

# *Coxiella burnetii* – Erreger des Q (query)-Fiebers

## Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit

Der Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit gibt als nationales Beratungsgremium Stellungnahmen zu neuartigen Erregern ab, bewertet neue Erkenntnisse zu bekannten Erregern und erarbeitet entsprechende Empfehlungen für die Fachöffentlichkeit. Diese Serie von Stellungnahmen zu einzelnen Erregern wird als Zusammenfassung des aktuellen Wissensstandes veröffentlicht, speziell unter transfusionsmedizinisch relevanten Aspekten (Bundesgesundheitsbl. 41, 53, 1998).

Frühere Beiträge befassten sich mit der *Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung*, dem *Parvovirus B19* und dem *GB-Virus Typ C (Hepatitis-G-Virus)* (Bundesgesundheitsbl. 41, 78–90, 1998), *HTLV 1/2* (Bundesgesundheitsbl. 41, 512–517, 1998), *Yersinia enterocolitica* (Bundesgesundheitsbl. 42, 613, 1999), *TT-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 43, 154–156, 2000), *Hepatitis-B-Virus (HBV)* (Bundesgesundheitsbl. 43, 240–248, 2000), *Humanes Cytomegalovirus (HCMV)* (Bundesgesundheitsbl. 43, 653–659, 2000), *Hepatitis-A-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 44, 844–850, 2001), *Treponema pallidum* (Bundesgesundheitsbl. 45, 818–826, 2002), *Hepatitis-C-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 46, 712–722, 2003), *Humanes Immunschwächevirus (HIV)* (Bundesgesundheitsbl. 47, 83–95, 2004), *Arboviren – durch Arthropoden übertragbare Viren* (Bundesgesundheitsbl. 47, 910–918, 2004), *Coxiella burnetii – Erreger des Q-(query) Fiebers* (Bundesgesundheitsbl. 48, 814–821, 2005), *Variante Creutzfeldt-Jakob-Krankheit* (Bundesgesund-

heitsbl. 48, 1082–1090, 2005), *Influenzaviren* (Bundesgesundheitsbl. 50, 1184–1191, 2007), *Arbobakterien (über Arthropoden übertragbare Bakterien)* (Bundesgesundheitsbl. 50, 1192–1207, 2007), *Hepatitis-E-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 51, 90–97, 2008), *Malaria* (Bundesgesundheitsbl. 51, 236–249, 2008), *Arboprotzoen* (Bundesgesundheitsbl. 52, 123–146, 2009), *Orthopockenviren: Infektionen des Menschen* (Bundesgesundheitsbl. 53, 957–972, 2010), *Humanes Cytomegalievirus (HCMV)* (Bundesgesundheitsbl. 53, 973–983, 2010), *Parvovirus B19* (Bundesgesundheitsbl. 53, 944–956, 2010), *Dengue Fieber Virus (DENV)* (Bundesgesundheitsbl. 54, 892–903, 2011), *XMRV* (Bundesgesundheitsbl. 55, 1057–1060, 2012), *Arbonematoden – durch Arthropoden übertragbare Nematoden-Infektionen* (Bundesgesundheitsbl. 55, 1044–1056, 2012), *West-Nil-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 55, 1024–1043) und *Usutuivirus* (Bundesgesundheitsbl., in diesem Heft).

### 1 Wissensstand über den Erreger

Im Jahr 1937 beschrieb Derrick in Queensland/Australien eine fieberhafte Krankheit als „query fever“ bei 20 von 800 Arbeitern einer Fleischfabrik in Brisbane [1]. Query heißt in diesem Zusammenhang unerklärlich. Der Erreger wurde aus Blut und Urin der Kranken in Australien von Burnet und Freeman isoliert und als *Rickettsia (R. burnetii)* bezeichnet [2]. Gleichzeitig wurde der Erreger von Davis und Cox [3] aus Zecken in Montana,

USA, isoliert, als *Rickettsia diaporica* bezeichnet und später, um beiden Forschergruppen gerecht zu werden, in *Coxiella burnetii* umbenannt.

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO), die Vereinten Nationen und die Australia-Gruppe haben *C. burnetii* als gefährlichen Krankheitserreger eingruppiert [WHO (2004) Health Aspects of Chemical and Biological Weapons, 2nd edition. Geneva: World Health Organization]. Der Erreger war zudem Bestandteil des biologischen Waffenprogramms der USA und der früheren Sowjetunion und wird von den CDC in die Kategorie B von Erregern mit einem Potenzial, als biologische Waffe eingesetzt zu werden, eingruppiert [4].

*Coxiella burnetii* ist weltweit verbreitet und wird als zoonotischer Erreger auf den Menschen übertragen [5]. Hauptinfektionsquelle stellen nach derzeitigem Kenntnisstand infizierte Schafe, Ziegen und Rinder dar. Aber auch Katzen, Hunde, Kaninchen, Wildtiere und Enten sowie Zecken und Zeckenkot wurden als Infektionsquelle identifiziert. Der Erreger verursacht akute und chronische Infektionen und wird vor allem über Kontakt oder Inhalation von Staubaerosolen und durch Tröpfcheninfektion übertragen, kann aber auch durch Verzehr von Rohmilch und Rohmilchprodukten erworben werden [6, 7].

Von *C. burnetii* sind >30 Genotypen beschrieben, die sich über Genomanalyse unterscheiden lassen [8]. Viele der Genotypen sind weltweit verbreitet, einzel-

ne regional begrenzt. Über Puls-Feld-Gel-Elektrophorese wurde nachgewiesen, dass sich europäische und nordamerikanische Stämme unterscheiden [9], aber auch Stämme auftreten, die sich in regionale Gruppen in z. B. Deutschland und Russland unterscheiden lassen. Die Genomlänge des Bakteriums beträgt etwa 5 Mio. Basenpaare (bp) [10].

## 1.1 Erregerigenschaften

### 1.1.1 Aufbau

*Coxiella burnetii* gehört in die Bakterienfamilie der Coxiellaceae und vermehrt sich in verschiedenen Spezies obligat intrazellulär. Phylogenetisch verwandte Bakterien sind die Legionellaceae, Francisellaceae, Pseudomonaceae und andere Gamma-Proteobakterien. Coxiellen sind kleine Gram-negative, pleomorphe, coccoide Bakterien mit einer Größe von 0,2–1,0 µm. Sie kommen in 3 verschiedenen Formen vor: die kleinen Zellen (small cell variant, SCV), die hoch infektiös sind, die großen Zellen (large cell variant, LCV), die sich in Kulturzellen ausbilden und weniger infektiös sind, sowie die Sporen-ähnlichen Partikel (spore like particles, SLP), die auch infektiös und zusätzlich sehr umweltresistent sind.

In Abhängigkeit vom Wirtssystem durchlaufen Coxiellen beim Wachstum eine Phasenvariation [11]. In Säugerzellen wachsen die Bakterien als LCV, sie bilden sporenähnliche Partikel und 2 verschiedene antigene Formen aus, die als Phase I und II bezeichnet werden.

*Phase I:* Wenn *Coxiella burnetii* sich in Zellen von immunkompetenten Wirten vermehrt, wird das bakterielle Lipopolysaccharid (LPS) in voller Länge synthetisiert, ebenso weitere Zellwandantigene. *C. burnetii* wird passiv durch Phagozytose von der Zelle aufgenommen und überlebt im Phagolysosom, auch als parasitophore Vakuole bezeichnet, nur bei niedrigem pH, welcher für die Stoffwechselleistung der Bakterien notwendig ist. Coxiellen der Phase-I-Form sind für den Menschen höchst ansteckend, zwischen 1 bis 10 Coxiellen bilden 1 HID (human infektiöse Dosis) und reichen für eine Übertragung der Infektion aus [12].

Das LPS ist ein wesentlicher Virulenzfaktor (s. unter 1.2). LPS ist die Haupt-

komponente auf der Oberfläche der äußeren Bakterienwand und überragt die Proteine. Damit blockiert LPS eine zügige Reaktion des Immunsystems gegen die Proteine der Bakterienwand. Coxiella-LPS vom glatten Typ bedingt eine schlechte Bindung und Aktivierung der Komponenten des Komplementsystems und verzögert bzw. verhindert somit die Lyse der Bakterienzelle [13]. Die historische serologische Unterscheidung der verschiedenen Coxiellen-Stämme beruht auf der Reaktivität von LPS.

*Phase II:* Wird *Coxiella burnetii* in Kulturzellen oder in Zellen eines nicht-immunkompetenten Wirtssystems (z. B. embryonierte Hühnereier) gezüchtet, dann wird LPS, in der Regel durch Repression von Genen für die LPS-Synthese, nur noch unvollständig synthetisiert (Rau-Typ-LPS von Coxiella) und die Produktion von einigen Zellwandantigenen unterdrückt. Viele Zellwandproteine bleiben daher für die Charakterisierung und für die Reaktion des Immunsystems einfach zugänglich und können für die Diagnostik genutzt werden. Phase-II-Coxiellen zeigen eine niedrige Virulenz in Tiermodellen und gelten für den Menschen als wenig virulent, da sie schnell über das Komplementsystem inaktiviert werden.

Eine intermediäre Form mit nur unvollständig synthetisiertem LPS kommt vor. Phase-I- und -II-Formen können morphologisch nicht unterschieden werden, jedoch haben sie eine unterschiedliche Anfärbbarkeit mit basischem Fuchsin und Hämatoxylin.

