colombiana, 40(1), 20–23.

- Bewley, K. R. (2013). Animal models of Q fever (*Coxiella burnetii*). *Comparative Medicine*, 63(6), 469–476.
- Bildfell, R. J., Thomson, G. W., Haines, D. M., McEwen, B. J., & Smart, N. (2000). *Coxiella burnetii* infection is associated with placentitis in cases of bovine abortion. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 12(5), 419–425. <https://doi.org/10.1177/104063870001200505>
- Bolaños-Rivero, M., Carranza-Rodríguez, C., Rodríguez, N. F., Gutiérrez, C., & Pérez-Arellano, J. L. (2017). Detection of *Coxiella burnetii* DNA in Peridomestic and Wild Animals and Ticks in an Endemic Region (Canary Islands, Spain). *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 17(9), 630–634. <https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2120>
- Bond, K. A., Vincent, G., Wilks, C. R., Franklin, L., Sutton, B., Stenos, J., ... Firestone, S. M. (2016). One Health approach to controlling a Q fever outbreak on an Australian goat farm. *Epidemiology and Infection*, 144(6), 1129–1141. <https://doi.org/10.1017/S0950268815002368>
- Bontje, D. M., Backer, J. A., Hogerwerf, L., Roest, H. I. J., & van Roermund, H. J. W. (2016). Analysis of Q fever in Dutch dairy goat herds and assessment of control measures by means of a transmission model. *Preventive Veterinary Medicine*, 123, 71–89. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.11.004>
- Boone, I., Henning, K., Hilbert, A., Neubauer, H., Kalckreuth, V. Von, Myriam, D., ... Al, S. (2017). Are brucellosis, Q fever and melioidosis potential causes of febrile illness in Madagascar? *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 172(May), 255–262. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.05.013>
- Böttcher, J., Vossen, A., Janowetz, B., Alex, M., Gangl, A., Randt, A., & Meier, N. (2011). Insights into the dynamics of endemic *Coxiella burnetii* infection in cattle by application of phase-specific ELISAs in an infected dairy herd. *Veterinary Microbiology*, 151(3–4), 291–300. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.03.007>
- Brouqui, P., Dumler, J. S., & Raoult, D. (1994). Immunohistologic demonstration of *Coxiella burnetii* in the valves of patients with Q fever endocarditis. *The American Journal of Medicine*, 97(5), 451–458. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(94\)90325-5](https://doi.org/10.1016/0002-9343(94)90325-5)
- Browne, A. S., Fèvre, E. M., Kinnaird, M., Muloi, D. M., Wang, C. A., Larsen, P. S., ... Deem, S. L. (2017). Serosurvey of *Coxiella burnetii* (Q fever) in Dromedary Camels (*Camelus dromedarius*) in Laikipia County, Kenya. *Zoonoses and Public Health*, 64(7), 543–549. <https://doi.org/10.1111/zph.12337>
- Buhariwalla, F., Cann, B., & Marrie, T. J. (1996). A Dog-related Outbreak of Q Fever. *Proceedings. American Federation for Clinical Research*,

3(February), 80.

- Button, K., & Stough, R. (2002). Human Diseases from wildlife. In *Journal of Wildlife Diseases* (Vol. 7). <https://doi.org/10.1093/cid/civ590>
- Canevari, J. T., Firestone, S. M., Vincent, G., Campbell, A., Tan, T., Muleme, M., ... Stevenson, M. A. (2018). The prevalence of *Coxiella burnetii* shedding in dairy goats at the time of parturition in an endemically infected enterprise and associated milk yield losses. *BMC Veterinary Research*, *14*(1), 353. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1667-x>
- Cantas, H., Muwonge, A., Sareyyupoglu, B., Yardimci, H., & Skjerve, E. (2011). Q fever abortions in ruminants and associated on-farm risk factors in northern Cyprus. *BMC Veterinary Research*, *7*(1), 13. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-7-13>
- Capuano, F., Mancusi, A., Casalnuovo, F., Perugini, A., Proroga, Y., Guarino, A., & Berri, M. (2012). Real-time PCR-based detection of *Coxiella burnetii* in cheeses. *European Food Research and Technology*, *235*(6), 1181–1186. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1855-z>
- Carbonero, A., Guzmán, L. T., Montaña, K., Torralbo, A., Arenas-Montesa, A., & Saa, L. R. (2015). *Coxiella burnetii* seroprevalence and associated risk factors in dairy and mixed cattle farms from Ecuador. *Preventive Veterinary Medicine*, 1–29. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.01.007>
- Carcopino, X., Raoult, D., Bretelle, F., Boubli, L., & Stein, A. (2007). Managing Q Fever during Pregnancy: The Benefits of Long-Term Cotrimoxazole Therapy. *Clinical Infectious Diseases*, *45*(5), 548–555. <https://doi.org/10.1086/520661>
- Carrieri, M. P., Tissot-Dupont, H., Rey, D., Brousse, P., Renard, H., Obadia, Y., & Raoult, D. (2002). Investigation of a slaughterhouse-related outbreak of Q fever in the French Alps. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *21*(1), 17–21. <https://doi.org/10.1007/s10096-001-0645-5>
- CFSPH, C. for F. S. and P. H. (2010). *Fiebre Q. Iowa*.
- Changoluisa, D., Rivera-Olivero, I. A., Echeverria, G., Garcia-Bereguian, M. A., De Waard, J. H., Abad-Sojos, S., ... Zambrano-Mila, M. (2019). Serology for Neosporosis, Q fever and Brucellosis to assess the cause of abortion in two dairy cattle herds in Ecuador. *BMC Veterinary Research*, *15*(1), 1–5. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1924-7>
- Chitanga, S., Simulundu, E., Simuunza, M. C., Changula, K., Qiu, Y., Kajihara, M., ... Hang'Ombe, B. M. (2018). First molecular detection and genetic characterization of *Coxiella burnetii* in Zambian dogs and rodents. *Parasites and Vectors*, *11*(1), 2–5. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2629-7>
- Cicuttin, G. L., Lobo, B., Anda, P., & Jado García, I. (2013). Seropositividad a *Coxiella burnetii* (agente de la fiebre Q) en caninos domésticos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. *InVet*, *15*(1–2), 129–134.

- Coleman, S. A., Fischer, E. R., Howe, D., Mead, D. J., & Heinzen, R. A. (2004). Temporal analysis of *Coxiella burnetii* morphological differentiation. *Journal of Bacteriology*, 186(21), 7344–7352. <https://doi.org/10.1128/JB.186.21.7344-7352.2004>
- Contreras, V., Máttar, S., González, M., Álvarez, J., & Oteo, J. A. (2014). *Coxiella burnetii* in bulk tank milk and antibodies in farm workers. 57(4), 181–187. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.v28n2a07.Summary>
- Cooper, A. E. (2011). Identification of potential reservoirs of Q fever in Queensland, Australia. James Cook University.
- Cooper, A., Stephens, J., Ketheesan, N., & Govan, B. (2013). Detection of *Coxiella burnetii* dna in wildlife and ticks in Northern Queensland, Australia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 13(1), 12–16. <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0853>
- Courcoul, A., Vergu, E., Denis, J. B., & Beaudeau, F. (2010). Spread of Q fever within dairy cattle herds: Key parameters inferred using a Bayesian approach. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1695), 2857–2865. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0575>
- Czaplicki, G., Houtain, J., Mullender, C., Manteca, C., & Saegerman, C. (2009). Le lait de tank, outil fiable pour le diagnostic de la fièvre Q dans un troupeau bovin laitier ? *Epidémiologie et Santé Animale*, 56, 117–127.
- D'amato, F., Million, M., Edouard, S., Delerce, J., Robert, C., Marrie, T., & Raoult, D. (2014). Draft genome sequence of *Coxiella burnetii* Dog Utad, a strain isolated from a dog-related outbreak of Q fever. *New Microbes and New Infections*, 2(4), 136–137. <https://doi.org/10.1002/nmi2.55>
- Da Costa, P. S. G., Brigatte, M. E., & Greco, D. B. (2006). Questing one Brazilian query: Reporting 16 cases of Q fever from Minas Gerais, Brazil. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 48(1), 5–9.
- Damasceno, I. A. de M., & Guerra, R. C. (2018). *Coxiella burnetii* and q fever in brazil: A public health issue. *Ciencia e Saude Coletiva*, 23(12), 4231–4239. <https://doi.org/10.1590/1413-812320182312.27772016>
- Davis, G. E., Cox, H. R., Parker, R. R., & Dyer, R. E. (2016). A Filter-Passing Infectious Agent Isolated from Ticks. *Association of Schools of Public Health*, 53(52), 2259–2282.
- Davoust, B., Marié, J.-L., Tahir, D., Dahmani, M., Dufour, P., Thiéry, R., & Rousset, E. (2019). Seroprevalence of *Coxiella burnetii* infection in dogs from Southeastern France. *International Journal of Infectious Diseases*, 79(2019), 122. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.11.300>
- Davoust, Bernard, Marié, J. Lou, Pommier de Santi, V., Berenger, J. M., Edouard, S., & Raoult, D. (2014). Three-toed sloth as putative reservoir of *Coxiella burnetii*, Cayenne, French Guiana. *Emerging Infectious Diseases*, 20(10), 1760–1761. <https://doi.org/10.3201/eid2010.140694>

