

ESTUDIO DE SEROPREVALENCIA DE FIEBRE Q EN EL ÁREA DE ACTUACIÓN DEL HOSPITAL GENERAL DE VALENCIA

Autores:

**DOLZ SANCHIS, VICENTE.,
AZNAR GÓMEZ, ELISA.,
MARTÍNEZ ALBIR, EMILIO.,
VIDAL RICO, ELENA.,
VALENCIA**

INTRODUCCIÓN

ETIOLOGÍA E HISTORIA.

La Fiebre Q fue descrita por Derrick en Brisbane (Queensland Australia) en 1937. En su ya clásico trabajo, Derrick (1) comunicó un brote epidémico de una enfermedad febril entre los trabajadores de un matadero de esa ciudad australiana en 1935. Por sus características le pareció una enfermedad infecciosa, sin embargo al no encontrar una explicación etiológica, supuso que estaba producida por un microorganismo no conocido hasta entonces y la denominó Q Fever (de la palabra inglesa query, traducible por interrogación, duda o pregunta). Algo más tarde, Burnet y Freeman (2), a partir de tejidos de cobayas inoculados por Derrick con sangre y orina de los enfermos, consiguió aislar un microorganismo que identificaron como una rickettsia .

Casi por la misma época en que Derrick hiciera sus observaciones en Australia, en Nine Mile Creek, Montana (EEUU), Davis y Cox detectaron un agente filtrable en la garrapata *Dermacentor andersoni* (3). Se trataba de un germen con características similares a una rickettsia y que era transmisible al cobaya, el cual desarrollaba fiebre y esplenomegalia. Un investigador de laboratorio sufrió, en el curso de estos estudios, un cuadro muy parecido al descrito por Derrick en Australia (4,5). Como el nuevo agente era filtrable, Cox (6) propuso por entonces el nombre de *Rickettsia diapórica* para denominarlo.

Posteriormente, estudios microbiológicos y serológicos pusieron de manifiesto que el germen descrito en Australia y el hallado en garrapatas de Montana, eran el mismo microorganismo y en honor de Cox y Burnet, recibió el nombre de *Coxiella burneti*, denominación que tiene desde entonces (4). El cuadro clínico característico de la Fiebre Q humana descrito por Derrick en su primer trabajo (1), fue detallado y ampliado posteriormente por el mismo autor en una revisión de 1973 (7).

En España, los primeros aislamientos de *Coxiella burneti*, datan de 1949 cuando Perez Gallart y colaboradores la encontraron en tres especies de garrapatas (*Hyalomma marginatum*, *Rhipicephalus bursa* y *Rhipicephalus sanguineus*) recogidas de animales en Sevilla y Madrid.

En 1950 se comunicó el primer caso español de Fiebre Q humana en la provincia de Salamanca (8), y en 1952, se detectó la presencia de anticuerpos específicos de la enfermedad en conejos de monte y lirones en la provincia de Madrid .

Al principio de los años 70, autores finlandeses describieron tres casos de Fiebre Q humana en turistas que acababan de visitar Tenerife (Islas Canarias) (9). A partir de la década de los 80, el interés por la Fiebre Q se generaliza en nuestro país, detectándose la enfermedad en todos los sitios en que se ha buscado. Mención especial merece el primer gran brote epidémico español de Fiebre Q que se dió en Murguía (Alava) en 1981 (10,11).

Una de las características principales de la Fiebre Q es el gran polimorfismo de sus manifestaciones clínicas. En fase aguda, es común el síndrome febril de origen desconocido y/o hepatitis granulomatosa , neumonía y meningoencefalitis. Además, se han descrito casos de

exantema febril, miocarditis y pericarditis. En infección crónica, la endocarditis es el síndrome más común.

Es de destacar la importancia, en este microorganismo, de su variación de fase antigénica. La fase I (virulenta), ha sido aislada de animales y humanos infectados de forma natural o en el laboratorio, mientras que la fase II (avirulenta), se produce tras pases seriados en huéspedes inmunodeprimidos y cultivos celulares. La variación de fase, ha sido relacionada con cambios en el lipopolisacárido (12,13).