*Sporen-ähnliche Partikel* (spore like particles, SLP): Die Bezeichnung „Spore“ stammt von der Umweltresistenz. Sie wurde aufgrund elektronenmikroskopisch darstellbarer morphologischer Ähnlichkeiten mit Endosporen anderer Bakterienarten übernommen und ist rein deskriptiv. Die Umweltresistenz von Coxiellen ist nicht vergleichbar mit der von Sporen von Bacillus oder Clostridium. Die Sporen-ähnlichen Partikel ermöglichen es *C. burnetii* über 40 Monate auch bei sehr ungünstigen äußeren Bedingungen infektiös zu bleiben.

Eine Übersicht über die verschiedenen Formen von *C. burnetii* findet sich in der Arbeit von Coleman et al. [14] und Angelakis und Raoult [10].

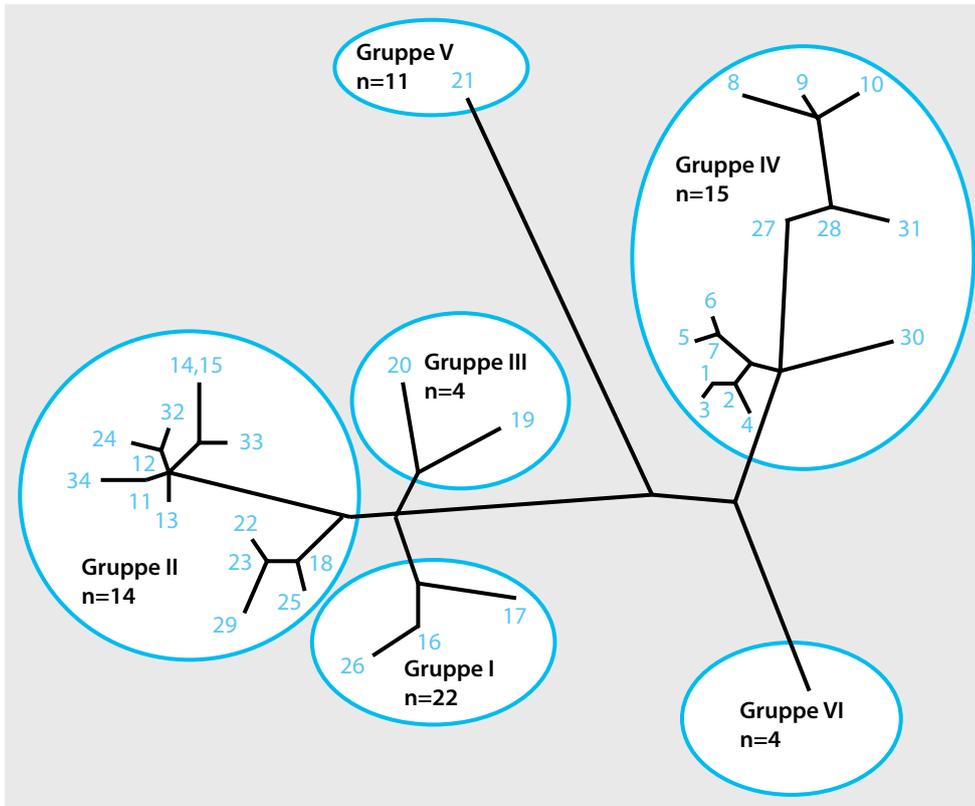
*Plasmide:* Vier verschiedene Plasmidtypen bzw. chromosomal integrierte Plasmid-homologe Sequenzen mit 36 bis 56 Kilobasen Länge können in Coxiellen aller Formen gefunden werden [15]. Pro Bakterienzelle findet sich nur eines der 4 Plasmide, welches etwa 2% der genetischen Information enthält [10, 16].

**Genotypen-Genogruppen.** Von verschiedenen Arbeitsgruppen ist aufgrund der Nukleinsäuresequenzanalyse von unterschiedlichen Genregionen unter Einschluss der Plasmide die Einteilung in Genotypen oder, wenn mehrere Genotypen zusammengefasst wurden, in Genogruppen vorgeschlagen worden. Die Übereinstimmung der einzelnen Genotypen ist nur partiell, sie ist aber ausreichend, um Ausbrüche wie z. B. in den Niederlanden oder England molekular-epidemiologisch zu charakterisieren.

Mit der Methode des „multispacer sequence typing“ (MST) wurden anhand von 10 ausgewählten Regionen 173 Coxiella-Isolate aus Frankreich in 30 MST-Genotypen eingeteilt [8].

Während der Q-Fieber-Epidemie in den Niederlanden wurden über „multiple-locus variable tandem repeat analysis“ (MLVA) Coxiella-Isolate aus Europa und Übersee in Genotypen unterteilt, die mit den Buchstaben A bis Q bezeichnet wurden. I und J waren die dominanten Genotypen in Kuhmilch und Milchprodukten [17]. I und J entsprechen dem Genotyp MST 20 von Glazunova et al. [8] und wurden in allen Ziegen gefunden, während frühere Ausbrüche in Frankreich und Deutschland durch MST 33 verursacht wurden [18]. Der jüngste Ausbruch in England wurde ebenfalls durch MST 20 verursacht [19]. Eine weitere Studie in den Niederlanden, die die MLVA-Methode benutzte, fand Genotyp A als vorherrschenden Stamm bei 38 von 45 ausgewählten Ziegenfarmen [20].

Schließlich wurde die MST-Gruppierung von Glazunova et al. [8] durch SNP-Analyse (single nucleotide polymorphism) durch Real-time-PCR und Schmelzpunktanalyse unter Einbeziehung von Insertionen und Deletionen, von bi-allelic und tri-allelic SNP erweitert [21]. Durch die statistische Analyse und Erstellen des phylogenetischen



**Abb. 1** ◀ Dargestellt sind die 6 Genogruppen von *Coxiella burnetii* und die diesen zugeordneten MST-Genotypen. Genogruppe VI enthält den sog. Dugway-Stamm. Der phylogenetische Baum zeigt die nahe Verwandtschaft von einzelnen MST-Genotypen, die sich teils durch eine konvergente Evolution entwickelt haben, MST 14 und 15 sind in dieser Analyse in Gruppe II identisch. Schema in Anlehnung an das von Hornstra et al. ([21], L. Guertler)

Baums konnten die *Coxiella*-Isolate in die Genogruppen I bis VI unterteilt werden, wobei einzelne Gruppen zwischen 1 und 15 MST-Genotypen enthielten (▣ **Abb. 1**). Ein Teil der Diversität wurde auf Mutationen zurückgeführt, die in kozyklisierenden *Coxiella*-Stämmen auftraten. Die MST-Genotypen 14 und 15 von Glazunova [8] waren bei der Genomanalyse von Hornstra und Mitarbeitern identisch [21].

Die meisten der MST-Genotypen sind weltweit verbreitet. MST 8 verursacht chronische Infektionen beim Menschen und häufig Endokarditis. Das Reservoir sind Ziegen [21]. Pathogenität und Virulenz der verschiedenen Genogruppen sind unterschiedlich [22].

### 1.1.2 Vermehrung

Im infizierten Organismus vermehrt sich *C. burnetii* obligat intrazellulär, eine extrazelluläre Vermehrung im Säuger ist bisher nicht beschrieben worden. Als Wirte fungieren Zellen von wechselwarmen Tieren wie Arthropoden und Fische und die von Warmblütern wie Vögel, Nager, Beuteltiere und insbesondere Haus- und Nutztiere [23]. In Schaf-Plazentazellen kann eine

Erregerzahl von  $10^9$ /g Plazentagewebe erreicht werden [6]. *Coxiella burnetii* kann in Süßwasseramöben für Wochen überleben [24]. Die Verdopplungszeit in Säugerzellen beträgt 20–45 h [10].

Nach Übertragung wird *Coxiella burnetii* im Menschen von Monozyten bzw. Makrophagen phagozytiert und anschließend in das Phagolysosom eingebracht. Dort wird von *Coxiella* ein niedrigerer pH erzeugt und damit der Abbau des Bakteriums verhindert; anschließend startet die Vermehrung. Es entsteht neben dem normalen Bakterium auch die Sporen-ähnliche Form (SLP) mit der verdickten Wand, die metabolisch inaktiv ist [11] und somit durch die Antibiotikatherapie nicht beeinflusst wird (s. 3.4).

*C. burnetii* unterdrückt intrazellulär die Produktion von Sauerstoffderivaten und NO, die Bildung von Interferon- $\gamma$  und die Ausbildung von Suppressor-T-Lymphozyten. Durch das Wandern von Abwehrzellen zum Infektionsort während der akuten Phase bildet sich das für die chronische Krankheit typische Granulom aus [25] (s. 1.2.2.).

### Vermehrung von *C. burnetii* in zellfreien Kulturen.

In den vergangenen Jahren wurden Untersuchungen zur Vermehrung von *C. burnetii* unternommen. Der Erreger wurde als Prototyp eines in eukaryonten Zellen obligat intrazellulär wachsenden Bakteriums angesehen. In infizierten Zellen vermehrt sich *C. burnetii* in saurem Milieu der parasitophoren Vakuole. Neuere Untersuchungen zeigen, dass man *C. burnetii* in Spezialmedien in zellfreien Kulturen vermehren kann [26, 27]. Diese Beobachtung eröffnet neue Wege zur gezielten Untersuchung des Metabolismus dieses Erregers, eine weitere Aufklärung von Pathogenitätsmechanismen und Entwicklung von therapeutischen Interventionsstrategien.

