

1 Fotografía d.d.T. 576.8(04)

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

UNIVERSIDAD MOTOLINIA

FACULTAD DE QUIMICA

Exploración de Bovinos en Relación con la "Fiebre Q"

TESIS

QUE PARA SU EXAMEN

PROFESIONAL DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA

RAQUEL TREVES CAPELUTO

México, D. F.

1955



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis padres, que con infinitos sacrificios hicieron posible la feliz culminación de mi carrera, dedico este trabajo con inmenso amor filial, rogando a Dios me los conserve por muchos años.

A mi querido hermano

PEPE

A mis maestros y compañeras.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Salmonelosis y Virus del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, bajo la dirección del Dr. Gerardo Varela y del Sr. Q. B. P., Armando Vázquez Hoyos, para quienes es mi agradecimiento.

INDICE:

I.—Historia y consideraciones sobre "Fiebre Q"	13
II.—Resultados de la técnica de Luoto, de aglutinación capilar usando leche para la búsqueda de la "Fiebre Q" bovina	19
III.—Material y Método	21
IV.—Resultados y Conclusiones	25
V.—Bibliografía	27

CAPITULO I

Historia y Consideraciones sobre "Fiebre Q"

Rickettsia Burnetti

Sinonimia:—*Rickettsia burnetti*, *Rickettsia diapórica*, *Coxiella burnetti*.

Historia:—La "fiebre Q" es una enfermedad producida por un germen pleomórfico del grupo de las *Rickettsias*: la *Coxiella burnetti*.

Esta enfermedad fué reconocida por primera vez en Queensland, Australia, en 1935. Su existencia en la naturaleza fué demostrada por Derrick (1937-1939), el cual inicia estudios sobre una enfermedad que aparece en forma epidémica entre los trabajadores de rastros y aísla una cepa del agente causal identificándolo posteriormente como *Rickettsia*. El nombre dado a esta enfermedad fué el de "Fiebre Q" y a su agente causal el de *Rickettsia burnetti*, que con la clasificación propuesta por Philip en 1943 cambió al de *Coxiella burnetti*, variedad Derrick.

Casi al mismo tiempo, Davis y Cox (1938) en los Estados Unidos aislaron de algunos ejemplares de *Dermacentor Andersoni*, una cepa de *Rickettsia* que tiene propiedades antigénicas semejantes a la *Coxiella burnetti* y a la que llamaron "Nine Mile". Dichos estudios fueron comprobados por Burnet y Freeman en 1939, Dyer (1939).

Esta enfermedad tuvo importancia militar en la guerra del Mediterráneo, durante la segunda conflagración mundial, porque ocurrieron más de 1.000 casos entre las tropas aliadas en los años de 1944 y 1945. Afortunadamente la mortalidad fué baja (Robins, Gould y Warner).

En Estados Unidos son reportados nuevos casos por Topping, Shepard e Irons en 1947. En Panamá, por Cheyney y Geib en 1946. En México, Silvia Goytia en 1950-51 presenta casos. Varela y Ortiz Mariotte dan a conocer una distribución en la República Mexicana (1951).

Epidemiología:—En 1942 Derrick y colaboradores encuentran anticuerpos que aglutinan a la *Rickettsia burnettii* en el suero de bovinos dándoles un papel muy importante en la epidemiología de la "fiebre Q". Shepard y colaboradores en 1948 encuentran entre un 10% y un 20% de sueros que fijan el complemento en presencia de "fiebre Q" en diversos estados de California y en ese mismo año Huebner y colaboradores aíslan de la leche de vacas varias cepas de "fiebre Q" en el condado de Los Angeles, California. Posteriormente, Shepard, en un estudio de fijación del complemento de sueros de bovinos colectados en casi todos los Estados de la Unión Americana, encuentra en más de 1,700 sueros estudiados, 27 positivos a la "fiebre Q".

La distribución geográfica de esta enfermedad es muy amplia, se encuentra repartida principalmente en: Australia; en Europa, en la Región Meditárrena. Portugal, España, Francia, Suiza, Italia, Argelia; en Estados Unidos, en Texas, California, y en otros estados; en México, en el Distrito Federal, en Torreón y en la Región Lagunera.