Algunos autores (14,15), han sugerido que hay una correlación entre el tipo de lipopolisacárido, el tamaño del plásmido y las manifestaciones clínicas de la infección (aguda o crónica), pero existen grandes controversias al respecto.

El reservorio de la *Coxiella burnetii* es sólo parcialmente conocido. Clásicamente los animales de granja como vacas, cabras y ovejas, son el principal reservorio, pero recientemente se ha descrito que, animales domésticos como gatos y perros, también pueden estar infectados, lo que justificaría las epidemias urbanas. Todos estos animales, cuando están infectados, diseminan organismos resistentes a la desecación en orina, heces y leche. Debido a su extrema resistencia a agentes físicos, la *Coxiella burnetii* sobrevive durante largos períodos en el ambiente y puede ser dispersada por el viento a largas distancias

La infección en humanos, ocurre como resultado de la inhalación de partículas infectadas con mayor frecuencia que por la ingestión de productos lácteos contaminados. Además, esporádicamente, se puede producir la infección por transfusión de sangre infectada y transplacentariamente, produciendo infecciones congénitas. Así mismo, la Fiebre Q se considera una enfermedad ocupacional para las personas que trabajan con animales de granja (16,17).

DIAGNOSTICO.-

La gran variedad de sus manifestaciones clínicas, así como la existencia de formas asintomáticas, hacen difícil el diagnóstico de la infección por *Coxiella burnetii*, como ocurre con la endocarditis por Fiebre Q cuyo diagnóstico normalmente se retrasa de 12 a 24 meses debido, además, a que esta entidad raramente se tiene en consideración. Esto constituye un problema grave, teniendo en cuenta que algunas formas crónicas pueden llegar a ser letales.

Es importante por ello, para un diagnóstico correcto, que exista un alto grado de sospecha clínica, unido a técnicas específicas de laboratorio que incluyan, el aislamiento de *Coxiella burnetii* a partir de muestras sanguíneas o tejidos por técnicas de cultivo celular clásico y/o Shell Vial, así como amplificación y detección del ADN bacteriano (18,19). El cultivo en Shell Vial es útil, no sólo para el aislamiento de *Coxiella burnetii*, sino también para determinar la susceptibilidad a los antibióticos (20,21).

Es posible la demostración de *Coxiella burnetii* mediante tinciones de Koster, Stamp, Giemsa y Gimenez (figura 1) y su recuperación en cultivos celulares procesando material valvular cardíaco en los casos en los que se procede a la sustitución valvular protésica (30).



Figura 1. Coxiella burnetii Fase I. Tinción de Gimenez.

Sin embargo, el diagnóstico más ampliamente utilizado es el indirecto, para el cual disponemos de técnicas de reacción de fijación del complemento (CF) y de inmunofluorescencia indirecta (IFI).

La CF es una técnica poco sensible, pudiendo dar resultados falsos negativos sobre todo en las formas crónicas, mientras que la IFI, además de considerarse técnica de referencia, presenta mayor sencillez, rapidez, sensibilidad y ausencia de interferencias con los sueros anticomplementémicos de algunos pacientes. Además, la IFI permite identificar las distintas clases de inmunoglobulinas (IgG, IgA e IgM) (22,23).

Para el diagnóstico de las formas agudas (antígeno en fase II), se consideran significativos títulos de anticuerpos de clase IgG $> 0 = a 1/128$ y de anticuerpos de clase IgM $> 0 = a 1/32$. En las formas crónicas (antígeno en fase I), la detección de títulos de anticuerpos de clase IgG $> 0 = a 1/800$ es diagnóstico.

Algunos autores (24), han propuesto una prueba de ELISA para el diagnóstico, encontrándola de utilidad en algunos casos de Fiebre Q aguda, sin embargo, no añade información a los resultados obtenidos por IFI, siendo además una técnica más cara y laboriosa.