### 1.1.3 Inaktivierbarkeit und Stabilität unter Umweltbedingungen

*C. burnetii* ist als Kleinzellvariante (SCV) sehr umweltstabil und kann viele Monate infektiös bleiben [28] (s. 1.1.1.). Phase-I- und -II-Formen werden durch 2% Formaldehyd zerstört, jedoch konnte infektiöstüchtiges *C. burnetii* aus Formalin-fixiertem Gewebe nach 4 bis 5 Mona-

ten extrahiert werden. Auch soll vermehrfähiges *C. burnetii* aus paraffiniertem Gewebe isoliert worden sein. Ebenso kann der Sterilisationsprozess mit gasförmigem Formaldehyd unterlaufen werden [28]. Effektiv inaktivieren 1% Phenol, 5% Wasserstoff-Peroxid, 5% Chloroform, 0,5% Hypochlorit und Hitzeeinwirkung ab 65°C für 1 h Coxiella [29, 30]. Durch Bestrahlung mit 10 kGy  $\gamma$ -Strahlen wird Coxiella vollständig inaktiviert, die Antigenität bleibt aber erhalten [31].

Desinfizieren ist möglich mit 70% Ethanol für 30 min. Autoklavieren bei 131°C für 15 min inaktiviert *C. burnetii* ebenso wie Behandlung mit 5% Formaldehyd für 5 min.

Das Bakterium überlebt im Sporenstadium (SLP) an Wolle von Schafen 7 bis 10 Monate bei 15–20°C, für länger als 1 Monat bei 4°C auf frischem Fleisch und für mehr als 40 Monate in Trockenmilchpulver bei Raumtemperatur [32, 33].

## 1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Für Menschen ist *C. burnetii* äußerst ansteckend, es genügen für die aerogene Infektion, wie erwähnt, 1 bis 10 lebensfähige Organismen [34]. Die Mortalitätsrate lag bei hospitalisierten Patienten in Frankreich bei 2,4% [30].

Für Hühnerembryonen ist Coxiella-LPS auch in sehr hohen Dosen nicht toxisch [35]. Infizierte Tiere wie Schafe und Ziegen zeigen keine Krankheitszeichen [36]. Trächtige Haustiere können nach Infektion mit *C. burnetii* verwerfen [37].

Beim Menschen werden je nach Symptomatik akutes und chronisches Q-Fieber und klinisch abhängig von der Manifestation Pneumonie, Endokarditis, Hepatitis und neurologische Affektionen unterschieden.

### 1.2.1 Akute Krankheit

Wenigstens 50% der Infektionen des Menschen mit *C. burnetii* verlaufen klinisch inapparent. Nach einer Inkubationszeit von 3 bis 30 Tagen treten unspezifische Symptome mit Fieber, Schweißausbrüchen, Übelkeit und Erbrechen, Diarrhö und extremer Abgeschlagenheit bei 5–20% der infizierten Patienten auf. Typisch sind Kopfschmerzen, die nach

Analgetikumgabe nicht nachlassen. Während dieser Phase kann das Bakterium im Blut vorhanden sein.

Die Krankheit ist häufig selbstlimitierend [38]. In endemischen Regionen wie in Südspanien, im Baskenland und in Frankreich soll ein Fieber, welches länger als 1 und kürzer als 3 Wochen dauert, häufig Q-Fieber sein [39].

**Pneumonie durch *C. burnetii*.** Sie tritt bei 1–2% der akut Erkrankten auf. Die häufigste Form ist eine Lobär-Pneumonie mit hohem Fieber. Ferner manifestiert sie sich als atypische Pneumonie und als schnell progressive Pneumonie. Häufig ist die Pneumonie verbunden mit im Röntgenbild scharf abgegrenzten Infiltraten und Konsolidierung des Alveolarraumes, welche segmental und nicht segmental vorhanden sein können. Die schnell progressive Form ähnelt klinisch sehr der durch *Legionella pneumophila* ausgelösten Pneumonie. Atelektasen und hiliäre Lymphknotenschwellung kommen vor. Im Röntgenbild zeigen sich die entstehenden Granulome als multiple runde Verschattungen. Eine akute Pneumonie kann in die chronische Form übergehen [40].

5% der Erkrankten haben gleichzeitig eine Splenomegalie und *C. burnetii* kann während dieser Zeit aus dem Liquor cerebrospinalis isoliert werden [41].

### 1.2.2 Chronische Krankheit

Etwa 5–15% der akuten Krankheitsfälle werden chronisch. Manifestationen sind Endokarditis, Vaskulitis, Osteomyelitis, Hepatitis, interstitielle Lungenfibrose und lang andauerndes oder rezurrentes Fieber. Die Analyse der >4000 Q-Fieber Fälle in den Niederlanden ergab folgende Risikofaktoren für einen chronischen Verlauf: vorangegangene Herzklappenchirurgie, Gefäßprothesen, Aneurysma, renale Insuffizienz und höheres Alter [42].

**Endokarditis.** Das gesamte Gefäßsystem kann betroffen sein, vor allem künstliche Klappen und die Wände von Aneurysmen, an die sich *C. burnetii* als Biofilm anheftet. Die Endokarditis ist die Hauptmanifestation des chronischen Q-Fiebers und umfasst etwa 10% aller Endokarditiden in England und Wales [43]. Endokarditis-Patienten haben häufig eine Spleno-

megalie, arterielle Embolie kann auftreten. Begleitet wird die Endokarditis von Anämie und Hämaturie. Eine durch Coxiella verursachte Endokarditis tritt bei Kindern sehr selten auf.

Bei 53% der durch *C. burnetii* ausgelösten Endokarditis-Fälle lässt sich das Bakterium im Blut nachweisen. Unter Therapie mit Doxycyclin und Chloroquin fällt die Bakterienmenge zügig ab. Wird die antibiotische Therapie phasenweise unterbrochen, werden Coxiellen resistent und führen zu Endokarditis-Rückfällen, die noch 3 Jahre nach Absetzen der Therapie manifest werden können [44, 45]. Coxiella überlebt in Granulomen, die sich nicht nur im Herzen und auf den Klappen bilden, für Jahre [45].

**Hepatitis.** Während eine durch *C. burnetii* ausgelöste Hepatitis in den USA und England sehr selten ist, ist sie die häufigste Form der chronischen *C.-burnetii*-Infektion in Frankreich und Spanien in Regionen mit intensiver Schafzucht [30]. Der Verzehr von Rohmilch und Rohmilchkäse scheint mit der Ausbildung der Hepatitis assoziiert. Die Hepatitis lässt sich klinisch und laborchemisch bestätigen (z. B. ALT-Erhöhung) mit histologisch ausgeprägten Granulomen im Leberbiopsat. Die Granulome haben einen dichten Fibrinring [46]. Eine Hepatitis kann ein Zusatzbefund bei Patienten mit Q-Fieber-Pneumonie sein, sie kann auch singular auftreten. Eine durch Coxiella verursachte Hepatitis mit Erhöhung der Transaminasen kann auch ohne Erhöhung von Entzündungsparametern, wie z. B. CRP, ablaufen [47].

**Neurologische Manifestation.** Manifestationen im Zusammenhang mit Q-Fieber sind schwere Kopfschmerzen, aseptische Meningitis und Enzephalitis. Im Liquor cerebrospinalis finden sich teils mononukleäre Zellen, der Proteingehalt ist erhöht, auch *C. burnetii* kann isoliert werden. Meningismus, eingeschränktes Sehvermögen, Parästhesien und eingeschränkte Sensorik können vorkommen. Guillain-Barré-Syndrom, ausgelöst durch *C. burnetii*, ist beschrieben [6]. Coxiella kann am Auge Uveitis und Netzhautablösung verursachen [48].

20–30% der Erkrankten klagen über chronisches Müdigkeitssyndrom als Post-Fieber-Manifestation. Coxiella kann während dieser Zeit teilweise bzw. phasenweise über DNA-NAT in Blut und Knochenmark nachgewiesen werden [12, 49, 50].

**Infektion bei Haustieren.** Infektionen mit *C. burnetii* bei Haustieren verlaufen in der Regel asymptomatisch. In der akuten Phase kann der Erreger im Blut und in Organen wie Lunge, Leber und Milz nachgewiesen werden. In der chronischen Phase wird *C. burnetii* mit Kot und Urin, aber auch in der Milch ausgeschieden. Bei trächtigen Tieren kann es zu Aborten (Schaf und Ziege) und zu Nachkommen mit niedrigem Geburtsgewicht (Rind) kommen. Hohe Erregermengen findet man in Geburtsprodukten wie Plazenta und in den Neugeborenen [51, 52].

### 1.3 Epidemiologie

Q-Fieber durch *C. burnetii* ist eine weltweit verbreitete zoonotische Infektionskrankheit, die in Europa einen saisonalen Gipfel im Frühjahr und Frühsommer zeigt [53]. Zecken, die mit *C. burnetii* infiziert sind, scheinen eine wesentliche Rolle bei der Aufrechterhaltung des Übertragungszyklus in der Natur bei wild lebenden Spezies zu spielen. Zecken scheiden mit dem Kot hohe Mengen an infektiösem Erreger aus und können dadurch den Erreger übertragen. Bei Ausbrüchen bei Nutztieren scheint der wesentliche Übertragungsweg der enge Kontakt der Tiere untereinander zu sein [10].

Der direkte und indirekte Nachweis einer Infektion mit *C. burnetii* ist nach Infektionsschutz-Gesetz (IfSG § 7, Abs. 9) namentlich meldepflichtig.

Die jährliche Inzidenz in Deutschland liegt bei 1 bis 5 Fällen pro 10<sup>6</sup> Einwohner. In den Jahren 2000 bis 2011 sind dem Robert Koch-Institut zwischen 200 und 500 Infektionen jährlich gemeldet worden. Die Mehrzahl der Infektionen trat regional-herdförmig auf und war an das Halten von oder den Kontakt mit Schafen [54], besonders beim Ablammen, gebunden [53]. So konnte z. B. ein größerer Q-Fieber-Ausbruch mit dem Ablammen auf einem Bauernmarkt in Verbindung ge-

bracht werden, bei dem etwa 300 Personen erkrankten [55].