Trasmisores y vectores:—La transmisión al hombre no muy precisa todavía, se hace por el manejo de animales

enfermos: vacas, puercos, ovejas, cabras, etc. Es una enfermedad de tipo profesional, se presenta en matanceros, ordeñadores, pastores; las personas encargadas de corrales, cuadras, lecherías, refrigeradoras de carne, manejo de pieles, curtidurías y el personal de los laboratorios de investigación. Se ha encontrado el germen en las glándulas mamarias de vacas, ovejas, cabras, etc.

Parece ser que se puede transmitir la enfermedad por medio de vectores los que pueden ser: potenciales y transmisores.

En Australia se ha comprobado que existe en ciertos animales silvestres como el *Isoodon Torosus*, las garrapatas *Haemophysalis humerosa* e *Ixodes Holocyclus* las que se encargan de transmitirla al ganado y, a su vez, todas las garrapatas de éste: *Boophilus annulatus microplus* y *Haemophysalis hispinosa*, que se infectan al chupar la sangre del ganado, contaminan la piel e indirectamente infectan al hombre con sus heces fecales.

En los Estados Unidos, las garrapatas *Dermacentor Andersoni* y *Amblyomma americanum* se encuentran, naturalmente, infectadas como lo demostraron Davis y Cox en 1938, y las primeras pueden transmitir la enfermedad al alimentarse en cuyes.

Los brotes epidémicos que ocurrieron en Italia en los campamentos de los aliados, no han sido explicados satisfactoriamente y tan sólo se supone que el polvo acumulado en las buhardas, sobre el heno o sobre la paja contaminado por el excremento de algún animal que sirva de reservorio, se encargó de hacer la propagación.

Caracteres Bacteriológicos:—Este germen es pleomórfico, se presenta en forma de pequeños cuerpos ovalados de tipo lanceolado, mide 0.25 a 0.50 micras, o bien to-

ma la forma de diplobacilo y miden 0.25 a 1.5 micras. Merece señalarse el hecho que hay microorganismos largos (2 a 3 micras) que hacen pensar en una contaminación por bacilos gram negativos y otros tan pequeños como los cuerpos elementales de la vacuna, que son los que precisamente atraviesan los filtros N de Berkefeld y hasta la membrana de colodión con poros de 400 milimicras. Por esta propiedad le dieron los americanos el nombre de *Rickettsia diapórica*, antes que Heral R. Cox demostrara su identidad con la *Rickettsia burnetti*.

Es un organismo gram negativo, se tiñe con los colorantes para *Rickettsias* como los de Giemsa y las técnicas de Machiavello y Castañeda. Al microscopio electrónico se le distingue una cápsula.

Resiste la desecación, lo mismo que temperaturas de 70° C. Los tejidos infectados puestos en glicerina al 50% conservan durante algún tiempo el germen.

Medios de cultivo:—No se ha podido cultivar este germen en medios artificiales carentes de células o fluidos orgánicos, pero si ha sido posible cultivarlos en licuados de vísceras y en embrión de pollo. Se ha observado que este microorganismo crece mejor a 32° C y que en el embrión de pollo se desarrolla con tal profusión en el saco vitelino que el material puede ser aprovechado para inoculaciones, antígenos y vacunas.

También se cultiva en algunos animales: ratas, cobayos, inoculándolos por el método de Castañeda (inoculación intranasal) o bien por la vía intraperitoneal.

Sintomatología:—El período de incubación de 14 a 26 días, término medio 19, principia de una forma súbita con escalofríos intensos, elevación de la temperatura de 39° a 40° C, malestar general, cefalea intensa, milagias,

sudores, pérdida del apetito, etc. Entre el 2o. y 3er. día aparecen trastornos pulmonares respetando, por lo general, las vías superiores. El enfermo presenta tos ligera muy seguida, expectoración escasa de tipo mucoso; rara vez con sangre, dolor en la región precordial que aumenta en el momento de la tos. A exploración física, hay matices en las bases y soplos como en la neumonía.

El estudio radiológico muestra ligera congestión de las bases y una mediastinitis, lesiones de infiltración pulmonar y alveolar incluyendo lesiones de los bronquios (bronquitis y peribronquitis). Algunas veces se encuentra lesionada la pleura. La duración del padecimiento es variable lo mismo que la gravedad. La muerte del enfermo se presenta por trastornos de tipo cardíaco, generalmente.