OBJETIVOS.-

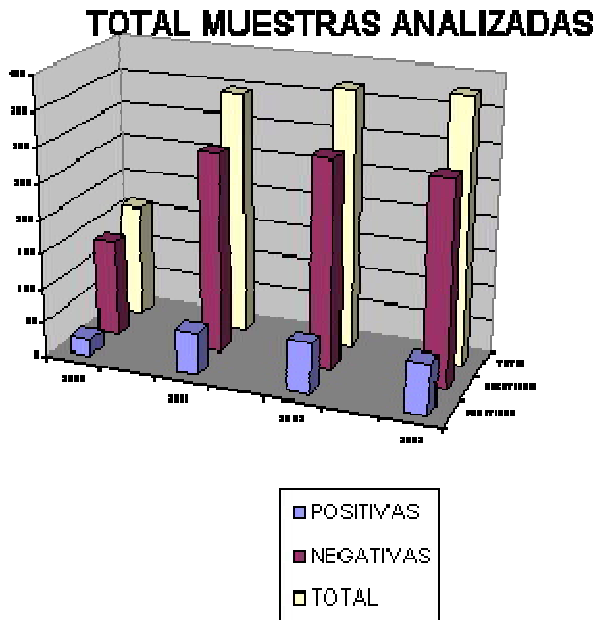
-Estudiar la seroprevalencia de la infección por Coxiella burnetii en nuestra población, para una mejor evaluación de los resultados serológicos

-Hacer hincapié en la necesidad de pensar en esta patología ante una fiebre de origen desconocido con el fin de aplicar las pruebas diagnósticas adecuadas.

-Destacar la importancia del diagnóstico precoz en la forma aguda (determinación de anticuerpos IgG e IgM y/o seroconversión), con el fin de establecer un tratamiento correcto evitando, de esta manera, las complicaciones graves a que puede dar lugar una Fiebre Q crónica.

MATERIAL Y MÉTODOS.-

En el periodo comprendido entre Enero de 2000 y Diciembre de 2003, se han analizado 1259 muestras correspondientes a 927 pacientes con sospecha clínica de infección por *Coxiella burneti* o con clínica inespecifica a los que, previamente se les habian descartado otras patologías.



Se determinaron, en todos los sueros, anticuerpos IgG e IgM frente al antígeno en fase II fijado a un portaobjetos (Bio-Merieux (75 921) utilizando inmunoglobulinas IgG (Bio-Merieux 75 692) e IgM (Bio-Merieux 75 672) para detectar ambos tipos de anticuerpos.

Previamente a la detección de anticuerpos de clase IgM, se absorbió el Factor Reumatoide, tratando a los sueros con un absorbente, siguiendo las instrucciones del fabricante (RF Absorbent Berhing DUCG 14/15).

De los 927 pacientes analizados, 81 mostraron títulos significativos, de anticuerpos de clase IgG y/o IgM frente al antígeno en fase II. De ellos, seleccionamos 19 que mostraban clínica compatible con Fiebre Q crónica.

En estos 19 pacientes, determinamos anticuerpos de clase IgG frente al antígeno en fase I, utilizando portaobjetos con este antígeno fijado en los pocillos, (VIRCELL PCOBUI I+II).

El procesamiento de los sueros tanto para detectar anticuerpos frente al antígeno en fase I como en fase II, se realiza siguiendo el procedimiento:

1.-Diluyéndolos con tampón PBS (pH 7,2), haciendo diluciones progresivas a partir de 1/32 para detectar anticuerpos IgG y una sola dilución, al 1/32 para anticuerpos IgM.

2.-Depositar 20 microlitros de cada dilución en el correspondiente pocillo del portaobjetos.

3.-Incubar los portaobjetos durante 30 minutos en cámara húmeda y a 37°C.

4.-Lavar los portas con PBS, primero en reposo durante 5 minutos y después cambiando el tampón, durante otros 5 minutos en agitación.

5.-Secar con un ventilador.