Während der Epidemie in den Niederlanden von 2007 bis 2009 wurde *C. burnetii* vor allem durch Ziegen und Ziegenmist übertragen [56, 71]. Im Zentrum der Epidemie (Hertogenbosch) hatten 10,7% (84 von 785) der im Screening-Programm Getesteten Phase-II-IgG-Antikörper, sodass sich für die gesamte Region eine Zahl von etwa 40.600 Exponierten berechnete [57].

Q-Fieber-Ausbrüche der vergangenen Jahre in Europa bei Schafherden betrafen Baden-Württemberg [58], Bayern [59] und Thüringen [60], Frankreich [61], Cheltenham in England [62] und Bosnien [63].

*C. burnetii*-infiziert waren auch rückkehrende Soldaten aus Kuwait [64], Irak [65] und Afghanistan [66].

Tiere, in denen *Coxiella burnetii* endemisch vorhanden ist, ohne dass diese Tiere Krankheitszeichen zeigen, sind Wiederkäuer wie Schafe, Ziegen und Rinder, aber auch Hunde, Kaninchen, Katzen und Vögel [10] (s. 1). Reservoir für die erneute Besiedelung endemischer Gebiete nach Keulen potenziell infizierter Nutztiere (Ziegen und Rinder) und Sterilisation des kontaminierten Mists waren in den Niederlanden sehr wahrscheinlich Ratten der Spezies *Rattus norvegicus* und *Rattus rattus*, bei denen eine *Coxiella*-DNA-Prävalenz in der Milz von 3–5%, und eine Antikörperprävalenz im Serum von 14–50% gefunden wurde [67].

Übertragungswege von *C. burnetii* sind:

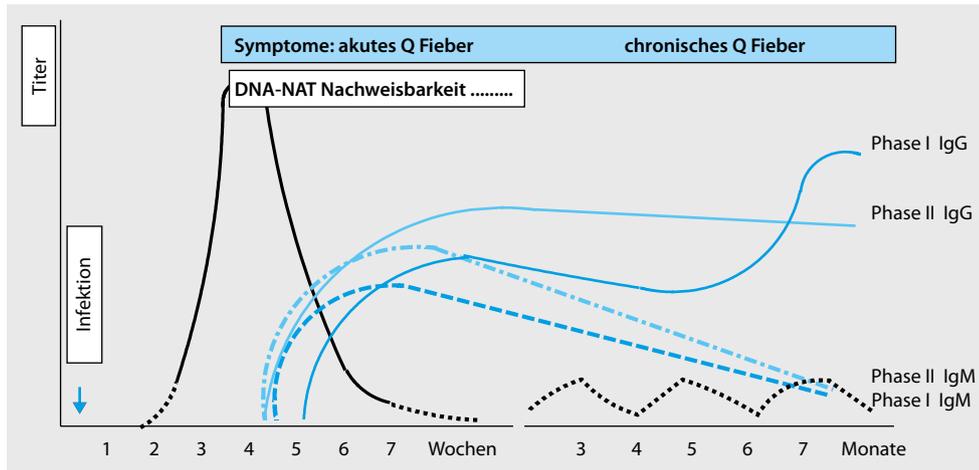
- **Aerogen:** Das Einatmen von kontaminiertem Aerosol oder Staub [62, 64, 68, 69, 70, 71]. Dieser Weg ist der Hauptübertragungsweg für den Menschen [72]. Das Risiko der *Coxiella*-Übertragung durch Staub besteht auch noch Jahre, nachdem Schafherden eine Region verlassen haben [73].
- **Kontakt: Mensch zu Mensch, Tier zu Mensch, Zeckenkot zu Mensch:** direkter und indirekter Kontakt mit kontaminiertem Gewebe, wie z. B. Schaf-Plazenta oder auch mit Ziegenmist [74]. Zeckenkot kann hochinfektios sein, da ein Gramm Zeckenkot etwa 10<sup>9</sup> Coxiellen enthält. Nach dem Ablammen können im Boden infek-

tionsfähige Coxiellen bis zu 150 Tage nachgewiesen werden [32]. Durch Exposition mit kontaminiertem Stroh, Pferch oder Staub kann *C. burnetii* übertragen werden [75, 76], aber auch durch Kontakt mit kontaminierter Wäsche [77]. *C. burnetii* kann von Haustieren wie Kaninchen und Katzen auf den Menschen übertragen werden. In Schafen kann eine *Coxiella*-Infektion während der Trächtigkeit reaktiviert werden.

- **Oral:** Verzehr von kontaminierter Milch oder Milchprodukten [70, 78].
- **Transkutan/perkutan:** Eine Übertragung von *C. burnetii* durch Arthropoden (besonders von Zecken der Gattung *Ixodes*, *Dermatocenter*, *Hyalomma* u. a.) zwischen Haustieren wurde berichtet. Die Übertragung von *C. burnetii* auf den Menschen durch Zecken scheint jedoch ein seltenes Ereignis zu sein [79]. In den Niederlanden und Süddeutschland war die Durchseuchung von Zecken in endemischen Gebieten gering [80, 81].
- **Sexuell:** In der Frühphase der Infektion kann eine Übertragung Mann zu Frau stattfinden, wie aus Australien [82] und von einem Irak-Rückkehrer der US Army, der die Infektion auf seine Frau übertrug, berichtet [83]. *Coxiella burnetii* wurde in Bullen-Sperma nachgewiesen [84], was die Penetration dieses Bakteriums in das Sexual-Compartment von Säugern belegt.

**Kofaktoren, die den Verlauf in eine prolongierte oder chronische Infektion beeinflussen.** Abhängig vom Infektionsweg kann sich primär eine Pneumonie, Hepatitis oder Endokarditis ausbilden (s. 1.2.2.). *Coxiella burnetii* ist in Immunsupprimierten häufiger prävalent und löst häufiger eine chronische Infektion aus [10, 74].

In London wurden Schwangere nach wiederholten Fehlgeburten untersucht. Bei ihnen wurde eine *Coxiella*-Seroprävalenz von 4,6% gefunden, während Vergleichspopulationen eine Prävalenz von 0,15–2% hatten [85]. In einer endemischen Region von Kanada wurde unter Schwangeren eine *C. burnetii*-Seroprävalenz von 3,8% gefunden [86]. Das Bak-



**Abb. 2** ◀ Zeitlicher Verlauf der *Coxiella burnetii*-Infektion und serologische Antwort, messbar über Phase-I- und -II-Antikörper. Bei chronischem Verlauf ist die DNA auch Jahre nach der akuten Infektion phasenweise messbar und der Antikörpertiter bleibt hoch. Schema in Anlehnung an Van Wijk et al. ([133], L. Guertler)

terium wurde in Muttermilch und postpartaler Plazenta nachgewiesen [33, 87]. Möglicherweise wird auch im Menschen *C. burnetii* während der Schwangerschaft reaktiviert.

**Alter und Geschlecht.** Bei Kindern läuft die Infektion normalerweise asymptomatisch ab, chronische Verläufe sind nicht beschrieben [10]. Mit höherem Alter treten häufiger Komplikationen auf. Männer sind doppelt so häufig infiziert wie Frauen [88].

Eine direkte, nicht sexuelle Mensch-zu-Mensch-Übertragung ist bisher nicht bewiesen worden [89], jedoch wurde eine mögliche Mensch-zu-Mensch-Übertragung zwischen Mitgliedern einer Lebensgemeinschaft diskutiert [90]. *C. burnetii* ist bei Autopsie übertragen worden. Nur eine Übertragung über Bluttransfusion ist bekannt [91, 92, 93].

Laborinfektionen mit *C. burnetii* sind wiederholt aufgetreten [29, 94], weswegen S3-Bedingungen für das Vermehren von Coxiellen gefordert sind. Laborinfektionen mit *C. burnetii* stehen in England an 4. Stelle aller Laborinfektionen. Nach aktueller Biostoffverordnung fällt Coxiella unter Erreger der Risikogruppe 3.

Rinder, Schafe und Ziegen werden als Hauptinfektionsquelle des Menschen mit *C. burnetii* angesehen. Weltweit wurden in den vergangenen Jahrzehnten Untersuchungen zur Verbreitung von *C. burnetii*-Infektionen in Nutztieren durchgeführt. Guatteo und Mitarbeiter [95] geben die Prävalenz von *C. burnetii*-Infektionen in Milchtieren mit 20–38% bei Kühen und 15–25% bei Schafen und Ziegen an. In der

Regel wurden diese Untersuchungen nur in einzelnen Regionen und an einer relativ kleinen Anzahl von Tieren durchgeführt, sodass die Angaben nur eine Abschätzung der Prävalenz in den verschiedenen Regionen ermöglicht. Für Deutschland liegen neuere Untersuchungen aus Sachsen und Thüringen vor, die zeigen, dass Antikörper gegen Coxiella in einigen Herden nachgewiesen werden können [60, 96].

## 1.4 Nachweismethoden

### 1.4.1 Serologische Nachweismethoden

**Antikörper.** Es können neben IgM- und IgG- auch IgA-Antikörper gegen *C. burnetii* nachgewiesen werden. Antikörper werden 2 bis 3 Wochen nach Auftreten klinischer Symptome nachweisbar, sie steigen dann gewöhnlich für einige Monate an und persistieren für Jahre (■ **Abb. 2**). Kreuzreaktionen von *C. burnetii* mit anderen Bakterien sind nach Ansicht einiger Autoren gering [97], können aber mit Antigenen von Legionella, Bartonella und Pseudomonas nicht ausgeschlossen werden [98, 99, 100]. Hohe Antikörpertiter gegen Phase I, die über eine Zeit von 600 Tagen kaum abfallen, weisen auf einen chronischen Verlauf hin [44, 101, 102]. Zwölf Monate nach Übertragung von Coxiella sind in 62–83% der Blutproben noch IgM Phase II nachweisbar [103].