Patogenia:—En los muertos por esta enfermedad, se observa un foco de congestión limitada formando una especie de tumor; se presenta por lo general en un solo lóbulo, hay, además, edema. El estudio histopatológico demuestra que todo el árbol bronquial está obstruido por un exudado fibrono-celular; hay gran cantidad de linfocitos. El epitelio alveolar en algunas partes se encuentra aumentado (hiperplasia), infiltración linfocitaria, algunos mononucleares y fibroblastos; en el interior de las celdillas se encuentran las Rickettsias.

Diagnósticos de laboratorio:—Los estudios se llevan a cabo en dos líneas de trabajo: 1o. el aislamiento del germen de hombres con padecimientos sospechosos de ser "fiebre Q", y animales domésticos que se han demostrado susceptibles a este padecimiento y de garrapatas; y en 2o. término, la búsqueda de anticuerpos específicos para "fiebre Q", en el suero sanguíneo de hombres y animales.

Esta enfermedad es muy fácil confundirla con las

neumonías atípicas, influenza, brucelosis, dengue y otras más. Se distingue de otras rickettsiasis humanas porque no hay exantema y la reacción de Weil-Félix es negativa.

El aislamiento del germen se puede hacer de la sangre del enfermo durante el período febril, así como del esputo, líquido céfalorraquídeo y de la orina, inoculando cobayos por vía intraperitoneal.

Tratamiento:—Se lleva a cabo a base de: cloromicetina, aureomicina, terramicina, estreptomina.

CAPITULO II

Resultados de la técnica de Luoto de aglutinación capilar usando leche para la búsqueda de la "fiebre Q" bovina

En la República Mexicana, Silva Goytia (1950) estudió 899 sueros sanguíneos de vacas del Estado de México y 50 del Estado de Coahuila. Usó la fijación de complemento según la técnica de Bengtson (1944) y el antígeno preparado con los datos de Topping y Shepard (1948) con la cepa "Nine Mile" de "Fiebre Q". Esta investigación reveló 13 sueros positivos a la "fiebre Q" y 51 anticomplementarios. Posteriormente, Silva Gaytia (1950) practicó 644 fijaciones de complemento con sueros humanos procedentes de la Laguna, en los Estados de Coahuila y Durango, siguiendo los procedimientos antes mencionados. En esta última observación 13 sueros fueron positivos y 221 anticompletarios. Figueroa (1953), en el Distrito Federal y en el Estado de México encontró por fijación del complemento en 489 sueros sanguíneos de bovinos, 16.5% positivos al antígeno de la "fiebre Q". Estos estudios dieron la evidencia de que existe "fiebre Q" en México.

Luoto (1953) ha ideado una técnica para sueros sanguíneos usando capilares para la aglutinación de "fiebre Q" y un antígeno teñido de Coxiela burnetti. La compa-

ración de este método con la fijación del complemento demostró que en 1,002 sueros sanguíneos de animales infectados natural y artificialmente con *Coxiella burnetti*, no ocurren reacciones inespecíficas y que su sensibilidad parece mayor que la de la reacción de fijación de complemento; además, se evita la frecuencia de las reacciones anti-complementarias. La facilidad de la aglutinación en capilares hace que pueda ser practicada por todos los laboratorios. Estudios hechos por Luoto (1953) han probado que la aglutinación con "fiebre Q" persiste cuando ya no es posible encontrar anticuerpos por la fijación del complemento.

El antígeno usado en este trabajo fué enviado por el doctor Lauri Luoto del Laboratorio de la Fiebre manchada de las Montañas Rocallosas, de Hamilton, Montana, E.U.A., y su indicación de que había estado ensayándolo para la aglutinación con leche de vacas en lugar de emplear sueros sanguíneos de estos bovinos. En el presente trabajo señalo los resultados obtenidos en la busca de la "fiebre Q" con la técnica de Luoto, empleando leches de vaca.

CAPITULO III

Material y Método

Material:—Se recogieron de las vacas en los abastos de Tacubaya y General de la Ciudad de México, 1,000 muestras de leche para practicar la aglutinación, tomándolas directamente de las mamas de estos animales al ser sacrificados. Las vacas estudiadas procedieron de los estados de: Jalisco, Michoacán, Querétaro, Guerrero, Durango, Zacatecas, Aguascalientes, Morelos y Tabasco.