6.-Añadir 20 microlitros de anti IgG y anti IgM previamente diluidas con azul de Evans, al 1/10.000, al 1/40 para la IgG y al 1/10 para la IgM en los pocillos correspondientes.

7.- Lavar y secar como en 4 y 5.

8.-Observar al microscopio de inmunofluorescencia, con objetivo de 100X y verificar la presencia de Coxiellas fluorescentes (resultado positivo, figura 2) o la ausencia de fluorescencia, no se observan las Coxiellas (resultado negativo, figura 3). El título de anticuerpos nos lo va a dar la inversa de la última dilución en la que se observa resultado positivo.

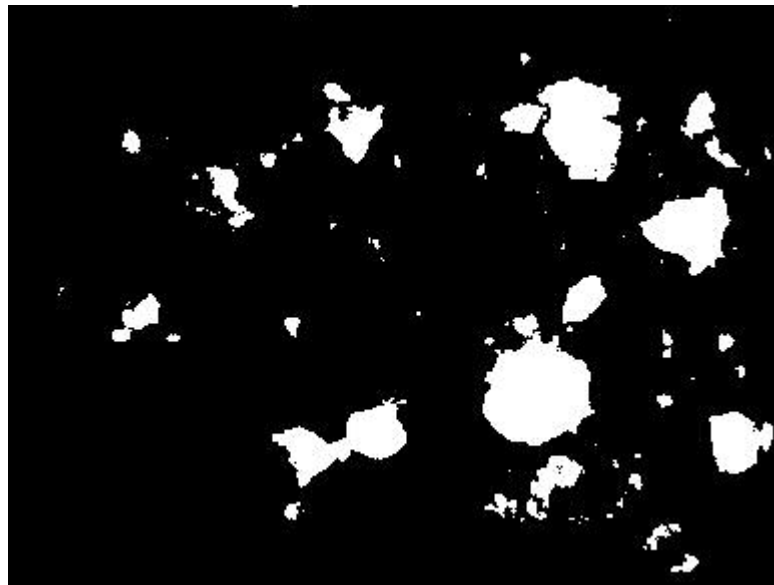


Figura 2.- Inmunofluorescencia indirecta de Coxiella burnetii. Valoración de resultado positivo.

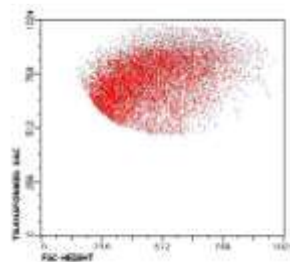


Figura 3.- Inmunofluorescencia indirecta de Coxiella burnetii. Valoración de resultado negativo.

Para el estudio de seroprevalencia, analizamos 102 muestras de donantes sanos, 43 varones y 54 mujeres con edades comprendidas entre 19 y 62 años (una media de 37 años), procedentes de zona urbana 27 y de zona rural 75.

La estadística descriptiva de las variables cuantitativas, se llevó a cabo con el programa informático SPSS 6.0. También utilizamos el test X^2 para muestras pareadas.

En todos ellos, se investigó la existencia de anticuerpos de clase IgG frente al antígeno de Coxiella burnetii en fase II por IFI, con el fin de conseguir una mejor evaluación de los resultados serológicos.

RESULTADOS

En el periodo de estudio, se detectaron anticuerpos de clase IgG frente al antígeno en fase II, en 231 muestras de 132 pacientes, siendo la prevalencia total de este tipo de anticuerpos en nuestro medio del 18,34 %. La distribución por años, de estos resultados, se observa en la tabla 1.

AÑO	MUESTRA	IgG +	%
TOTAL			18,34

Resultados de la Serología

De los 132 pacientes con serología positiva, seleccionamos 78 que presentaban anticuerpos de clase IgG a título significativo, $> o = a 1/128$ y 3 pacientes que tenían anticuerpos de clase IgM positivos. Seroconversión (anmento de dos o más títulos entre la primera determinación y una segunda muestra remitida a los 15-20 días) encontramos en 34 pacientes.