- De Biase, D., Costagliola, A., Del Piero, F., Di Palo, R., Coronati, D., Galiero, G., ... Paciello, O. (2018). Coxiella burnetii in Infertile Dairy Cattle With Chronic Endometritis. *Veterinary Pathology*, 55(4), 539–542. <https://doi.org/10.1177/0300985818760376>
- de Oliveira, J. M. B., Rozental, T., de Lemos, E. R. S., Forneas, D., Ortega-Mora, L. M., Porto, W. J. N., ... Mota, R. A. (2018). Coxiella burnetii in dairy goats with a history of reproductive disorders in Brazil. *Acta Tropica*, 183(March), 19–22. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.04.010>
- De Rooij, M. M. T., Borlée, F., Smit, L. A. M., De Bruin, A., Janse, I., Heederik, D. J. J., & Wouters, I. M. (2016). Detection of Coxiella Burnetii in ambient air after a large Q fever outbreak. *PLoS ONE*, 11(3), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151281>
- Dellacasagrande, J., Ghigo, E., Hammami, S. M. E., Toman, R., Raoult, D., Capo, C., & Mege, J. L. (2000). $\alpha(v)\beta 3$ Integrin and bacterial lipopolysaccharide are involved in Coxiella burnetii-stimulated production of tumor necrosis factor by human monocytes. *Infection and Immunity*, 68(10), 5673–5678. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.10.5673-5678.2000>
- Delsing, C. E., & Kullberg, B. J. (2008). Q fever in the Netherlands: A concise overview and implications of the largest ongoing outbreak. *Netherlands Journal of Medicine*, 66(9), 365–367.
- Delsing, Corine E., Warris, A., & Bleeker-Rovers, C. P. (2011). Q Fever: Still More Queries than Answers. *Infection and Immunity*, 79, 11–24. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0204-6>
- Desjardins, I., Joulié, A., Pradier, S., Lecollinet, S., Beck, C., Vial, L., ... Leblond, A. (2018). Seroprevalence of horses to Coxiella burnetii in an Q fever endemic area. *Veterinary Microbiology*, 215, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.11.012>
- Dijkstra, F., van der Hoek, W., Wijers, N., Schimmer, B., Rietveld, A., Wijkmans, C. J., ... Schneeberger, P. M. (2012). The 2007-2010 Q fever epidemic in the Netherlands: Characteristics of notified acute Q fever patients and the association with dairy goat farming. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 64(1), 3–12. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00876.x>
- Dorko, E., Rimárová, K., Pilipčinec, E., & Trávníček, M. (2009). PREVALENCE OF COXIELLA BURNETII ANTIBODIES IN WILD RUMINANTS IN KAVEČANY ZOO, KOŠICE, EASTERN SLOVAKIA. *Ann Agric Environ Med*, (4), 321–324. <https://doi.org/10.1080/15555270601041821>
- Duncan, C., Savage, K., Williams, M., Dickerson, B., Kondas, A. V., Fitzpatrick, K. A., ... Kersh, G. J. (2017). Multiple strains of Coxiella burnetii are present in the environment of St. Paul Island, Alaska. *Physiology & Behavior*, 176(3), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
- Echeverría, G., Reyna-Bello, A., Minda-Aluisa, E., Celi-Erazo, M., Olmedo, L.,

- García, H. A., ... Waard, J. H. de. (2019). Serological evidence of *Coxiella burnetii* infection in cattle and farm workers: is Q fever an underreported zoonotic disease in Ecuador? *Infection and Drug Resistance*, (April), 700–706. <https://doi.org/10.2147/IDR.S195940>
- El-Mahallawy, H. S., Kelly, P., Zhang, J., Yang, Y., Wei, L., Tian, L., ... Wang, C. (2016). Serological and molecular evidence of *Coxiella burnetii* in samples from humans and animals in China. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 23(1), 87–91. <https://doi.org/10.5604/12321966.1196859>
- Eldin, C., Angelakis, E., Renvoisé, A., & Raoult, D. (2013). *Coxiella burnetii* DNA, but not viable bacteria, in dairy products in France. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88(4), 765–769. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.12-0212>
- Eldin, C., Mahamat, A., Demar, M., Abboud, P., Djossou, F., & Raoult, D. (2014). Review article: Q fever in French Guiana. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 91(4), 771–776. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0282>
- Eldin, C., Mélenotte, C., Mediannikov, O., Ghigo, E., Million, M., Edouard, S., ... Raoult, D. (2017). From Q fever to *Coxiella burnetii* infection: A paradigm change. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(1), 115–190. <https://doi.org/10.1128/CMR.00045-16>
- Enright, J. B., Salder, W. W., & Thomas, R. C. (1957). Pasteurization of milk containing the organism of Q fever. *American Journal of Public Health*, 47(6), 695–700.
- Epelboin, L., Nacher, M., Mahamat, A., Pommier de Santi, V., Berlioz-Arthaud, A., Eldin, C., ... Djossou, F. (2016). Q Fever in French Guiana: Tip of the Iceberg or Epidemiological Exception? *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(5), 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004598>
- Eraso-Cadena, M. P., Molina-Guzmán, L. P., Cardona, X., Cardona-Arias, J. A., Ríos-Osorio, L. A., & Gutierrez-Builes, L. A. (2018). Serological evidence of exposure to some zoonotic microorganisms in cattle and humans with occupational exposure to livestock in Antioquia, Colombia. *Cadernos de Saude Publica*, 34(10). <https://doi.org/10.1590/0102-311x00193617>
- Esmaeili, S., Golzar, F., Ayubi, E., Naghili, B., & Mostafavi, E. (2017). Acute Q fever in febrile patients in northwestern of Iran. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(4), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005535>
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2016). Annual Epidemiological Report for 2016. Mumps. *Surveillance Report*, (November 2019), 1–7. Retrieved from https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER_for_2016-mumps-rev.pdf
- Fariñas, F., Pedreira, J., & Diéguez, J. (2016). Capítulo 32. Fiebre Q. In *Inmunología y enfermedades infecciosas en vacuno* (Servet edi, pp. 127–