**Indirekter Immunfluoreszenztest.** Der Mikro-Immunfluoreszenztest gilt als Referenzstandard, seine Konfektion wurde schon 1983 beschrieben [104]. Der Test

wird etwa 1 bis 2 Wochen nach Auftreten der Symptome positiv, auch IgM-Antikörper können damit nachgewiesen werden [105]. Typischerweise gelten als positiv Titer ab 1:800 für IgG bei chronischem Q-Fieber [106] und ab 1:50 für IgM und 1:200 für IgG bei akutem Q-Fieber [107]. Die Bewertung hat nach den Titerangaben der Testhersteller zu erfolgen.

Als positiv für den Nachweis einer akuten oder reaktivierten Infektion gilt wie üblich eine Serokonversion bzw. ein vierfacher Titeranstieg.

### ELISA, Agglutinationstest und KBR (Komplement-Bindungs-Reaktion).

Alle 3 Tests sind für die Routinediagnostik entwickelt worden. Die KBR wurde für frühe Prävalenzstudien am häufigsten benutzt [108]. Die KBR gilt als positiv, wenn Titer gegen Phase I größer 1:200 bei chronischem Q-Fieber nachgewiesen werden. Antikörper gegen Phase-II-Antigene gelten ab 1:40 als positiv bei akutem Q-Fieber. Wegen des Zeitaufwandes und der Nicht-Nachweisbarkeit von IgG2, IgG4 und IgA und mangelnder Standardisierung wird die KBR zunehmend durch ELISA oder Mikro-Immunfluoreszenztest ersetzt. Es gibt nur wenige Hersteller, die einen ELISA zur Bestimmung von *C. burnetii*-Antikörpern anbieten. Phase I und II, und IgM und IgG werden in separaten Tests bestimmt. Für das Erkennen infizierter Blutspender in den Niederlanden wurde der ELISA verwendet und reaktive Proben wurden mit der PCR weiter abgeklärt [101, 103].

**Tab. 1** Antikörperprävalenzen

Land	Jahr	Seroprävalenz (%)	Literatur
Deutschland	2001	15–22	Hellenbrand et al. [53]
Niederlande	1987	45	Richardus et al. [126]
Niederlande	2012	12 (IgG)	Hogema et al. <sup>a</sup> [127]
Frankreich	1992	4	Tissot-Dupont et al. [30]
Neufundland	2001	8	Hatchette et al. [128]
Türkei	2008	32 (IgG), 3 (IgM)	Kilic et al. [129]
Spanien	2007	23 (IgG), 0,3 (IgM)	Bartolomé et al. [130]

<sup>a</sup>In den Testkollektiven sind falsch-positive Reaktionen nicht ausgeschlossen.

**Westernblot.** Von *C. burnetii*, die in Phase 1 wachsen, sind 15 Antigene auf dem Streifen nachweisbar, die ein Molekulargewicht von 20 bis 160 kD haben. Mit Seren aus der akuten Infektionsphase werden 7 bis 10 verschiedene Antigene angefärbt, besonders die Banden mit 50, 80 und 160 kD, mit Seren aus der chronischen Phase 12 bis 15 Antigene [109, 110].

Wenn die *C.-burnetii*-Infektion antibiotisch behandelt wird, findet ein langsamer Abfall der Antikörpertiter statt. IgM-Antikörper können über 670 Tage nachweisbar sein [111]. In einer anderen Studie konnten IgM-Antikörper noch 1 Jahr nach Infektion in 3% von 162 Personen nachgewiesen werden [112]. IgA-Antikörper sind bei der chronischen *C.-burnetii*-Infektion in höheren Titern nachweisbar [105].

### 1.4.2 Direkter Nachweis von *Coxiella burnetii*

**1.4.2.1 Anzucht.** Der Nachweis von *C. burnetii* erfolgt in Zellkultur auf L929-Fibroblasten oder anderen Zellen, wie z. B. Vero-Zellen [26, 113, 114]. Als Ausgangsmaterial wird Untersuchungsmaterial verwendet, das über Filtration durch 0,45-µm-Filter gewonnen wird. Geeignete Materialien für die Analyse sind Extrakte von Gewebeproben und Blut vor Beginn einer antibiotischen Therapie [115]. Die Anzucht von *C. burnetii* hat unter S3-Bedingungen zu erfolgen, auch um Laborinfektionen zu vermeiden [94].

Neuere Untersuchungen zeigen, dass *Coxiella* in ACCM-Medium (acidified citrate cysteine medium) als Phase-II-*Coxiella* nach etwa 6 Tagen Inkubation angezüchtet werden kann [26, 116]. Die Bakterien wuchsen um bis zu 3 log<sub>10</sub> und waren infektiös [26].

Da nur wenige Labore die Zulassung für den Umgang mit vermehrungsfähigen Klasse-3-Erregern haben, erfolgt meist, wenn notwendig, der Nachweis und die Quantifizierung über die PCR.

Werden SCID-Mäuse (combined immunodeficiency disease) mit *Coxiella* kontaminiertem Material inokuliert, können 1 bis 10 Bakterien nachgewiesen werden [114, 116].

**1.4.2.2 NAT – Nukleinsäure-Amplifikations-Test.** Für den Nachweis von *C.-burnetii*-Nukleinsäure werden konventionelle PCR, nested PCR oder auch die Real-time-PCR eingesetzt [117]. Verwendet werden Primer aus dem Superoxid-Dismutase-Gen [118], Plasmid oder anderen Genabschnitten [8, 119]. Ein *Coxiella*-DNA-Nachweis gelingt auch noch aus Paraffin-eingebettetem Gewebe. Eine Real-time-PCR mit einer Empfindlichkeit von 1 copy DNA ist entwickelt worden [120]. *Coxiella* kann 2 Wochen nach Übertragung mittels PCR im Blut nachgewiesen werden [103].

Weitere, viel genutzte Primer-Bindungsstellen für die PCR sind Genom-Regionen mit repetitiven Elementen und das äußere Membranprotein OMP [121, 122, 123]. Zuverlässige PCR-Nachweismethoden für *Coxiella* sind für die Genotypisierung (s. oben) verwendet worden [8, 17, 21]. Eine asymmetrische PCR mit Hybridisierung und Analyse der Produkte in Lösung, die gleichzeitig auch weitere Bakterien nachweist, wurde in den Niederlanden entwickelt [124]. Die umfangreichste Charakterisierung von *Coxiella*-Stämmen erfolgte über die Amplifikation und Sequenzierung von 139 chromosomalen und plasmidischen ORF (open reading frame), einschließlich der Gene für die LPS-Biosynthese [119]. Diese Methode wurde zur

Charakterisierung der Stämme des Ausbruchs in den Niederlanden [19] und der Stämme in Spanien [125] benutzt.

## 2 Blut- und Plasmaspender

### 2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Bis heute ist in Deutschland über keine transfusionsassoziierte *C.-burnetii*-Übertragung berichtet worden. Für Blutspender werden die in **Tab. 1** aufgeführten Antikörperprävalenzen angegeben [12].

Derzeit werden Blutspenden in Deutschland nicht auf Vorhandensein von *C. burnetii* bzw. Antikörper gegen *C. burnetii* getestet. *C. burnetii* kommt auch in Deutschland besonders in Gegenden mit hoher Schaf-Dichte vor. Wie effizient infizierte Spender aufgrund von febrilen Symptomen und der mit der Infektion assoziierten allgemeinen Abgeschlagenheit von der Spende ausgeschlossen werden, liegt an den zum Zeitpunkt der Spende vorhandenen Symptomen, der anamnestischen Erhebung und dem zeitigen Bekanntwerden von lokalen Ausbrüchen. 60% der Erstinfektionen beim Erwachsenen verlaufen asymptomatisch [10], die während dieser Phase auftretende Bakteriämie ist nach den Untersuchungen in den Niederlanden im Promillebereich [127].

Grundsätzlich ist davon auszugehen, dass teils während der akuten und teils während der chronischen Krankheitsphase asymptomatische Personen Blutspenden werden [92]. Nachdem *C. burnetii* in Makrophagen und Monozyten wächst, kann das Bakterium schnell mit diesen Zellen über die Blutbahn im Körper verbreitet werden. Bei Personen mit chronischem Befall der Gefäßwände ist mit temporärem Abschwemmen von *C. burnetii* zu rechnen. Bei Personen mit akuter Infektion wird *C. burnetii* über Blut- und Lymphbahn im Körper verbreitet, sodass auch im Liquor cerebrospinalis und Urin das Bakterium nachgewiesen werden kann [131]. Die Nachweisbarkeit von *Coxiella* in verschiedenen Körperflüssigkeiten ist ein weiterer Hinweis dafür, dass *C. burnetii* eine temporäre Bakteriämie auslösen kann.

## 2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Es gelten für den Ausschluss von Spendern, die *C. burnetii*-infiziert sein könnten, die allgemeinen Ausschlusskriterien, die auf eine akute oder chronische Infektion hinweisen, wie Temperaturerhöhung, Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Diarrhö innerhalb einer Woche vor der Spende und Anämie.