El antígeno para la prueba de aglutinación capilar consiste en una suspensión teñida de *Coxiella burnetti* que se ha desarrollado en sacos vitelinos de huevos fértiles. Básicamente es similar al antígeno empleado en la prueba de fijación de complemento, excepto por su purificación y teñido:

Las sacos vitelinos de huevos fértiles previamente incubados durante 6 días a 38°C, se inocularon con *Rickettsias* aisladas de leches de vaca. Debido a la inoculación el 50 a 60% de los embriones muere al cabo de 6 días de incubación a 37°C. Al 6o. ó 7o. día después de la inoculación, los huevos se abren y se separa el saco vitelino; se diluye con 60% de su peso original con agua destilada estéril y se homogeniza durante 2 a 3 minutos en una licuadora para hacer una suspensión que pueda usarse inme-

diatamente o congelarse para ser guardada indefinidamente. Para usar esta suspensión congelada se deja en refrigerador durante una noche a 4°C; se le adiciona 0.5 c.c. de formol por cada 100 g. de saco vitelino originalmente tomado y se abandona la mezcla a la temperatura ambiente durante una noche. Se prepara entonces una suspensión al 30% diluyendo la suspensión formolada con un volumen igual de solución de cloruro de Sodio al 0.85%, conteniendo 1.5% de fenol, se deja reposar a la temperatura ambiente durante 1 a 3 días y se diluye a una concentración final de 10% (en relación al saco vitelino), ajustando el pH a 5.7 con HCl 2.7 M, extrayendo con 1¹/₂ volúmenes de éter etílico a 4°C por 4 a 6 horas. La fase acuosa se separa y se guarda a 4°C durante 5 días para dejar asentar el material del saco vitelino. Se separa cuidadosamente el líquido sobrenadante y se centrifuga a alta velocidad durante 1 hora.

El sedimento se resuspende en un volumen de solución salina conteniendo 0.2% de formol, volumen que es igual al peso del saco vitelino en proceso. Esta suspensión se centrifuga a baja velocidad durante 10 minutos. El líquido que sobrenada se centrifuga nuevamente a alta velocidad y el sedimento se resuspende en su volumen original de solución formolada. Si hay una sedimentación posterior debida al reposo se centrifuga a baja velocidad.

El colorante se prepara de la siguiente manera:

- 1.—Se disuelven 2 g. de hematoxilina en 20 c.c. de alcohol absoluto.
- 2.—Se disuelven 20 g. de sulfato de amonio y aluminio en 200 c.c. de agua destilada calentando suavemente.
- 3.—Mezclar las dos soluciones, hirviéndola a flama directa.

- 4.—Retirar de la fuente calorífica y agregar 0.5 g. de óxido mercúrico (HgO) rojo.
- 5.—Agitar suavemente la mezcla, hirviéndola sobre llama directa por un minuto, enfriando el contenido del matraz a chorro de agua.
- 6.—Filtrar la solución para eliminar el HgO y cualquier partícula insoluble que haya.

El colorante está listo para su uso inmediato.

Cuando se usa un colorante insuficientemente oxidado que se reconoce porque no tiene un color magenta oscuro, se prolonga el tiempo necesario para teñir el antígeno.

Una parte de colorante se adiciona a 10 partes de antígeno y la mezcla se abandona por 48 horas a 60°C o por 72 horas a 37°C.

El pH de la suspensión antigénica originalmente entre 5.6 y 6.5 baja aproximadamente a 3.5 al adicionar el colorante. Para evitar que precipite el exceso de colorante, el antígeno se diluye 5 ó 10 veces con agua destilada cuyo pH previamente se ha bajado a 3- 3.5 con HCl diluido y después de agitar se reconcentra por centrifugación a alta velocidad descartándose el líquido sobrenadante. Esta operación debe hacerse con cuidado porque las rickettsias teñidas no se sedimentan firmemente. El antígeno, finalmente, se resuspende en agua destilada conteniendo 0.2% de formol y se ajusta a pH7, con solución Buffer.