- 130). Zaragoza: Grupo Asís Biomedica S.L.
- Fishbein, D. B., & Raoult, D. (1992). A cluster of *Coxiella burnetii* infections associated with exposure to vaccinated goats and their unpasteurized dairy products. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 47(1), 35–40. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1992.47.35>
- Fournier, P., & Marrie, T. J. (1998). MINIREVIEW Diagnosis of Q Fever. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(7), 1823–1834.
- Gale, P., Kelly, L., Mearns, R., Duggan, J., & Snary, E. L. (2015). Q fever through consumption of unpasteurised milk and milk products - a risk profile and exposure assessment. *Journal of Applied Microbiology*, 118(5), 1083–1095. <https://doi.org/10.1111/jam.12778>
- Galiero, A., Fratini, F., Cammà, C., Di Domenico, M., Curini, V., Baronti, I., ... Cerri, D. (2016). Occurrence of *Coxiella burnetii* in goat and ewe unpasteurized cheeses: Screening and genotyping. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.008>
- García-Ispierto, I., López-Helguera, I., Tutusaus, J., Serrano, B., Monleón, E., Badiola, J., & López-Gatius, F. (2013). *Coxiella burnetii* shedding during the peripartum period and subsequent fertility in dairy cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 48(3), 441–446. <https://doi.org/10.1111/rda.12095>
- García-Ispierto, I., Tutusaus, J., & López-Gatius, F. (2014). Does *Coxiella burnetii* affect reproduction in cattle? A clinical update. *Reproduction in Domestic Animals*, 49(4), 529–535. <https://doi.org/10.1111/rda.12333>
- García-Pérez, A. L., Astobiza, I., Barandika, J. F., Atxaerandio, R., Hurtado, A., & Juste, R. A. (2009). Short communication: Investigation of *Coxiella burnetii* occurrence in dairy sheep flocks by bulk-tank milk analysis and antibody level determination. *Journal of Dairy Science*, 92(4), 1581–1584. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1672>
- García-Seco, T., Pérez-sancho, M., García, N., & Miguel, L. (2011). *Situación actual de la Fiebre Q: diagnóstico , legislación y medidas de vigilancia y control*. 81–85.
- García-Seco, T., Pérez-Sancho, M., Martínez-Nevado, E., Álvarez, J., Santiago-Moreno, J., Goyache, J., ... García, N. (2016). Detection of *Coxiella Burnetii* Infection in a Saharawi Dorcas Gazelle (*Gazella Dorcas Neglecta*) . *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 47(3), 939–941. <https://doi.org/10.1638/2015-0068.1>
- García, A. L. (2019). *Coxiella burnetii* : Prevalencia de la infección en rumiantes de la CAPV. 1–34.
- Gauchard, F., Hattenberger, A.-M., Chevalier, J., & Thomann, C. (2004). *Fiebre Q: Evaluación de Riesgos para la Salud Pública y Herramientas de Gestión de Riesgos en Cría de Rumiantes*.

- González-Barrio, D. (2015). *Epidemiología y control de la fiebre Q (Coxiella burnetii) en fauna silvestre ibérica*. Universidad de Castilla-La Mancha.
- González, C. G., & Moreira, R. (2003). *Epidemiologic study of an outbreak of Q fever in the Lo Aguirre livestock quarantine station, Agriculture and Livestock Service (Chile)*. 6–8. <https://doi.org/10.16309/j.cnki.issn.1007-1776.2003.03.004>
- Gregory, A., van Schaik, E., Russell-Lodrigue, K., Fratzke, A., & Samuel, J. (2019). A *Coxiella burnetii* intratracheal aerosol infection model in mice, guinea pigs and non-human primates. *Infection and Immunity*. <https://doi.org/10.1128 / IAI.00178-19>
- Guatteo, R., Beaudeau, F., Joly, A., & Seegers, H. (2007). Performances of an ELISA applied to serum and milk for the detection of antibodies to *Coxiella burnetii* in dairy cattle. *Revue de Medecine Veterinaire*, 158(5), 250–252.
- Guatteo, R., Joly, A., & Beaudeau, F. (2012). Shedding and serological patterns of dairy cows following abortions associated with *Coxiella burnetii* DNA detection. *Veterinary Microbiology*, 155(2–4), 430–433. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.09.026>
- Guatteo, Raphaël, Beaudeau, F., Berri, M., Rodolakis, A., Joly, A., & Seegers, H. (2006). Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: Implications for detection and control. *Veterinary Research*, 37(6), 827–833. <https://doi.org/10.1051/vetres:2006038>
- Guatteo, Raphaël, Beaudeau, F., Joly, A., & Seegers, H. (2007). *Coxiella burnetii* shedding by dairy cows. *Veterinary Research*, 38(6), 849–860. <https://doi.org/10.1051/vetres:2007038>
- Guatteo, Raphael, & Seegers, H. (2006). *Excretion of Coxiella burnetii by dairy cows : Consequences for disease screening and control*. (November 2015).
- Guatteo, Raphaël, Seegers, H., Joly, A., & Beaudeau, F. (2008). Prevention of *Coxiella burnetii* shedding in infected dairy herds using a phase I *C. burnetii* inactivated vaccine. *Vaccine*, 26(34), 4320–4328. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.06.023>
- Hammerl, J. A., Mertens, K., Sprague, L. D., Hackert, V. H., Buijs, J., Hoebe, C. J., ... Al Dahouk, S. (2015). First draft genome sequence of a human *Coxiella burnetii* isolate, originating from the largest Q fever outbreak ever reported, the Netherlands, 2007 to 2010. *Genome Announcements*, 3(3), 3–4. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00445-15>
- Harris, P., Eales, K. M., Squires, R., Govan, B., & Norton, R. (2013). Acute Q fever in northern Queensland: Variation in incidence related to rainfall and geographical location. *Epidemiology and Infection*, 141(5), 1034–1038. <https://doi.org/10.1017/S0950268812001495>
- Hatchette, T. F., Hudson, R. C., Schlech, W. F., Campbell, N. A., Hatchette, J. E., Ratnam, S., ... Marrie, T. J. (2001). Goat-associated Q fever: a new disease in Newfoundland. *Emerging Infectious Diseases*, 7(3), 413–419.

<https://doi.org/10.3201/eid0703.017308>

- Hazlett, M. J., McDowall, R., DeLay, J., Stalker, M., McEwen, B., van Dreumel, T., ... Cai, H. Y. (2013). A prospective study of sheep and goat abortion using real-time polymerase chain reaction and cut point estimation shows *Coxiella burnetii* and *Chlamydophila abortus* infection concurrently with other major pathogens. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25(3), 359–368. <https://doi.org/10.1177/1040638713484729>
- Hirai, A., Nakama, A., Chiba, T., & Kai, A. (2012). Development of a method for detecting *Coxiella burnetii* in cheese samples. *Journal of Veterinary Medical Science*, 74(2), 175–180. <https://doi.org/10.1292/jvms.11-0023>
- Hogerwerf, L., van den Brom, R., Roest, H. I. J., Bouma, A., Vellema, P., Pieterse, M., ... Nielen, M. (2011). Reduction of *Coxiella burnetii* prevalence by vaccination of goats and sheep, The Netherlands. *Emerging Infectious Diseases*, 17(3), 379–386. <https://doi.org/10.3201/eid1703.101157>
- Huebner, R. J., Jellison, W. L., Beck, M. D., & Wilcox, F. P. (2016). Q Fever Studies in Southern California: III. Effects of Pasteurization on Survival of *C. burnetii* in Naturally Infected Milk. *Association of Schools of Public Health*, 64(16), 499–511.
- IDvet Corp. (2019). *ELISA ID Screen ® Q Fever Indirect Multi-species*. 1–16. Retrieved from <https://www.id-vet.com/produit/id-screen-q-fever-indirect-multi-species/>
- INAMHI. (2014). *Anuario meteorológico № 51-2017*. Quito.
- INSHT. (2017). *Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Coxiella burnetii*. Retrieved from [http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas de agentes biologicos/Fichas/Coxiella burnetii 2017.pdf](http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Coxiella%20burnetii%202017.pdf)
- Jensen, T. K., Montgomery, D. L., Jaeger, P. T., Lindhardt, T., Agerholm, J. S., Bille-Hansen, V., & Boye, M. (2007). Application of fluorescent in situ hybridisation for demonstration of *Coxiella burnetii* in placentas from ruminant abortions. *Apmis*, 115(4), 347–353. https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_591.x
- Jones, R. M., Nicas, M., Hubbard, A. E., & Reingold, A. L. (2006). The Infectious Dose of *Coxiella Burnetii* (Q Fever) . *Applied Biosafety*, 11(1), 32–41. <https://doi.org/10.1177/153567600601100106>
- Karagiannis, I., Schimmer, B., Van Lier, A., Timen, A., Schneeberger, P., Van Rotterdam, B., ... Van Duynhoven, Y. (2009). Investigation of a Q fever outbreak in a rural area of The Netherlands. *Epidemiology and Infection*, 137(9), 1283–1294. <https://doi.org/10.1017/S0950268808001908>
- Krauss, H. (1989). Clinical aspects and prevention of Q fever in animals. *European Journal of Epidemiology*, 5(4), 454–455. <https://doi.org/10.1007/BF00140140>