Für regionale Ausbrüche gilt Kontakt mit Schafen, die Nähe und Aufenthaltsdauer an einem potenziellen Übertragungsort und Exposition gegenüber kontaminiertem Tiermaterial und Staub im Umkreis von 5 Kilometern als Risiko (s. unter 1.3). Auch kurzfristige Fieberepisoden und Kontakt mit einer an Q-Fieber erkrankten Person sind ein mögliches Ausschlusskriterium. Der Ausschluss wird entsprechend der epidemiologischen Situation nach individueller Bewertung und Risikoabschätzung des Arztes vor der Spende vorgenommen.

Bei Verdacht auf Exposition zu *C. burnetii* sollte bei asymptomatischen Personen eine Karenzzeit von 4 Wochen bis zur nächsten Spende eingehalten werden. Lag eine Q-Fieber-Infektion vor, die mit oder ohne Doxycyclin plus Chloroquin-Behandlung überwunden wurde, ist es möglich, den Spender 4 Monate nach Abklingen der Symptome wieder zur Spende zuzulassen [132].

Hat eine Blutspende während der Inkubationszeit mit *C. burnetii* stattgefunden, müssen die daraus hergestellten Blutkomponenten bei Kenntnis der Risikokonstellation zurückgerufen werden; sie dürfen nicht transfundiert werden (Ausnahmen s. 3.6.). Ist die Konserve transfundiert worden, dann sollte entsprechend der Konstellation der klinischen Symptomatik des Empfängers eine Therapie mit Doxycyclin plus Chloroquin oder einem Fluorchinolon erwogen werden. Weitere Nachuntersuchungen analog zum Rückverfolgungsverfahren für virale Infektionen (Votum 34 des AK Blut) sind nicht erforderlich.

## 2.3 Spendertestung und Aussagekraft

### 2.3.1 Antikörperbestimmung

Eine Bestimmung von *C. burnetii*-Antikörpern bei Blutspendern findet nicht statt, sie ist aus technischen Gründen nur über ELISA möglich [127]. Eine routinemäßige Antikörpertestung wird bei der derzeitigen epidemiologischen Situation in Deutschland nicht als notwendig erachtet. Der Antikörpernachweis bedeutet im Allgemeinen Immunität und nicht Infektiosität.

Jedoch wurden bei 38 von 942 getesteten Blutspendern in Südfrankreich erhöhte IgM- und IgG-Titer gefunden; 2 von den 38 Spendern, letztlich 0,2% (2 von 942) entwickelten Symptome von akutem Q-Fieber, die zum Zeitpunkt der Spende nicht erkennbar waren [30].

### 2.3.2 Nachweis von *Coxiella burnetii*

Die sehr zeitaufwendige Anzucht unter S3-Bedingung im Shell-Vial-Test (Kultur in z. B. 48-well Mikrotiterplatten) ist als Screeningtest ungeeignet. Der Nachweis über die DNA als NAT, z. B. als PCR, wird routinemäßig nicht durchgeführt und ist entsprechend der derzeitigen epidemiologischen Situation nicht erforderlich. Bei niederländischen Blutspendern wurden in der Region mit der höchsten *C. burnetii*-Inzidenz 1004 Spenden mit der PCR getestet und 3 (0,3%) als Genom-positiv identifiziert [133]. Das Vorgehen zeigt, dass bei Bedarf die NAT eingeführt werden kann. Inwieweit PCR-positiv Spenden auch zu einer Infektion des Empfängers führen, ist unklar, da bisher weltweit nur eine Infektionsübertragung über Bluttransfusion gemeldet wurde [92].

In humanem Blut, Leukozyten depletiertem Blut, Erythrozytenkonzentrat und Plasma, welche mit *C. burnetii* gespikt wurden, blieb *C. burnetii* für mehr als 6 Wochen infektiös [134]. Aus mit *C. burnetii* gespiktem Rattenserum konnte das Bakterium nur durch Filtration mit 0,1-µm-Filtern entfernt werden, während Hitze von 56°C für 30 min nicht effektiv war [135].

Es besteht für Deutschland Forschungsbedarf für die Abklärung der Bakteriämie nach Exposition, der Art und Dauer von Infektketten und der Erkennung

der Zirkulation von verschiedenen *Coxiella*-Stämmen.

## 2.4 Spenderbefragung

Eine spezielle Befragung der Spender wegen eines möglichen Risikos einer Infektion mit *C. burnetii* erscheint nur sinnvoll, wenn ein Q-Fieber-Ausbruch bekannt geworden ist. In der Regel zeigen Tiere, die *C. burnetii*-infiziert sind, keine Krankheitssymptome, können aber den Erreger über längere Zeit in Kot, Urin, Vaginalsekret und Milch ausscheiden, sodass eine Befragung zum Kontakt mit infizierten Haustieren oder in der Landwirtschaft nur dann indiziert ist, wenn eine bestätigte Infektion mit *C. burnetii* bekannt geworden ist.

Die klinische Symptomatik einer akuten Coxiellen-Infektion, z. B. Grippe-ähnliche Symptome oder chronische, z. B. rezidivierende Endokarditis, werden mit der allgemeinen Befragung abgedeckt und betroffene Personen werden von der Spende ausgeschlossen.

## 2.5 Spenderinformation und -beratung

Eine spezifisch auf *C. burnetii* ausgerichtete Befragung und Beratung wird regional erforderlich, wenn ein Ausbruch bekannt geworden ist. Die Möglichkeit einer Infektionsübertragung ist vorwiegend auf Bauernmärkten beim Ablammen, auf Tieraussstellungen, durch engen Kontakt zu Mist, beim Durchziehen von Schafherden und Einatmen kontaminierter Staubes und beim Verarbeiten von Naturwolle gegeben. Da die Übertragung von *C. burnetii* durch Staub und Wind erfolgen kann, sind für die Beurteilung der Infektionswahrscheinlichkeit von Spendern bei lokalen Ausbrüchen auch die Einflüsse von Wetterbedingungen zu berücksichtigen [62, 64, 72].

Q-Fieber kann auch bei Reisen in endemische Länder erworben werden, wie der Fall eines Rückkehrers aus Australien in die USA und von 5 Reiserückkehrern aus Afrika, Südamerika und den Philippinen nach Spanien zeigen [136, 137]. Bei Bedarf erfolgen Aufklärung und Befragung nach den spezifischen Symptomen des Q-Fiebers (wie unter 1.2 beschrieben).

### 3 Empfänger

#### 3.1 Prävalenz und Inzidenz von Blut-assoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Es liegen wenige Daten zur Beurteilung der Prävalenz und Inzidenz bei Empfängern in Deutschland vor. Eine regional unterschiedliche Immunität muss angenommen werden. Für ländliche Regionen wurden Coxiella-Antikörper-Prävalenzen in Frankreich von bis zu 7% [100], in der Schweiz 11–17% [68] und in England unter Nicht-Exponierten von 4% und Exponierten von 15% [138] berichtet. Etwa 12% der Bevölkerung von Montana, USA, haben *C. burnetii*-Antikörper [139]. Unter Veterinären in Deutschland wurde eine Coxiella-Antikörper-Prävalenz von 38% (162 von 424) gefunden [59].

#### 3.2 Abwehrlage (Resistenz, vorhandene Immunität, Immunreaktivität, Alter, exogene Faktoren)

Eine natürliche Resistenz gegen *C. burnetii* liegt beim Menschen nicht vor. Eine geringe Anzahl Bakterien kann über Komplement-Lyse inaktiviert werden. Bei überstandener akuter Infektion wird Immunität aufgebaut, es gibt chronische Verläufe, wie z. B. Patienten mit Endokarditis zeigen, bei denen in Einzelfällen die Immunität nicht ausreichend ist und eine persistierende Infektion beobachtet wird (s. unter 1.2.2).

Eine Immunantwort kann über spezifische Antikörpertests 2 bis 3 Wochen nach Infektion nachgewiesen werden (s. unter 1.4.1.). Mit höherem Alter ist der Anteil der auftretenden Komplikationen nach akuter *C. burnetii*-Infektion erhöht. Faktoren, die eine Infektion mit *C. burnetii* begünstigen, sind Immunschwäche, ausgelöst durch Infektionen wie HIV [100] oder immunsuppressive Therapie. Chronische *C. burnetii*-Infektionen finden sich gehäuft bei immunkompromitierten Personen [99].

#### Impfung

Ein Impfstoff gegen *C. burnetii* ist über die Züchtung des Bakteriums auf Hüh-

neri-Dottersack, Anreicherung und anschließende Formalin-Inaktivierung hergestellt worden [140]. Breite Anwendung hat er bis 1994 weder bei Risikopersonen mit Kontakt zu Schafen noch in der Schafhaltung gefunden, auch wenn in Australien keine der geimpften Personen Q-Fieber entwickelt hat [141]. In Australien wurde 2008 erfolgreich ein weiteres Impfprogramm entwickelt, das das Risiko einer Q-Fieber-Erkrankung bei Personen mit einem Infektionsrisiko wie Arbeitern in Schlachthöfen oder Schaf-Farmern erniedrigen soll [142]. Auch in den Niederlanden wurde von den Gesundheitsbehörden die Impfung von Personen, die ein Risiko einer schweren Erkrankung nach einer *C. burnetii*-Infektion aufweisen, empfohlen [56, 143]. Ob und inwieweit Impfungen gegen Q-Fieber in Deutschland bei Personen mit einem Risiko, schwer an einer Infektion mit *C. burnetii* erkranken zu können, oder mit einem hohen Infektionsrisiko sinnvoll sind, bleibt offen. Die Beantwortung dieser Frage ist auch abhängig von der Entwicklung der *C. burnetii*-Epidemiologie.