TÍTULOS POSITIVOS 132		TOTAL 927		TÍTULOS NEGATIVOS 795	
$F2 > 1:128$	$F2 < 1:128$	$F2 > 1:128$	$F2 < 1:128$	$F2 > 1:128$	$F2 < 1:128$
78	54	51	3	31	3

Entre los 81 pacientes serología a títulos significativos, seleccionamos 19, que presentaban clínica compatible con Fiebre Q crónica, estudiando en ellos, la posible reactividad al detectar anticuerpos de clase IgG frente al antígeno en fase I. Ver tabla 2.

PACIENTE	JLAC.F1	E 2
1°	2048	vs altos
2°	/256	vs altos
3°	/512	vs altos
4°	2048	vs altos
5°	/512	vs altos
6°	/256	vs altos
7°	/512	vs altos
8°	tivo	28 IgM+
9°	1/128	vs altos
10°	/1024	vs altos
11°	tivo	vs altos
12°	1/128	vs altos
13°	tivo	vs altos
14°	/512	vs altos
15°	1/64	vs altos
16°	1/128	vs altos
17°	1/64	vs altos
18°	/256	vs altos
19°	/512	vs altos

En esta tabla (tabla 2), vemos que se obtienen resultados compatibles con Fiebre Q crónica (ac IgG > o = a 1/512) en 8 pacientes. En tres, obtuvimos resultados negativos y la serología de antígeno en fase II, dio resultados a títulos elevados, excepto en uno que presentaba títulos bajos de anticuerpos de clase IgG pero los de clase IgM eran positivos.

Los 8 pacientes restantes, presentaban títulos bajos en la detección de anticuerpos de clase IgG frente al antígeno en fase I, siendo, los detectados frente al antígeno en fase II, a títulos elevados.

En los 102 sueros de donantes sanos analizados, encontramos 11 con un título de anticuerpos IgG frente al antígeno en fase II, mayor o igual a 1/32. Ver tabla 3.

Títulos	Nº de sueros	Procedencia	
		Rural	Urbana
1/32	7 (6,86 %)	6	1
1/64	2 (1,96 %)	1	1
1/128	1 (0,98 %)	1	0
1/256	1 (0,98 %)	1	0

La seroprevalencia encontrada en estos 102 sueros, varía del 3,92 % al 11,69 %, dependiendo del título que consideremos significativo. No se encontraron diferencias significativas respecto a la edad y sexo, ni en cuanto a la procedencia .

Se encuentran diferencias significativas ($p= 0,0002$) en estos parámetros considerando títulos menor o igual a 1/32.

DISCUSIÓN

La Fiebre Q es una zoonosis transmisible al ser humano con una amplia distribución geográfica y elevada prevalencia en nuestro entorno. Así, en Andalucía, el 30 % de los pacientes ingresados por fiebre de más de 7 días, tiene una Fiebre Q (31) y, en el País Vasco, hasta el 60 % de los casos de neumonías adquiridas en la comunidad son debidas a *Coxiella burneti* (32).

Coxiella burneti produce infecciones en el hombre que pueden ser inaparentes, agudas o crónicas. En una serie de Suiza (33), se describe la proporción de pacientes con infección clínica después de la exposición a *Coxiella burneti*. De 415 pacientes cuyos sueros se consideraron positivos 54 % estaban asintomáticos y de los pacientes con síntomas, sólo 8 (2 % del número total, fueron hospitalizados.

De nuestros pacientes (927), 132 presentaban serología positiva (14,23 %). De ellos, 81 presentaban clínica de infección por *Coxiella burneti*, 62 en su forma aguda y 19 con manifestaciones clínicas compatibles con Fiebre Q crónica.

La Fiebre Q crónica ha sido considerada como una forma poco frecuente y, a veces, aparece meses o años después de sufrir una infección aguda.

En una amplia serie de 122 pacientes con Fiebre Q crónica (40), un 16,4 % no se podían incluir en los cuadros clínicos de afectación del endocardio ni de hepatitis granulomatosa, que son las manifestaciones clínicas más frecuentes.