- Krumbiegel, E. R., & Wisniewski, H. J. (1970). Il consumption of infected raw milk by human volunteers. *Archives of Environmental Health*, 21(1), 63–65. <https://doi.org/10.1080/00039896.1970.10667193>
- Kruszewska, D., & Tylewska-Wierzbanowska, S. (1997). Isolation of *Coxiella burnetii* from bull semen. *Research in Veterinary Science*, 62(3), 299–300. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(97\)90210-1](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(97)90210-1)
- Kruszewska, D., & Tylewska-Wierzbanowska, S. K. (1993). *Coxiella burnetii* penetration into the reproductive system of male mice, promoting sexual transmission of infection. *Infection and Immunity*, 61(10), 4188–4195.
- Kruszewska, Danuta, Lembowicz, K., & Tylewska-Wierzbanowska, S. (1996). Possible sexual transmission of Q fever among humans. *Clinical Infectious Diseases*, 22(6), 1087–1088. <https://doi.org/10.1093/clinids/22.6.1087>
- Larson, P. S., Espira, L., Grabow, C., Wang, C. A., Muloi, D., Browne, A. S., ... Eisenberg, J. N. S. (2019). The sero-epidemiology of *Coxiella burnetii* (Q fever) across livestock species and herding contexts in Laikipia County, Kenya. *Zoonoses and Public Health*, 66(3), 316–324. <https://doi.org/10.1111/zph.12567>
- López-Gatius, F., Almeria, S., & Garcia-Ispuerto, I. (2012). Serological screening for *Coxiella burnetii* infection and related reproductive performance in high producing dairy cows. *Research in Veterinary Science*, 93(1), 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.07.017>
- Lucchese, L., Capello, K., Barberio, A., Zuliani, F., Stegeman, A., Ceglie, L., ... Natale, A. (2015). IFAT and ELISA phase I/phase II as tools for the identification of Q fever chronic milk shedders in cattle. *Veterinary Microbiology*, 179(1–2), 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.02.010>
- Malo, J. A., Colbran, C., Young, M., Vasant, B., Jarvinen, K., Viney, K., & Lambert, S. B. (2018). An outbreak of Q fever associated with parturient cat exposure at an animal refuge and veterinary clinic in southeast Queensland. *Australian and New Zealand Journal of Public Health*, 42(5), 451–455. <https://doi.org/10.1111/1753-6405.12784>
- Manock, S. R., Jacobsen, K. H., Bravo, N. B. De, Russell, K. L., Negrete, M., Olson, J. G., ... Kochel, T. (2009). Etiology of Acute Undifferentiated Febrile Illness in the Amazon Basin of Ecuador. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 81(1), 146–151.
- Marenzoni, M. L., Stefanetti, V., Papa, P., Casagrande Proietti, P., Bietta, A., Coletti, M., ... Henning, K. (2013). Is the horse a reservoir or an indicator of *Coxiella burnetii* infection? Systematic review and biomolecular investigation. *Veterinary Microbiology*, 167(3–4), 662–669. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.09.027>
- Mares-Guia, M. A. M. de M., Rozental, T., Guterres, A., Gomes, R., de Almeida, D. N., Moreira, N. S., ... de Lemos, E. R. S. (2014). Molecular identification

- of the agent of Q fever - *Coxiella burnetii* - In domestic animals in State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 47(2), 231–234. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0076-2013>
- Marrie, T. J., & Pollak, P. T. (1995). Seroepidemiology of Q fever in Nova Scotia: Evidence for age dependent cohorts and geographical distribution. *European Journal of Epidemiology*, 11(1), 47–54. <https://doi.org/10.1007/BF01719945>
- Marrie, T. J., Stein, A., Janigan, D., & Raoult, D. (1996). Route of infection determines the clinical manifestations of acute Q fever. *Journal of Infectious Diseases*, 173(2), 484–487. <https://doi.org/10.1093/infdis/173.2.484>
- Martinez, E., Cantet, F., Fava, L., Norville, I., & Bonazzi, M. (2014). Identification of OmpA, a *Coxiella burnetii* Protein Involved in Host Cell Invasion, by Multi-Phenotypic High-Content Screening. *PLoS Pathogens*, 10(3). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004013>
- Maurin, M., & Raoult, D. (1999). *Q Fever*. 12(4), 518–553.
- Mazeri, S., Scolamacchia, F., Handel, I. G., Morgan, K. L., Tanya, V. N., & Bronsvort, B. M. d. C. (2012). Risk factor analysis for antibodies to *Brucella*, *Leptospira* and *C. burnetii* among cattle in the Adamawa Region of Cameroon: A cross-sectional study. *Tropical Animal Health and Production*, 45(1), 617–623. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0268-0>
- Mccaughey, C., Murray, L. J., Mckenna, J. P., Menzies, F. D., Mccullough, S. J., O'neill, H. J., ... Coyle, P. V. (2010). *Coxiella burnetii* (Q fever) seroprevalence in cattle. *Epidemiology and Infection*, 138(1), 21–27. <https://doi.org/10.1017/S0950268809002854>
- Mcquiston, J. H., & Childs, J. E. (2002). *Q Fever in the United States*. 2(3).
- Mcquiston, J. H., Childs, J. E., & Thompson, H. A. (2002). *Zoonosis Q Fever*. 796–799.
- Mcquiston, J. H., Holman, R. C., Mccall, C. L., Childs, J. E., Swerdlow, D. L., & Thompson, H. A. (2006). National surveillance and the epidemiology of human Q fever in the United States, 1978-2004. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 75(1), 36–40. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2006.75.1.0750036>
- Meadows, S., Jones-Bitton, A., McEwen, S., Jansen, J., & Menzies, P. (2015). *Coxiella burnetii* seropositivity and associated risk factors in goats in Ontario, Canada. *Preventive Veterinary Medicine*, 121(3–4), 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.06.014>
- Melenotte, C., Protopopescu, C., Million, M., Edouard, S., Carrieri, M. P., Eldin, C., ... Raoult, D. (2018). Clinical Features and Complications of *Coxiella burnetii* Infections From the French National Reference Center for Q Fever. *JAMA Network Open*, 1(4), e181580. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.1580>

- Meredith, A. L., Cleaveland, S. C., Denwood, M. J., Brown, J. K., & Shaw, D. J. (2015). Coxiella burnetii (Q-Fever) Seroprevalence in Prey and Predators in the United Kingdom: Evaluation of Infection in Wild Rodents, Foxes and Domestic Cats Using a Modified ELISA. *Transboundary and Emerging Diseases*, 62(6), 639–649. <https://doi.org/10.1111/tbed.12211>
- Mertens, K., Gerlach, C., Neubauer, H., & Henning, K. (2017). Q fever – An Update. *Current Clinical Microbiology Reports*, 4(1), 61–70. <https://doi.org/10.1007/s40588-017-0059-5>
- Metzger, S. A., Hernandez, L. L., Skarlupka, J. H., Walker, T. M., Suen, G., & Ruegg, P. L. (2018). A cohort study of the milk microbiota of healthy and inflamed bovine mammary glands from dryoff through 150 days in milk. *Frontiers in Veterinary Science*, 5(OCT), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00247>
- Milazzo, A., Hall, R., Storm, P. A., Harris, R. J., Winslow, W., & Marmion, B. P. (2001). Sexually Transmitted Q Fever. *Clinical Infectious Diseases*, 33(3), 399–402. <https://doi.org/10.1086/321878>
- Million, M., & Raoult, D. (2015). Recent advances in the study of Q fever epidemiology, diagnosis and management. *Journal of Infection*, 71(S1), S2–S9. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2015.04.024>
- Ministerio de Salud. (2017). *Identificado agente causal de brote inusitado en Osorno*.
- Ministerio del Interior y Seguridad Pública. (2018). Diario Oficial. *Diario Oficial*, 6(6.035), 6.173.
- Minor, C., Kersh, G. J., Gelatt, T., Kondas, A. V., Pabilonia, K. L., Weller, C. B., ... Duncan, C. G. (2013). Coxiella burnetii in northern fur seals and steller sea lions of Alaska. *Journal of Wildlife Diseases*, 49(2), 441–446. <https://doi.org/10.7589/2012-09-226>
- Mori, M., & Roest, H. J. (2018). Farming, Q fever and public health: Agricultural practices and beyond. *Archives of Public Health*, 76(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13690-017-0248-y>
- Morroy, G., Van Der Hoek, W., Albers, J., Coutinho, R. A., Bleeker-Rovers, C. P., & Schneeberger, P. M. (2015). Population screening for chronic Q-fever seven years after a major outbreak. *PLoS ONE*, 10(7), 6–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131777>
- Muleme, M., Stenos, J., Vincent, G., Wilks, C. R., Devlin, J. M., Campbell, A., ... Firestone, S. M. (2017). Peripartum dynamics of Coxiella burnetii infections in intensively managed dairy goats associated with a Q fever outbreak in Australia. *Preventive Veterinary Medicine*, 139, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.02.006>
- Muskens, J., Wouda, W., Von Bannisseht-Wijsmuller, T., & Van Maanen, C. (2012). Prevalence of Coxiella burnetii infections in aborted fetuses and stillborn calves. *Veterinary Record*, 170(10), 260.