Ein kommerzieller, in Ungarn hergestellter, inaktivierter Coxiella-Phase-I-Impfstoff steht für die Immunisierung von Tieren seit 2010 zur Verfügung. Bei Schafen angewandt, führte die Impfung initial nicht zur Verhinderung der Infektion, aber zu einer Verringerung des Ausscheidens von Coxiella um 92–98% [36]. Die Impfung war am wirksamsten, wenn sie während der ersten Trächtigkeit gegeben wurde [56]. Nach Impfung wurde Coxiella-DNA des Impfstoffs innerhalb von Stunden bis zu 9 Tagen in der Milch von geimpften Ziegen gefunden [78]. Zwei Jahre nach der Impfung schieden Schafe und ihre Nachkommen keine Coxiellen mehr aus, jedoch blieb auch nach 4 Jahren Coxiella in der Umgebung der Tiere nachweisbar [144], was auf die Bedeutung von Tierreservoirs, wie z. B. Ratten, hinweist [67]. Inwieweit Impfungen von Nutztieren wie Rinder, Schafe und Ziegen die Epidemiologie von *C. burnetii* beeinflussen können, ist nach dem jetzigen Stand der Kenntnisse unklar [145]. Zwar wurde in den Niederlanden während der *C. burnetii*-Epidemie im Jahr 2009 die Impfung von Schaf- und Ziegenherden eingeführt, es bleibt aber abzuwarten, inwieweit diese

Maßnahme zur Reduzierung der Inzidenz von Erkrankungen beigetragen hat [143].

#### 3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Die Mehrzahl der Coxiella-Infektionen (>60%) verläuft mit oder ohne Fieber selbstlimitierend [38]. Bei klinischer Manifestation ist mit 2% Todesrate zu rechnen [30], abhängig vom Zeitpunkt des Einsetzens der antibiotischen Therapie, vom Alter und Immunstatus des Infizierten. Wie unter 1.2. beschrieben, kann die Infektion mit *C. burnetii* asymptomatisch, akut oder chronisch verlaufen.

#### 3.4 Therapie und Prophylaxe

Mittel der Wahl bei akuter Infektion ist Doxycyclin, weiterhin wirksam sind Ampicillin, Chloramphenicol, Fluorchinolone und ggf. Rifampicin in Kombination mit Doxycyclin oder Ciprofloxacin [146]. Antibiotika wie Erythromycin, Gentamicin, Penicillin G und Streptomycin sind nicht wirksam [147]. Die akute Infektion sollte wenigstens für 2 Wochen behandelt werden.

Die chronische Infektion wird bis zum Abklingen der Symptome bzw. für 3 Jahre vorzugsweise mit Doxycyclin in Kombination mit Hydroxychloroquin zum Alkalisieren des Inhalts der Phagosomen oder mit Ampicillin behandelt. Nach Meinung anderer Autoren ist bei Endokarditis eine lebenslange Behandlung empfehlenswert [111], da wiederholte Reaktivierungen (Rückfälle) bei Therapiepausen beobachtet wurden [44]. Neuere Alternativen für eine antibiotische Therapie sind Tigecyclin und Clarithromycin [113].

#### 3.5 Übertragbarkeit

Wie unter 1.3 beschrieben ist *C. burnetii* hoch kontagiös; 1 bis 10 Bakterien reichen aus, um einen Menschen zu infizieren. Die Übertragung erfolgt am häufigsten über eingeatmetes und ingestiertes, kontaminiertes Material (s. 1.3). In Plazentagewebe infizierter Tiere werden Konzentrationen von bis zu  $10^9$  Bakterien pro Gramm Gewebe erreicht [6]. Intrauterine Übertragung beim Menschen ist beschrieben worden [87]. Die Sporen-ähn-

lichen Partikel als Dauerformen von *Coxiella burnetii* bleiben viele Monate lang in der Umwelt infektiös, sodass das Ende der Übertragbarkeit nach einem Ausbruch schwer vorhersagbar ist, aber Jahre betragen kann [144].

Eine Übertragbarkeit über Blut ist theoretisch möglich, jedoch ist bisher nur 1 Fall beschrieben worden [92]. Ein möglicher weiterer Fall wird in den Niederlanden diskutiert, wobei der Empfänger jedoch aus einer Region stammte, die durch die niederländische Q-Fieber-Epidemie besonders betroffen war [127, 143].

Eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung kann intrafamiliär über Kontakt mit kontaminierter Wäsche [77] vorkommen. Bei der Behandlung von infizierten Patienten wurde keine nosokomiale Übertragung beobachtet [12]. Eine sexuelle Übertragung während der akuten Infektionsphase ist unter 1.3 beschrieben [82, 83].

### 3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Eine Übertragung von *C. burnetii* über Blut und Blutprodukte ist bisher in Deutschland nicht bekannt geworden.

Eine Übertragung über Fresh-Frozen-Plasma ist theoretisch möglich, aber bisher nicht berichtet worden. Die Gefahr einer Übertragung über Plasmaprodukte ist nicht gegeben, da Bakterien bei der Fraktionierung und Filtration abgereichert werden und bei der Behandlung der Produkte durch Hitze oder das Solvent-Detergent-Verfahren inaktiviert bzw. zerstört werden.

## 4 Blutprodukte

### 4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Die Belastung von Blut oder Plasma ist in Deutschland unbekannt, sie ist jedoch als sehr gering anzusehen. In Albacete, Südost-Spanien, lag die Seroprävalenz bei 863 Blutspendern von Anti-Phase-II-IgG bei 23,1%, die von IgM, d. h. fragliche akute Infektion, bei 0,3% [130]. Unter 1004 Blutspenderproben in den Nieder-

landen im Jahr 2009 enthielten 3 (0,3%) Coxiella-DNA, Coxiella-IgG war in 66 von 543 (12,2%) Spenden nachzuweisen [127]. In der Untersuchungszeit serokonvertierten 10 Spender, was einer Inzidenz von 5,7% pro Jahr entspricht [127]. Aus Blut und zellulären Blutkomponenten ist *C. burnetii* nicht zu entfernen, da das Bakterium intrazellulär vorliegt bzw. zellassoziiert ist und auch in Monozyten wächst. Bei akuter Infektion ist *C. burnetii* auch in Granulozyten vorhanden, kann jedoch über die Leukozytendepletion nicht vollständig entfernt werden.

Während des Q-Fieber-Ausbruchs in den Niederlanden wurde eine spezifische Spenderauswahlstrategie entwickelt, mit der das Risiko einer Coxiella-Übertragung sehr gering gehalten werden sollte: Ausschluss aller Spender, die ein berufliches Expositionsrisiko haben, aller, die innerhalb eines Kreises von 5 km Radius vom Ausbruchsort wohnen, aller, die Grippe-ähnliche Symptome aufweisen oder innerhalb der letzten 2 Wochen hatten, und zusätzlich Testung der Spenden mit einem Phase-I-ELISA auf IgM, auch wenn mit diesem Test eine hohe falsch-positiv-Rate zu erwarten war [133].

Testen von Blutspendern auf Phase-I-IgG hat eine 100% Sensitivität, wenn der Titer über 1024 ist [143]. Bei dieser Ausschlussstrategie, Antikörpertest und Spenderselektion, kam es in den Niederlanden zu keiner belegten Übertragung von Coxiella durch Transfusion [143, 148].

### 4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

#### 4.2.1 Abtrennung

Eine Abreicherung von *C. burnetii* kann über die Leukozytendepletion erfolgen, eine vollständige Entfernung ist dies jedoch nicht. Aus Plasma kann eine Abreicherung durch hochtourige Zentrifugation oder über Filtration durch 0,2-µm-Filter erfolgen. Ein Teil von *C. burnetii* passiert jedoch auch die Membran von 0,2-µm-Filtern.

#### 4.2.2 Inaktivierung

Untersuchungen zur Inaktivierung von *C. burnetii* durch Hitzebehandlung (Pasteurisierung) liegen nur für Milchproduk-

te vor [149]. Es ist anzunehmen, dass eine Inaktivierung der large cell variant durch Pasteurisierung (60°C, 10 h) möglich ist, wobei zeitabhängig bei dieser Temperatur auch die Small-cell-variant-Form inaktiviert werden sollte – Versuche zur Thermoinaktivierung der Varianten sind nicht publiziert.

### 4.3 Praktikabilität und Validierbarkeit der Verfahren zur Elimination/Inaktivierung von Infektionserregern

*C. burnetii* kann über Zellkultur zu hohen Konzentrationen vermehrt werden. Diese Arbeiten erfordern S3-Bedingungen. Theoretisch ist die Prüfung der Effizienz der Abreicherung und Inaktivierung von Plasma durch Spiken möglich. Die Notwendigkeit einer Validierung der Inaktivierung besteht allerdings nicht, solange die epidemiologische Situation in Deutschland konstant bleibt, da über Blut- und Plasmaprodukte in Deutschland bisher keine Infektionen mit *C. burnetii* bekannt geworden sind.

## 5 Bewertung

*Coxiella burnetii* ist ein Bakterium, welches weltweit in vielen Tierarten vorkommt. *C. burnetii* kann als Sporen-ähnliches Partikel viele Monate in der Umwelt infektiös bleiben. Verschiedene *C. burnetii*-Stämme zeigen unterschiedliche Pathogenität. Gefürchtet an der Infektion ist der chronische Verlauf mit Schädigung von Endokard und Gefäßen, granulomatoöser Hepatitis und pulmonaler Fibrose. Eine intrauterine Übertragung kommt auch beim Menschen vor.

Die Inzidenz von *C. burnetii* ist im Wesentlichen an Exposition mit kontaminiertem Staub und Kontakt mit infizierten Tieren gebunden. Die Ausbrüche in ländlichen Regionen in Deutschland und in europäischen Ländern mit intensiver Schaf- und Ziegenzucht haben bisher nicht zu einer Übertragung des Bakteriums durch Blutspenden geführt. Folglich ist das Risiko der Übertragung durch Transfusion von *C. burnetii* sehr gering. Es sind ebenso keine Übertragungen von *C. burnetii* durch Plasma oder Plasmaprodukte bekannt geworden.