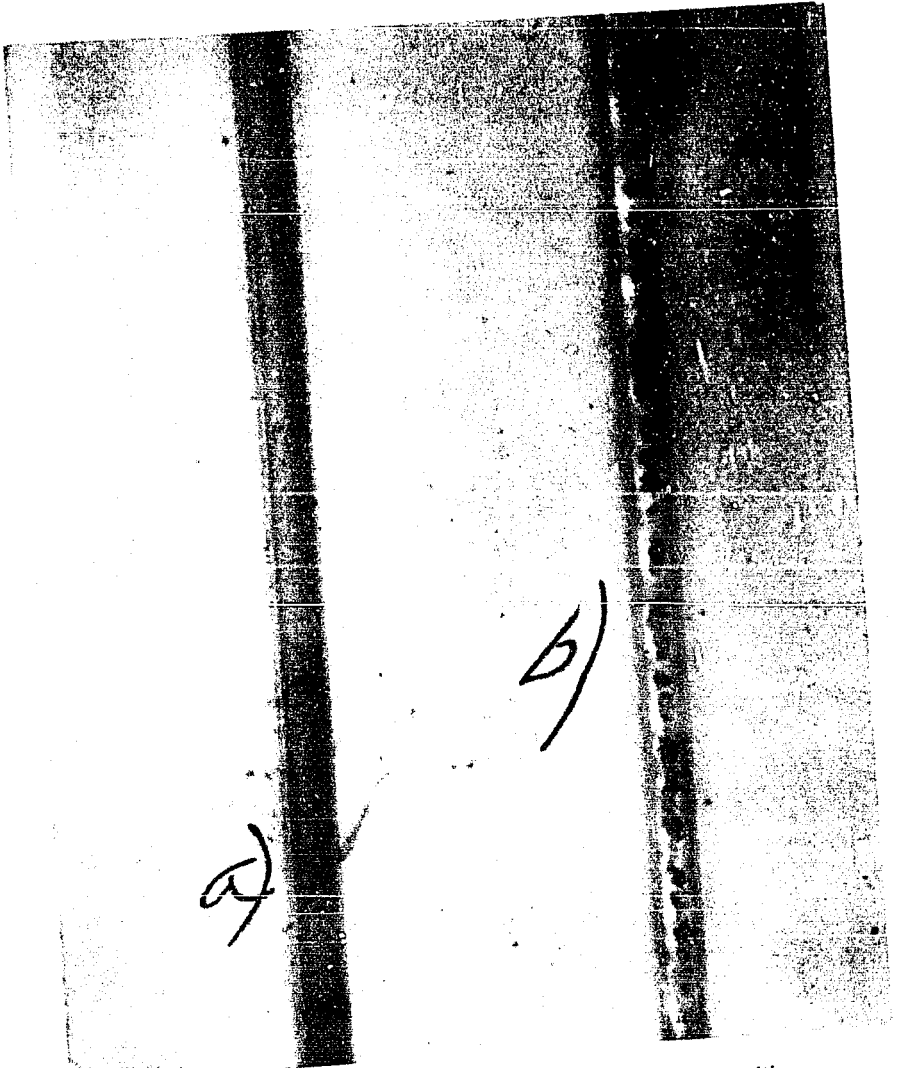
El antígeno se standariza espectrofotométricamente.

Método:—Se hizo aglutinación en tubos capilares de 5 cm. de largo con un diámetro aproximado de 0,4 mm. Un tercio del tubo se llenó con el antígeno y otro tanto igual con leche. Ambos líquidos penetran fácilmente por capilaridad en los tubos que una vez llenos se invierten para que el antígeno quede en la parte inferior y se cierran con plas-

tilina ambos extremos. Después de colocar los tubos en posición vertical por 2 horas a 37° C. se colocan en una caja petri a la temperatura del laboratorio para practicar la lectura al día siguiente.

Cuando la aglutinación es positiva se puede apreciar fácilmente la presencia dentro del capilar, de grumos oscuros formados por masas del antígeno. En las reacciones negativas el capilar muestra el color del antígeno difundido homogéneamente sin formación de grumos (Fig. 1). Solamente se toma la prueba como positiva cuando la formación de grumos es marcada. La aglutinación en los capilares se conserva sin modificación por varios días, así como la difusión del antígeno en los tubos negativos.

Se emplearon como testigos, un suero sanguíneo de bovino positivo a la "fiebre Q" y uno negativo y los resultados han sido iguales a los obtenidos en leche, ya que sabemos el paralelismo que para la aglutinación existe en diversas enfermedades entre el suero sanguíneo y la leche.



a) Reacción negativa

b) Reacción Positiva

CAPITULO IV

Resultados y conclusiones

Resultados:—De las 1,000 muestras de leche estudiadas, 305 aglutinaron el antígeno de "fiebre Q".