<https://doi.org/10.1136/vr.100378>

- Myers, E., Ehrhart, E. J., Charles, B., Spraker, T., Gelatt, T., & Duncan, C. (2013). Apoptosis in normal and *Coxiella burnetii*-infected placentas from alaskan northern fur seals (*Callorhinus ursinus*). *Veterinary Pathology*, *50*(4), 622–625. <https://doi.org/10.1177/0300985812465323>
- Nelder, M. P., Lloyd, J. E., Loftis, A. D., & Reeves, W. K. (2008). *Coxiella burnetii* in wild-caught filth flies. *Emerging Infectious Diseases*, *14*(6), 1002–1004. <https://doi.org/10.3201/eid1406.071691>
- Newton, P., Latomanski, E. A., & Newton, H. J. (2016). Applying fluorescence resonance energy transfer (FRET) to examine effector translocation efficiency by *Coxiella burnetii* during siRNA silencing. *Journal of Visualized Experiments*, *2016*(113), 1–12. <https://doi.org/10.3791/54210>
- Nusinovici, S., Frössling, J., Widgren, S., Beadeau, F., & Lindberg, A. (2015). Q fever infection in dairy cattle herds: increased risk with high wind speed and low precipitation. *Epidemiology and Infection*, *143*(15), 3316–3326. <https://doi.org/10.1017/s0950268814003926>
- OIE, A. T. (2015). Fichas de información general sobre enfermedades animales ¿ Qué es la fiebre q “query”? *Oie*, 1–6. Retrieved from <http://www.oie.int/doc/ged/D13999.PDF>
- Ordóñez, L. T. G. (2017). *Seroprevalencia y factores de riesgo de la infección por agentes reproductivos del ganado bovino (Brucella spp., Coxiella burnetii, Leptospira interrogans serovar Hardjo y Neospora caninum) en explotaciones lechera y de doble propósito de Ecuador*. Universidad de Córdoba.
- Organización Mundial de Sanidad Animal [OIE]. (2015). *Coxevac / Vacuna frente a Coxiella Burnetii (Fiebre Q)*. *44*(0).
- Organización Mundial de Sanidad Animal [OIE]. (2018). *Zonificación y compartimentación*. 2–7.
- Oropeza, M., Dickson, L., Maldonado, J., & Kowalski, A. (2010). Seropositividad a *Coxiella burnetii* en cabras de la parroquia Trinidad Samuel del municipio Torres, estado Lara, Venezuela. *Zootecnia Tropical*, *28*(4), 557–560.
- Pacheco, R. C., Echaide, I. E., Alves, R. N., Beletti, M. E., Nava, S., & Labruna, M. B. (2013). *Coxiella burnetii* in ticks, argentina. *Emerging Infectious Diseases*, *19*(2), 344–346. <https://doi.org/10.3201/eid1902.120362>
- Panaiotov, S., Ciccozzi, M., Brankova, N., Levterova, V., Mitova-Tiholova, M., Amicosante, M., ... Kantardjiev, T. (2009). An outbreak of Q fever in Bulgaria. *Annali Dell'Istituto Superiore Di Sanita*, *45*(1), 83–86.
- Paul, S., Agger, J. F., Agerholm, J. S., & Markussen, B. (2014). Prevalence and risk factors of *Coxiella burnetii* seropositivity in Danish beef and dairy cattle at slaughter adjusted for test uncertainty. *Preventive Veterinary Medicine*, *113*(4), 504–511. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.01.018>

- Pérez, I. A. (2012). *Distribución de coxiella burnetii en los ruminantes domésticos y en la fauna silvestre de la comunidad autónoma vasca. evaluación del efecto del tratamiento antibiótico y de la vacunación en el control de la fiebre q en rebaños ovinos naturalmente infectad*. Retrieved from https://www.euskadi.eus/contenidos/documentacion/tesis_doctorales/es_a_gripes/adjuntos/Tesis74.pdf
- Pexara, A., Solomakos, N., & Govaris, A. (2018). Q fever and prevalence of *Coxiella burnetii* in milk. *Trends in Food Science and Technology*, 71(September 2017), 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.004>
- Pijnacker, R., Reimerink, J., Smit, L. A. M., van Gageldonk-Lafeber, A. B., Zock, J. P., Borlée, F., ... van der Hoek, W. (2017). Remarkable spatial variation in the seroprevalence of *Coxiella burnetii* after a large Q fever epidemic. *BMC Infectious Diseases*, 17(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2813-y>
- Plummer, P. (2019). Overview of *Coxiella Burnetii*. In *Merck Veterinary Manual* (pp. 1–2). Retrieved from <https://www.merckvetmanual.com/generalized-conditions/coxiellosis/overview-of-coxiellosis>
- Plummer, P. J., McClure, J. T., Menzies, P., Morley, P. S., Van den Brom, R., & Van Metre, D. C. (2018). Management of *Coxiella burnetii* infection in livestock populations and the associated zoonotic risk: A consensus statement. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(5), 1481–1494. <https://doi.org/10.1111/jvim.15229>
- Porten, K., Rissland, J., Tigges, A., Broll, S., Hopp, W., Lunemann, M., ... Buchholz, U. (2006). A super-spreading ewe infects hundreds with Q fever at a farmers' market in Germany. *BMC Infectious Diseases*, 6, 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-6-147>
- Potter, A. S., Banazis, M. J., Yang, R., Reid, S. A., & Fenwick, S. G. (2011). Prevalence of *Coxiella burnetii* in western grey kangaroos (*Macropus fuliginosus*) in Western Australia. *Journal of Wildlife Diseases*, 47(4), 821–828. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-47.4.821>
- Rahal, M., Tahir, D., Eldin, C., Bitam, I., Raoult, D., & Parola, P. (2018). Genotyping of *Coxiella burnetii* detected in placental tissues from aborted dairy cattle in the north of Algeria. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 57(June), 50–54. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2018.06.001>
- Raoult, D., Marrie, T. J., & Mege, J. L. (2005). Natural history and pathophysiology of Q fever. *Lancet Infectious Diseases*, 5(4), 219–226. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(05\)70052-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(05)70052-9)
- Rivas, E. (2015). *ESTUDIO DE IMPACTO AMBIENTAL Y PLAN DE MANEJO REYBANPAC REY BANANO DEL PACÍFICO C.A Hacienda Oleaginosas*. Retrieved from <http://www.reybanpac.com/pdf/EiaHdaOleaginosasReybanpac.pdf>