En nuestro estudio, de los 19 pacientes que presentaban clínica de Fiebre Q crónica, sólo 8 tenían resultados de la serología frente al antígeno en fase I, compatible con Fiebre Q crónica.

Bolaños M y colaboradores (45) en el año 2003, realizaron un estudio de seroprevalencia de fiebre Q encontrando, en muestras correspondientes al periodo comprendido entre los años 1998 y 2000, que el porcentaje de resultados positivos iba disminuyendo desde el primer año, 32,7 % al segundo 21,2 % y en el tercer año, el porcentaje de serologías positivas fue de 17,9 %. En nuestro estudio ha habido un incremento de muestras analizadas desde el año 2000 al 2004, así como también se han obtenido porcentajes de positividad más elevados.

El tratamiento de la fiebre Q crónica, se basa en datos serológicos y, la duración óptima del mismo, se sugiere que sea como mínimo de 3 años. En un estudio (43), se concluyó que ningún tratamiento, ni siquiera combinado, fue capaz de conseguir la curación en dos años de seguimiento, aunque la adición de Quinolonas a la Doxiciclina, fue estadísticamente a la Doxiciclina sola, en lo relativo a disminuir la mortalidad.

Ante la ausencia de datos clínicos específicos, el criterio de curación debe de ser serológico. Se propone que, un título de anticuerpos de clase IgG frente al antígeno en fase I inferior o igual a 1/256, sería indicativo de curación de la enfermedad.

Es por ello que se hace imprescindible disponer de la posibilidad técnica de determinar estos anticuerpos, para el correcto seguimiento de nuestros enfermos

CONCLUSIONES

- 1- Las diferencias significativas de seroprevalencia en donantes sanos encontradas entre la zona rural y la zona urbana a favor de la rural se justificarían porque en ella, existe mayor posibilidad de contacto con *Coxiella burnetii*. Sin embargo hay que tener en cuenta que los resultados de la zona urbana pueden estar parcialmente sesgados al haberse analizado un número menor de muestras.
- 2- En nuestro estudio, observamos que se han ido incrementando las solicitudes de determinaciones serológicas de FQ así como el porcentaje de resultados positivos desde el primer año, 163 muestras (15,3%), al cuarto, 379 muestras (19,5%). Pensamos que puede ser debido a que cada vez se incluye con más frecuencia esta determinación dentro del protocolo de fiebre de origen desconocido.
- 3- De los 132 pacientes con serología positiva, 81 presentaban clínica compatible con Fiebre Q, 62 de estos en fase aguda y 19 en proceso crónico de los cuales sólo 8 presentaron títulos significativos de anticuerpos frente al antígeno en fase I. El resto de pacientes, 51, padecieron formas subclínicas y niveles de anticuerpos a título no significativo.
- 4- Solo hemos encontrado seroconversión en 34 pacientes. Creemos que es debido a, que en la mayoría de ocasiones no realizamos una segunda determinación. Sería necesario concienciar a los clínicos de la necesidad de realizar determinaciones serológicas de esta patología con muestras pareadas.

La Fiebre Q es una patología en la que hay que pensar y dar un diagnóstico correcto con el fin de evitar las complicaciones graves a que nos puede llevar, sobre todo en su fase crónica.