Conclusiones:—La aglutinación capilar con suero sanguíneo de bovinos según la técnica de Luoto (1953) ha demostrado en comparación con la fijación de complemento, resultados mejores. La facilidad del método permitirá hacer investigaciones en gran escala que ayudará a conocer el problema epidemiológico de la "Fiebre Q". La prueba puede hacerse con resultados similares con sueros sanguíneos y con leches, que ambos aglutinan el antígeno de una manera igual, haciendo la lectura fácil. Tanto los sueros como las leches, pueden ser empleados sin diluir haciendo más fácil la investigación. Luoto (1953) ha demostrado que los sueros sanguíneos no producen falsas reacciones positivas en estas condiciones.

Estudios hechos por Luoto han probado que la aglutinación capilar en los bovinos aparece poco después de su contaminación experimental con *Coxiella burnetti* y persiste cuando ya no es posible determinar anticuerpos por fijación de complemento y no se obtienen aglutinaciones cruzadas con animales infectados por brucellas, leptospirosis y encefalitis bovina.

Las aglutinaciones practicadas con sueros humanos para encuestas de tifo exantemático clásico y murino, han demostrado que no se presentan aglutinaciones cruzadas que puedan alterar la lectura de la prueba.

BIBLIOGRAFÍA

- SILVA GOYTIA, R. 1950.—"Fiebre Q" en México. *Medicina Rev. Mexicana*. 30, 615: 453-455.
- SILVA GOYTIA, R. 1950.—"Fiebre Q" en México. 2os. estudios serológicos. *Medicina Rev. Mexicana*. 30, 617: 493-497.
- BENGTSON, A. 1944.—*Complement fixation in the rickettsial disease.—Technique of the test. The preparation of antigens from yolk sac infected with rickettsiae*. *Pub. Health Rep.* 61: 701-707.
- LUOTO, L. 1953.—"A capillary agglutination test for bovine "Qfever". *The J. of Immunology*. 71, 4: 226-231.
- LACKMAN, D. L. 1951.—"Rocky Mountain Laboratory Circ No. 12 feb.
- DAVIS GORDON, J. and COX, H.—*A filter passing infectious agent isolated from ticks. 1.—Isolation from Dermacentor Andersoni, reactions in animal and filtration experiments*. *Pub. Health Rep.* 53: 2259-2267. 1938.
- DERRICK, E. H.—*Q Fever, a new fever entity: clinical features, diagnosis and laboratory investigations*. *Med. Journal Australia*. Aug. 21 pp. 281-289. 1937.
- DERRICK, E. H., SMITH, D. J. W. and BROWN, H. G.—*Studies in the epidemiology of "Q fever". 9.—The role of the cows in the transmission of human infection*. *Australia. Jour. Exp. Biol. and Med. Sci.* 20: 105-110. 1942.
- SHEPARD, C. C. and HUEBNER, R. J.—*Q fever in Los Angeles County description of some of its epidemiological features*. *Am. Jour. Pub. Health*. June, 1948.
- HUEBNER, R. J., JELLISON, W. L., BECK, M. D., PARKER, R. R., and SHEPARD, C. C.—*Q fever studies in southern California. 10.—Recovery of Rickettsia Burnetti from raw milk*. *Pub. Health Rep.* 63: 214-222. 1948.
- SHEPARD, C. C.—*Q fever: serological survey of bovine serums in the*

United States. Am. Jour. of Trop. Med. Vol. 28, No. 6 pp. 849-855. 1948.

TOPPING, N. H., SHEPARD, C. C.—*The preparation of antigens from yolk sac infected with rickettsiae.* Pub. Health Rep. 61: 701-707. 1946.

COX, H. R.—*Rickettsia diaporica and American Q fever.* Am. J. Trop. Med. 20: 463-469 (julio) 1940.

BENGTSON.—*Immunologic relationships between the rickettsiae of Australia and American Q fever.* Pub. Health Rep. 56: 272-281 (Feb. 14) 1941.

BURNET, F. M. and FREEMAN, MAVIS.—*Experimental Studies on the virus of Q fever.* M. J. Australia. 2: 299-306. (Aug. 21) 1937.

DYER, R. E.—*A similarity of Australian Q fever and disease caused by and infectious isolated from a ticks in Montana.* Pub. Health Rep. 53: 1229-1238. (july 7) 1939.

PERRIN, T. L. and BENGTSON, IDA A.—*The histopatology of experimental Q fever in mice.* Pub. Health Rep. 57: 790-798 (May 22) 1942.

LILLIE, R. D.—*Pathologic histology in Guinea pigs following intraperitoneal inoculation with the virus of Q fever.* Pub. Health Rep. 57: 296-306 (Feb. 27) 1942.