- Rizzo, F., Vitale, N., Ballardini, M., Borromeo, V., Luzzago, C., Chiavacci, L., & Mandola, M. L. (2016). Q fever seroprevalence and risk factors in sheep and goats in northwest Italy. *Preventive Veterinary Medicine*, 130. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.05.014>
- Rodolakis, A. (2006). Q fever, state of art: Epidemiology, diagnosis and prophylaxis. *Small Ruminant Research*, 62(1-2 SPEC. ISS.), 121–124. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.07.038>
- Rodolakis, A., Berri, M., Héchard, C., Caudron, C., Souriau, A., Bodier, C. C., ... Arricau-Bouvery, N. (2007). Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine, and ovine herds. *Journal of Dairy Science*, 90(12), 5352–5360. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-815>
- Rodolakis, Annie. (2009). Q fever in dairy animals. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1166, 90–93. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04511.x>
- Roest, H. I. J., Tilburg, J. J. H. C., Van Der Hoek, W., Vellema, P., Van Zijderveld, F. G., Klaassen, C. H. W., & Raoult, D. (2011). The Q fever epidemic in the Netherlands: History, onset, response and reflection. *Epidemiology and Infection*, 139(1), 1–12. <https://doi.org/10.1017/S0950268810002268>
- Roest, H. I., Post, J., Van Gelderen, B., Van Zijderveld, F. G., & Rebel, J. M. (2013). Q fever in pregnant goats: Humoral and cellular immune responses. *Veterinary Research*, 44(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-44-67>
- Roest, H. J., van Gelderen, B., Dinkla, A., Frangoulidis, D., van Zijderveld, F., Rebel, J., & van Keulen, L. (2012). Q Fever in Pregnant Goats: Pathogenesis and Excretion of *Coxiella burnetii*. *PLoS ONE*, 7(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048949>
- Rojas, M. I., Barragán, V., Trueba, G., Hornstra, H., Pearson, T., & Keim, P. (2012). *UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO Detección de Coxiella burnetii en leche de bovinos del Ecuador María Isabel Rojas Mencías Proyecto Final presentada como requisito para la obtención del título de Licenciatura en Biotecnología*. 1–53. Retrieved from <http://www.usfq.edu.ec/Publicaciones/Avances/B5-5-1-2013>
- Romero, T. G.-S. (2018). *Epidemiología de la fiebre Q en rumiantes domésticos en la zona central de la península ibérica*. Universidad Complutense Madrid.
- Russell-Lodrigue, K. E., Andoh, M., Poels, M. W. J., Shive, H. R., Weeks, B. R., Zhang, G. Q., ... Samuel, J. E. (2009). *Coxiella burnetii* isolates cause genogroup-specific virulence in mouse and guinea pig models of acute Q fever. *Infection and Immunity*, 77(12), 5640–5650. <https://doi.org/10.1128/IAI.00851-09>
- Saegerman, C., Speybroeck, N., Dal Pozzo, F., & Czaplicki, G. (2015). Clinical Indicators of Exposure to *Coxiella burnetii* in Dairy Herds. *Transboundary and Emerging Diseases*, 62(1), 46–54. <https://doi.org/10.1111/tbed.12070>
- Sandoz, K. M., Popham, D. L., Beare, P. A., Sturdevant, D. E., Hansen, B., Nair,

- V., & Heinzen, R. A. (2016). Transcriptional profiling of *Coxiella burnetii* reveals extensive cell wall remodeling in the small cell variant developmental form. *PLoS ONE*, *11*(2), 1–24. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149957>
- Schimmer, B. (2018). *Dutch Q fever epidemic in a ' One Health ' context : outbreaks , seroprevalence and occupational risks.*
- Schneeberger, P. M., Wintenberger, C., van der Hoek, W., & Stahl, J. P. (2014). Q fever in the Netherlands - 2007-2010: What we learned from the largest outbreak ever. *Medecine et Maladies Infectieuses*, *44*(8), 339–353. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.02.006>
- Schukken, Y. H., Barkema, H. W., Lam, T. J., & Zadoks, R. N. (2007). Avances recientes en calidad de leche y control de mastitis en explotaciones lecheras. *Cys*, *40*, 34–43. Retrieved from http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/40/cys_40_calidad_leche.pdf
- Selby, D. F. (2018). Appendix 1. Q fever Hazard Identification. *Human Rights in Thailand*, (January), 147–148. <https://doi.org/10.9783/9780812295108-010>
- Sellens, E., Norris, J. M., Dhand, N. K., Heller, J., Hayes, L., Gidding, H. F., ... Bosward, K. L. (2018). Willingness of veterinarians in Australia to recommend Q fever vaccination in veterinary personnel: Implications for workplace health and safety compliance. *PLoS ONE*, *13*(6), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198421>
- Selmi, R., Mamlouk, A., Ben Yahia, H., Abdelaali, H., Ben Said, M., Sellami, K., ... Messadi, L. (2018). *Coxiella burnetii* in Tunisian dromedary camels (*Camelus dromedarius*): Seroprevalence, associated risk factors and seasonal dynamics. *Acta Tropica*, *188*, 234–239. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.09.008>
- Seo, M. G., Ouh, I. O., Lee, S. H., & Kwak, D. (2016). Detection and genotyping of *Coxiella burnetii* in pigs, South Korea, 2014–2015. *Emerging Infectious Diseases*, *22*(12), 2192–2195. <https://doi.org/10.3201/eid2212.161236>
- Serrano-Pérez, B., Almería, S., Tutusaus, J., Jado, I., Anda, P., Monleón, E., ... López-Gatius, F. (2015). *Coxiella burnetii* total immunoglobulin G, phase I and phase II immunoglobulin G antibodies, and bacterial shedding in young dams in persistently infected dairy herds. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *27*(2), 167–176. <https://doi.org/10.1177/1040638715571993>
- Seshadri, R., Paulsen, I. T., Eisen, J. A., Read, T. D., Nelson, K. E., Nelson, W. C., ... Heidelberg, J. F. (2003). Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *100*(9), 5455–5460. <https://doi.org/10.1073/pnas.0931379100>
- Shakespeare, M. (2009). *Zoonoses* (Seond; R. Publishing, Ed.). Retrieved from http://www.ghbook.ir/index.php?name=فرهنگ و رسانه های نوین&option=com_dbook&task=readonline&book_id=13650&page=73&chkh

ashk=ED9C9491B4&Itemid=218&lang=fa&tmpl=component

- Shapiro, A. J., Norris, J. M., Bosward, K. L., & Heller, J. (2017). Q Fever (*Coxiella burnetii*) Knowledge and Attitudes of Australian Cat Breeders and Their Husbandry Practices. *Zoonoses and Public Health*, 64(4), 252–261. <https://doi.org/10.1111/zph.12305>
- Shivaprasad, A. H. L., Cadenas, M. B., Diab, S. S., Nordhausen, R., Bradway, D., Crespo, R., ... Cadenas, B. (2014). *Coxiella-Like Infection in Psittacines and a Toucan*. 52(3), 426–432.
- Signs, K., Stobierski, M., Gandhi, T., Hanson, J., Lam, S., Mahanta, K. C., ... Nicholas, J. (2012). *Q fever Cluster Among Raw Milk Drinkers, Michigan, 2011*. 1–26.
- Sobotta, K., Hillarius, K., Mager, M., Kerner, K., Heydel, C., & Menge, C. (2016). *Coxiella burnetii* Infects Primary Bovine Macrophages and Limits. *Infection and Immunity*, 84(6), 1722–1734. <https://doi.org/10.1128/IAI.01208-15.Editor>
- Somma Moreira, R. E., Caffarena, R. M., Pérez, G., Somma Saldias, S., & Monteiro, M. (2007). Fiebre “Q” en Uruguay. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, Vol. 29, pp. 168–173. <https://doi.org/10.1590/s0036-46651987000300009>
- Stein, A., & Raoult, D. (1999). Pigeon Pneumonia in Provence: A Bird-Borne Q Fever Outbreak. *Clinical Infectious Diseases*, 617–620. Retrieved from http://www.ghbook.ir/index.php?name=فرهنگ و رسانه های نوین&option=com_dbook&task=readonline&book_id=13650&page=73&chkh_ashk=ED9C9491B4&Itemid=218&lang=fa&tmpl=component
- Sting, R., Molz, K., Philipp, W., Bothe, F., Runge, M., & Ganter, M. (2013). Quantitative real-time PCR and phase specific serology are mutually supportive in Q fever diagnostics in goats. *Veterinary Microbiology*, 167(3–4), 600–608. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.09.015>
- Szymanska-Czerwinska, M., Jodelko, A., Pluta, M., Kowalk, S., & Niemczuk, K. (2011). *Seroprevalence of Coxiella burnetii among domestic ruminants and horses in Poland*. 101–106. <https://doi.org/10.4149/av>
- Taurel, A. F., Guatteo, R., Joly, A., Seegers, H., & Beaudeau, F. (2011). Seroprevalence of Q fever in naturally infected dairy cattle herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 101(1–2), 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.05.005>
- Tempelman, C., Prins, J., & Koopmans, C. (2011). *Economische gevolgen van de uitbraak van Q- koorts*.
- To, H., Htwe, K. K., Kako, N., Kim, H. J., Yamaguchi, T., Fukushi, H., & Hirai, K. (1998). Prevalence of *Coxiella burnetii* Infection in Dairy Cattle with Reproductive Disorders. *Journal of Veterinary Medical Science*, 60(7), 859–861. <https://doi.org/10.1292/jvms.60.859>