BIBLIOGRAFIA

- 1.-Derrick EH. Q fever, a new disease, its features, diagnosis and laboratory investigation. *Med J. Aust* 1937;2: 281-299.
- 2.- Burnet FM, Freeman M. Experimental studies on the virus of "Q" Fever. *Med J. Aust* 1937;2:299-305.
- 3.- Wentworth. Historical review of the literature on Q Fever. *Bacteriol Rev.* 1955; 19: 129-149.
- 4.- Mc Dade JE. Historical aspects of Q fever; En: Marrie TJ, ed Q fever. En Marrie TJ, ed Q Fever, Volumen 1. The disease Boca Ratón, CRC Press; 1990:5-21.
- 5.- Dyer RE. Similarity of Australian Q fever and a disease caused by an infectious agent isolated from ticks in Montana. *Public Health Rep.* 1939; 54: 1229-1238.
- 6.- Weiss E. History of rickettsiology in : Walter DH ed *Biology of rickettsial diseases.* Vol 1. Boca Ratón. Florida: CRC Press. 1986; 15-32.
- 7.- Derrick EH. The course of infection with *Coxiella burnetii*. *Med. J. Aust* 1973; 1: 1051-1057.
- 8.- Prada J, Gay B, Llorente A. Primer caso de fiebre Q humana en España. *Gaceta Médica Española* 1950; 24: 332-333.
- 9.- Palosno T, Leinikki P, Pettersson T et al. Hazards of expanding tourism: report of six cases of Q fever in Finland. *Scand J. Infect Dis.* 1974; 6: 173-176.
- 10.- Ruiz Tellez A, Muñoz Saitúa J, Agud Aparicio JM et al. Fiebre Q en Alava: estudio clínico de un brote epidémico (primera de dos partes). *An Med Intern (Madrid)* 1985; 2: 104-108.
- 11.- Ruiz Tellez A, Muñoz Saitúa J, Agud Aparicio JM et al. Fiebre Q en Alava: estudio epidemiológico de un brote (segunda de dos partes). *An Med Intern. (Madrid)* 1985; 2: 217-223.
- 12.- Dupont HT, Thirion X, Raoult D. Q Fever serology: cutoff determination for microimmunofluorescence. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1994;1: 189-196.
- 13.- Raoult D, Marrie TH. Retrospective study of Q Fever. *Clin. Infect. Dis.* 1995;20: 489-496.
- 14.- Frazier ME, Mallavia LP, Samuel JE, Baca OG. DNA probes for the identification of *Coxiella burnetii* strains. *Ann NY Acad Sci* 1990; 590: 445-458.
- 15.- Stein A. Lack of pathotype specific gene in human *Coxiella burnetii*. *Microb. Pathog* 1993; 15: 177-185.
- 16.- Stein A, Raoult D. Q Fever endocarditis. *Eur Heart J.* 1995; 16: 19-23.
- 17.- Brouqui PH, Dupont HT, Drancourt H, Berland Y, Raoult D. Chronic Q Fever. *ARCH intern. Med.* 1993; 153: 642-648.
- 18.- Raoult D. Diagnosis and treatment of chronic Q Fever. *LabMedica International.* September-October. 1994. pag. 18.

19.- Brouqui pH, Dumler JS, Raoult D. Immunohistologic demonstration of *Coxiella burnetii* in the valves of patients with Q fever endocarditis. *Am J Med.* 1994; 97: 451-458.

20.- Raoult D, Torres H, Drancourt M. Shell-Vial assay: evaluation of a new technique for determining antibiotic susceptibility, tested in 13 isolates of *Coxiella burnetii*. *Antimicrob. Agentr.* 1991;35:ts *Chemother.* 1991;35: 2070-2077.

21.- Torres H, Raoult D. In vitro activities of ceftriaxone and fusidic acid against 13 isolates of *Coxiella burnetii*, determined using the Shell-Vial assay. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993;37.

22.- Raoult D. Diagnostic biologique of Q Fever. *Revue française des laboratoires.* 1991;227: 68-70.

23.- Nistal de Paz F, Nistal de Paz C. Fiebre Q. *Med. Clin.* 1994;103: 667-675.

24.- Waag D, Chulay J, Marrie T, England M, Williams J. Validation of an enzyme immunoassay for diagnostic of acute Q fever. *Eur J. Clin Microbiol Infect Dis.* 1995; 14: 421-427.

25.- Ausina V, Sambeat G, Esteban G, Luquin M, Condom MJ, Rabella N. Estudio seroepidemiológico de la fiebre Q en áreas urbanas y rurales de Cataluña. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 1988; 6: 65-69.

26.- Tellez A, Martin A, Anda P. Study of *C. burnetii* human and animal seroprevalence in a rural population in Madrid community. *Eur. J. Epidemiol.* 1989; 5: 444-446.