- Toman, R., Skultety, L., & Ihnatko, R. (2009). Coxiella burnetii Glycomics and Proteomics - Tools for Linking Structure to Function. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1166, 67–78. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04512.x>
- Torgerson, P. R., Rüegg, S., Devleeschauwer, B., Abela-Ridder, B., Havelaar, A. H., Shaw, A. P. M., ... Speybroeck, N. (2018). zDALY: An adjusted indicator to estimate the burden of zoonotic diseases. *One Health*, 5(August 2017), 40–45. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2017.11.003>
- USDA APHIS. (2011). *Prevalence of Coxiella burnetii in Bulk-tank Milk on U . S . Dairy Operations , 2007*. (March).
- Vaidya, V. M., Malik, S. V. S., Bhilegaonkar, K. N., Rathore, R. S., Kaur, S., & Barbudde, S. B. (2010). Prevalence of Q fever in domestic animals with reproductive disorders. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 33(4), 307–321. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2008.10.006>
- van Asseldonk, M. A. P. M., Bontje, D. M., Backer, J. A., van Roermund, H. J. W., & Bergevoet, R. H. M. (2015). Economic aspects of Q fever control in dairy goats. *Preventive Veterinary Medicine*, 121(1–2), 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.06.010>
- Van Asseldonk, M. A. P. M., Prins, J., & Bergevoet, R. H. M. (2013). Economic assessment of Q fever in the Netherlands. *Preventive Veterinary Medicine*, 112(1–2), 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.06.002>
- Van den Brom, R., van Engelen, E., Roest, H. I. J., van der Hoek, W., & Vellema, P. (2015). Coxiella burnetii infections in sheep or goats: An opinionated review. *Veterinary Microbiology*, 181(1–2), 119–129. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.07.011>
- Van Den Brom, René, Roest, H. J., De Bruin, A., Dercksen, D., Santman-Berends, I., Van Der Hoek, W., ... Vellema, P. (2015). A probably minor role for land-applied goat manure in the transmission of Coxiella burnetii to humans in the 2007-2010 Dutch Q fever outbreak. *PLoS ONE*, 10(3), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121355>
- van Engelen, E., Schotten, N., Schimmer, B., Hautvast, J. L. A., van Schaik, G., & van Duijnhoven, Y. T. H. P. (2014). Prevalence and risk factors for Coxiella burnetii (Q fever) in Dutch dairy cattle herds based on bulk tank milk testing. *Preventive Veterinary Medicine*, 117(1), 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.08.016>
- Van Woerden, H. C., Mason, B. W., Nehaul, L. K., Smith, R., Salmon, R. L., Healy, B., ... Williams, N. S. (2004). Q fever outbreak in industrial setting. *Emerging Infectious Diseases*, 10(7), 1282–1289. <https://doi.org/10.3201/eid1007.030536>
- Velasco, F. P. (2007). Ciclo evolutivo y variación de fase en Coxiella burnetii. *Medicina Clínica*, 129(15), 597–598. <https://doi.org/10.1157/13111714>

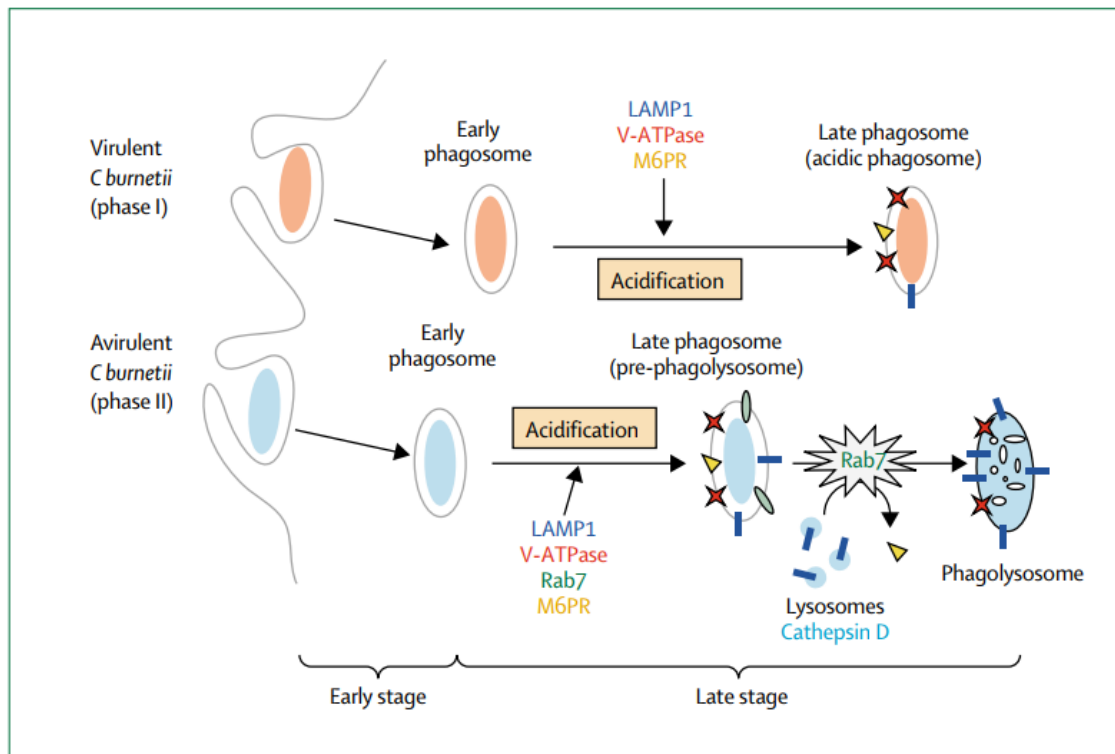
- Vicari, N., Faccini, S., Ricchi, M., Garbarino, C., Decastelli, L., Boldini, M., ... Fabbi, M. (2013). Occurrence of *Coxiella burnetii* in bulk tank milk from northwestern Italy. *Veterinary Record*, *172*(26), 2013–2015. <https://doi.org/10.1136/vr.101423>
- Vidal, S., Kegler, K., Greub, G., Aeby, S., Borel, N., Dagleish, M. P., ... Rodriguez-Campos, S. (2017). Neglected zoonotic agents in cattle abortion: Tackling the difficult to grow bacteria. *BMC Veterinary Research*, *13*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1294-y>
- Vincent, G. A., Graves, S. R., Robson, J. M., Nguyen, C., Hussain-Yusuf, H., Islam, A., ... Stenos, J. (2015). Isolation of *Coxiella burnetii* from serum of patients with acute Q fever. *Journal of Microbiological Methods*, *119*. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.10.008>
- Voth, D. E., & Heinzen, R. A. (2007). Lounging in a lysosome: The intracellular lifestyle of *Coxiella burnetii*. *Cellular Microbiology*, *9*(4), 829–840. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2007.00901.x>
- Walraph, J., Zoche-Golob, V., Weber, J., & Freick, M. (2018). Decline of antibody response in indirect ELISA tests during the periparturient period caused diagnostic gaps in *Coxiella burnetii* and BVDV serology in pluriparous cows within a Holstein dairy herd. *Research in Veterinary Science*, *118*(January), 91–96. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.01.018>
- Whelan, J., Schimmer, B., Schneeberger, P., Meekelenkamp, J., Ijff, A., van der Hoek, W., & van Beest Holle, M. R. D. R. (2011). Q fever among culling workers, the Netherlands, 2009-2010. *Emerging Infectious Diseases*, *17*(9), 1719–1723. <https://doi.org/10.3201/eid1709.110051>
- Whitney, E. A. S., Massung, R. F., Candee, A. J., Ailes, E. C., Myers, L. M., Patterson, N. E., & Berkelman, R. L. (2009). Seroepidemiologic and Occupational Risk Survey for *Coxiella burnetii* Antibodies among US Veterinarians . *Clinical Infectious Diseases*, *48*(5), 550–557. <https://doi.org/10.1086/596705>
- Wielders, C. C. H., Van Loenhout, J. A. F., Morroy, G., Rietveld, A., Notermans, D. W., Wever, P. C., ... Schneeberger, P. M. (2015). Long-term Serological follow-up of acute Q-fever patients after a large epidemic. *PLoS ONE*, *10*(7), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131848>
- Woldehiwet, Z. (2004). Q fever (coxiellosis): Epidemiology and pathogenesis. *Research in Veterinary Science*, *77*(2), 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2003.09.001>
- Wulansari, N., Mahawati, E., & Hartini, E. (2013). *The societal costs of Q fever outbreak in the Netherlands*. (June).
- Yohannes, G. (2018). Review on Q fever in Small Ruminants and its Public Health Importance. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, *9*(1), 1–10. <https://doi.org/10.26717/bjstr.2018.09.001754>
- Zambrano, J., & Díaz, S. (2016). Guía para la correcta toma de sangre en

bovinos. *Medvet*, 12(6), 1–4. Retrieved from http://medicinaveterinariaydezootecnia.bogota.unal.edu.co/fileadmin/FVMZ/Servicios/bioetica/Pro_autorizados/001_Guia_toma_sangre_bovinos.pdf

Zubair, M., Akram, S., Hanif, K., Rabbani, M., Muhammad, J., Hamid, M., ... Jayarao, B. M. (2016). Evidence of *Coxiella burnetii* in Punjab province, Pakistan. *Acta Tropica*, 163, 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.07.017>

ANEXOS

Anexo 1. Tránsito de *Coxiella burnetii* en los macrófagos.



La fagocitosis de la fase I virulenta conduce a la formación temprana de un fagolisosoma que adquiere marcadores endosómicos y lisosomales (catepsina D), lo que resulta en la acidificación del fagolisosoma.

La fagocitosis de la fase II avirulenta conduce a la formación temprana y tardía de fagosomas, el marcador Rab7 está envuelto en la maduración del fagosoma tardío, mientras adquiere catepsina D, para acidificar el ambiente.

Tomado de Newton, Latomanski, & Newton, 2016.

Anexo 2. Toma de muestras sanguíneas en la Hacienda "San Pedro".



La extracción de sangre mediante la venopunción de la vena coccígea estuvo guiada por el protocolo tomado de Zambrano & Díaz, 2016.

Anexo 3. Hacienda donde se llevó a cabo el proyecto de titulación.



El registro de datos se maneja con una base digital a través de la implementación de un chip intraruminal para identificación de los animales.

Anexo 4. Hacienda ubicada en la región costa, provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas.



El sistema de producción en la hacienda es semi intensivo, aunque en las otras haciendas el sistema de producción que se maneja es el intensivo. Todas las haciendas se trabajan con un sistema de alta producción, incluso para el ordeño manejan sistemas rotativos conocidos como ordeño en carrusel.

Anexo 5. Actividad de rotativo y extracción de datos para el presente estudio de titulación.



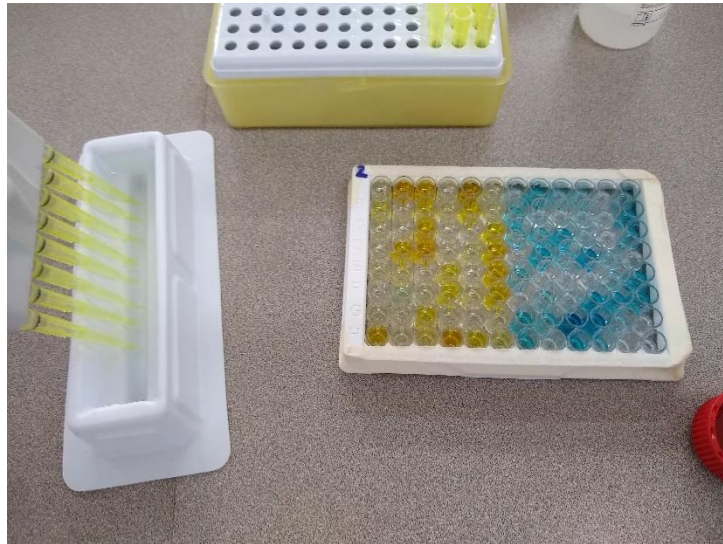
Se observa al autor luego de una jornada laboral. El conocimiento, el ímpetu y el deseo de seguir creciendo ha llevado al culmino de esta investigación.

Anexo 6. Almacenamiento de las muestras biológicas para su procesamiento.



El almacenamiento se realizó a 4°C. Se procesaron 1032 muestras de suero sanguíneo para ELISA indirecto.

Anexo 7. Momento del procesamiento de las muestras de suero para ELISA indirecto.



Se observa las micropipetas utilizadas, el pocillo con el reactivo y la placa ELISA con la formación del complejo antígeno-anticuerpo.

Anexo 8. Procesamiento de las placas de ELISA.



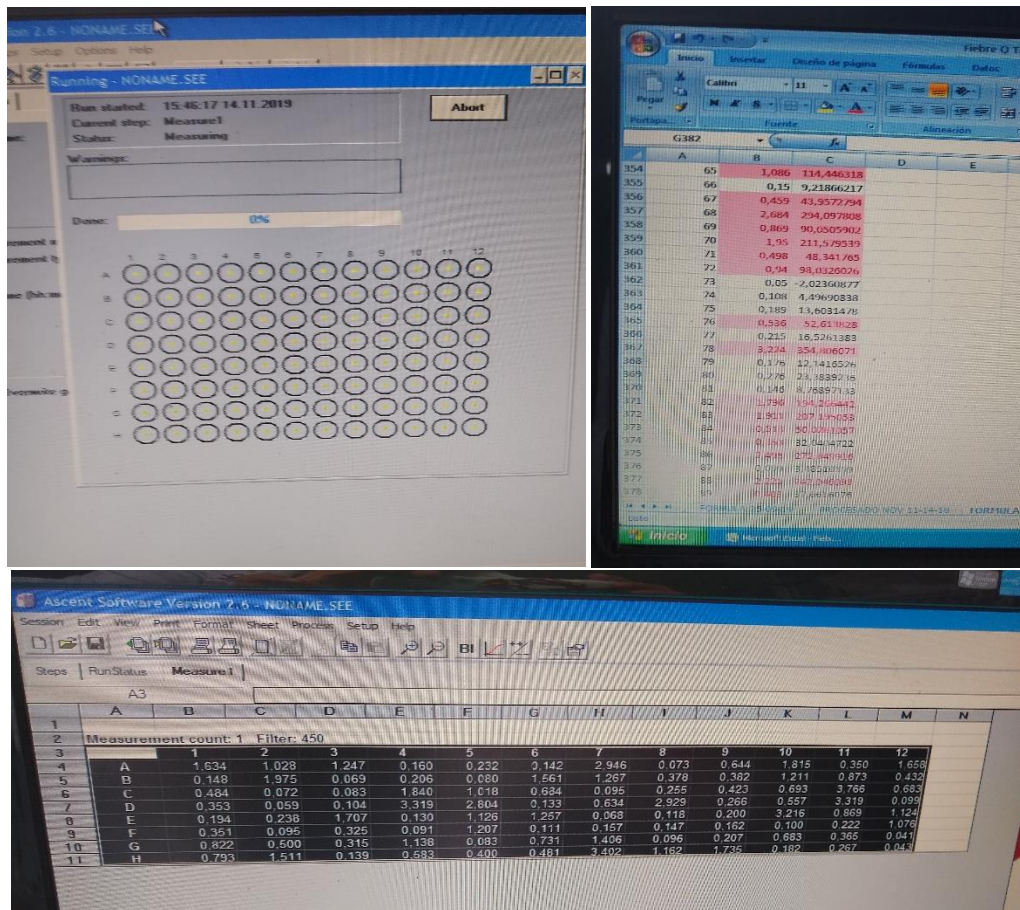
A la izquierda se puede observar las placas reposando en obscuridad luego de la colocación del sustrato, que permite revelar el complejo antígeno-anticuerpo. A la derecha se observa la placa lista para la lectura donde se ha colocado la solución de revelado.

Anexo 9. Espectrofotómetro, lector de ELISA.



En las imágenes se observa al autor colocando la placa para la lectura mediante la espectrofotómetro, con ello los resultados se obtendrán transcurrido 1-2 minutos.

Anexo 10. Programa con los resultados



Las imágenes muestran los resultados de la lectura se vinculaban con un programa informático, donde se podía realizar los análisis correspondientes para la validación del diagnóstico.