27.- Raoult D, Levy P-Y, Dupont ht. Q fever and HIV infection. *AIDS* 1993; 7: 81-86.

28.- Saz J.V, Bacellar F, Merino F.J, Filipe A. Seroprevalencia de infección por *Coxiella burnetii* en la provincia de Soria. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 1993; 11: 469-473.

29.- Perez-Trallero E, Gilla G, Montes M, Saenz-Dominguez JR, Alcorta M. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection among slaughterhouse workers in Northern Spain. *Eur J. Clin Microbiol Infect Dis.* 1995;14:71-73.

30.- Muhleman K. Isolation of *Coxiella burnetii* from heart valves of patients treated for Q fever endocarditis. *J. Clin Microbiol.* 1995; 33: 428-431.

31.- Martinez-Luengas F, Borobio MV, Galvez J, León De Lope M. Fiebre Q en Sevilla. Comparación con otras entidades. Descripción de 34 casos y revisión. *Rev. Clin. Esp.* 1985; 176: 400-405.

32.- Aguirre Errasti C, Montejo Baranda M, Hernández Almaraz H. An outbreak of Q fever in the Basque country. *Can. Med. Assoc. J.* 1984; 131: 48-49.

33.- Dupuis G, Petite J, Peter O, Vonilloz M. An important outbreak of human Q fever in a Swiss alpine valley. *Int. J. Epidemiol.* 1987;16: 282-287.

34.- Lieberman D, Boldur I, Manor E, Hoffman S, Schlaeffer F, Porath A. Q fever pneumonia in the Negev region of Israel: A review of 20 patients hospitalised over a period of one year. *J. Infect.* 1995;30: 135-140.

35.- Parra E, Dominguez A, Arco A, Ibañez y Peña JM. Hepatitis aguda como forma de presentación de la fiebre Q. *Enf. Inf. Microbiol. Clin.* 1989;7: 452-453.

36.- Hellin T, Bouza E, Casimir L. Fiebre Q aguda. Experiencia en 23 casos. *Med. Clin.* 1981;77:1-7.

37.- Pfammatter JP, Paul T, Filk J, Drescher J, Kallfelz HC. Q fieber assoziierte Myokarditis bei cinen 14jahrigen Jungen. *Z Kardiol.* 1995;84: 947-950.

38.- Valero F. Pericardial effusion as the initial feature of Q fever. *Am Heart J.* 1995; 130: 1308-1309.

39.- Abril V, Ortega E, Mart' P, Pedro F, Herrera A. Meningoencefalitis por *Coxiella burnetii*. *Rev. Eur Neurol.* 1996;130: 722.

40.- Palmer SR, Young SEJ. Q fever in England and Wales. 1975-1981. *Lancet* 1982;11: 1448-1449.

41.-Abril V, Ortega E, Fraile T, Herrera A. Utilidad de los anticuerpos IgA en el diagnÓstico de la endocarditis por fiebre Q. *Med Clin* 1994; 103: 319.

42.- Peacock MG, Phillip RN, Williams JC, Faulkner RS. Serological evaluation of Q fever in humans: enhanced phase 1 titers of immunoglobulin G and A are diagnostic for Q fever endocarditis. *Infect. Immun.* 1983; 41: 1089-1098

43.- Levy PV, Drancourt M, Etienne J, Auvergnat JC, Beytout J, Sainty JM, Goldstein F, Raoult D . Comparision of different antibiotic regimens for therapy on 32 cases of Q fever endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 533-7 .

44.- Maurin M, Benoliel AM, Bougrand P, Raoult D. Phagolysosomal alkalization and the bactericidal affect of antibiotics: The *Coxiella burneti* paradigm. *J Infect Dis.*1992; 166: 1097-1102.

45.- Bolaños M, Evora O, Perez-Arellano JL, Moreno A, Moreno G. Fiebre Q en Gran Canaria. Aportación de 40 nuevos casos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003; 21: 20-23.