Eine vorsorgliche Rückstellung von Spendern aus oder mit Aufenthalt in Regionen mit *C. burnetii*-Ausbrüchen für 4 Wochen nach Meldung des letzten Erkrankungsfall es beim Menschen ist zur Risikominderung sinnvoll [50, 150, 151]. Die hygienischen Maßnahmen beim *C. burnetii*-Ausbruch in den Niederlanden 2007–2009 haben zur Vermeidung einer Übertragung von *C. burnetii* über Bluttransfusion beigetragen [127].

Zur Risikominderung sollten in der empfohlenen 4-Wochen-Zeitperiode keine Spendertermine in Bereichen einer Region mit erhöhtem Risiko der *C. burnetii*-Exposition stattfinden. Lokale Ausbrüche sollten daher zügig bekannt gemacht werden. Im Falle eines massiven lokalen Ausbruchs, bei dem Spenderrückstellungen zu Engpässen bei der Versorgung mit Blutkomponenten führen könnten, kann alternativ eine NAT-Testung zum Nachweis von *C. burnetii* in Betracht gezogen werden.

Das Risiko der Übertragung von *C. burnetii* durch Blutkomponenten ist außerordentlich gering, sodass das Einleiten eines Rückverfolgungsverfahrens, wie für Viren im Votum 34 festgelegt, nach Bekanntwerden eines lokalen Ausbruchs von *C. burnetii* nach der Abnahme von Spenden nicht sinnvoll erscheint.

Dieses Papier wurde fertiggestellt am 26.10.2012 und vom Arbeitskreis Blut am 05.03.2013 verabschiedet. Es ersetzt die gleichlautende Stellungnahme des AK Blut von 2005. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiertes Krankheitserreger“ des Arbeitskreises Blut:

Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Ursula Bauerfeind, Dr. Johannes Blümel, Prof. Dr. Reinhard Burger, Prof. Dr. Christian Drosten, Dr. Albrecht Gröner, Dr. Margarethe Heiden, Prof. Dr. Martin Hildebrandt, Prof. Dr. Dr. Bernd Jansen, Dr. Ruth Offergeld, Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dr. Uwe Schlenkerich, Dr. Volkmar Schottstedt, Dr. Johanna Strobel, Dr. Hannelore Willkommen.

## Literatur

- Derrick EH (1937) „Q“ fever, a new fever entity: clinical features, diagnosis and laboratory investigation. *Med J Aust* 2:281–299
- Burnet FM, Freeman M (1937) Experimental studies on the virus of „Q“ fever. *Med J Aust* 2:299–305
- Davis G, Cox HR (1938) A filter-passing infectious agent isolated from ticks: isolation from *Dermacentor andersoni*, reaction in animals, and filtration experiments. *Public Health Rep* 53:2259–2267
- Madariaga MG, Rezaei K, Trenholme GM, Weinstein RA (2003) Q fever: a biological weapon in your backyard. *Lancet Infect Dis* 3:709–721
- Süss J, Fingerle V, Hunfeld KP et al (2004) Durch Zecken übertragbare humanpathogene und bisher als apathogen geltende Mikroorganismen in Europa. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitschutz* 47:470–486
- Marrie TJ (2000) *Coxiella burnetii* (Q Fever). In: Mandell GL, Bennett JF, Dolin F (Hrsg) *Principles and practice of infectious diseases*, 5. Aufl. Churchill Livingstone, Philadelphia, S 2043–2050
- Walker D, Raoult D, Dumluer JS, Marrie T (2001) *Rickettsia*, *Mycoplasma* and *Chlamydia*. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (Hrsg) *Harrison's principles of internal medicine*, 15. Aufl. McGraw Hill, Philadelphia, S 1065–1073
- Glazunova O, Roux V, Freylikman O et al (2005) *Coxiella burnetii* genotyping. *Emerg Infect Dis* 11:1211–1217
- Thiele D, Willems H, Kopf G, Krauss H (1993) Polymorphism in DNA restriction patterns of *Coxiella burnetii* isolates investigated by pulse field gel electrophoresis and image analysis. *Eur J Epidemiol* 9:419–425
- Angelakis E, Raoult D (2010) Q fever – review. *Vet Microbiol* 140:297–309
- McCaul TF, Williams JC (1981) Development cycle of *Coxiella burnetii*: structure and morphogenesis of vegetative and sporogenic differentiation. *J Bacteriol* 147:1063–1076
- Kagawa FT, Wehner JH, Mohindra V (2003) Q fever as a biological weapon. *Semin Respir Infect* 18:183–196
- Vishwanath S, Hackstadt T (1988) Lipopolysaccharide phase variation determines the complement-mediated serum susceptibility of *Coxiella burnetii*. *Infect Immun* 56:40–44
- Coleman SA, Fischer ER, Howe D et al (2004) Temporal analysis of *Coxiella burnetii* morphological differentiation. *J Bacteriol* 186:7344–7352
- Voth DE, Beare PA, Howe D et al (2011) The *Coxiella burnetii* cryptic plasmid is enriched in genes encoding type IV secretion system substrates. *J Bacteriol* 193:1493–1503
- Samuel JE, Frazier ME, Mallavia LP (1985) Correlation of plasmid type and disease caused by *Coxiella burnetii*. *Infect Immun* 49:775–777
- Tilburg JHC, Roest HJJ, Nabuurs-Franssen MH et al (2012) Genotyping reveals the presence of a predominant genotype of *Coxiella burnetii* in consumer milk products. *J Clin Microbiol* 50:2156–2158
- Tilburg JHC, Roest HJJ, Buffet S et al (2012) Epidemic genotype of *Coxiella burnetii* among goats, sheep, and humans in the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 18:887–889
- Reichel R, Mearns R, Brunton L et al (2012) Description of a *Coxiella burnetii* abortion outbreak in a dairy goat herd, and associated serology, PCR and genotyping results. *Res Vet Sci* 93:1217–1224
- De Bruin A, Van Alphen PTW, Van der Plaats RQJ et al (2012) Molecular typing of *Coxiella burnetii* from animal and environmental matrices during Q fever epidemics in the Netherlands. *BMC Vet Res* 8:165
- Hornstra HM, Priestly RA, Georgia SM et al (2011) Rapid typing of *Coxiella burnetii*. *PLoS One* 6:e26201 (1–8)
- Russel-Lodrigue KE, Andoh M, Poels MW et al (2009) *Coxiella burnetii* isolates cause group-specific virulence in mouse and guinea pig models of acute Q fever. *Infect Immun* 77:5640–5650
- Baca OG, Paretzky D (1983) Q fever and *Coxiella burnetii*: a model for host-parasite interaction. *Microbiol Rev* 47:127–149
- La Scola B, Raoult D (2001) Survival of *Coxiella burnetii* within free-living amoeba *Acanthamoeba castellanii*. *Clin Microbiol Infect* 7:75–79
- Mege JL, Maurin M, Capo C, Raoult D (1997) *Coxiella burnetii*: the „query“ fever bacterium. A model of immune subversion by a strictly intracellular microorganism. *FEMS Microbiol Rev* 19:209–217
- Omsland A, Cockrell DC, Howe D et al (2009) Host cell-free growth of Q fever bacterium *Coxiella burnetii*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:4430–4434
- Omsland A, Heinzen RA (2011) Life on the outside: the rescue of *Coxiella burnetii* from its host cell. *Annu Rev Microbiol* 65:111–128
- Scott OH, Williams JC (1990) Susceptibility of *Coxiella burnetii* to chemical disinfectants. *Ann NY Acad Sci* 590:291–296
- Hall CJ, Richmond J, Caul EQ et al (1982) Laboratory outbreak of Q fever acquired from sheep. *Lancet* 1:1004–1006
- Tissot-Dupont H, Raoult D, Broqui P et al (1992) Epidemiological features and clinical presentations of acute Q fever in hospitalized patients: 323 French cases. *Am J Med* 93:427–434
- Scott GH, McCaul TF, Williams JC (1989) Inactivation of *Coxiella burnetii* by gamma irradiation. *J Gen Microbiol* 135:3263–3270
- Welsh HH, Lenette EH, Abinanti FR et al (1959) Q fever studies XXI. The recovery of *Coxiella burnetii* from the soil and the surface water of premises harbouring infected sheep. *Am J Hyg* 70:14–20
- Kumar A, Yadav MP, Kakkar S (1981) Human milk as a source of Q fever infection in breast-fed babies. *Indian J Med Res* 73:510–512
- Sawyer LA, Fishbein DB, McDade JE (1987) Q fever: current concepts. *Rev Infect Dis* 9:935–946
- Hackstadt T, Peacock MG, Hitchcock PJ, Cole RL (1985) Lipopolysaccharide variation in *Coxiella burnetii*: intrastain heterogeneity in structure and antigenicity. *Infect Immun* 48:359–365
- De Cremoux R, Rousset E, Touratier A et al (2012) Assessment of vaccination by a phase I *Coxiella burnetii*-inactivated vaccine in goat herds in clinical Q fever situation. *FEMS Immunol Med Microbiol* 64:104–106
- Stocker MGP, Marmion BP (1955) The spread of Q fever from animals to man. The natural history of a rickettsial disease. *Bull WHO* 13:781–806

38. Clark WH, Romer MS, Holmes MA et al (1951) Q fever in California VIII. An epidemic of Q fever in a small rural community in northern California. *Am J Hyg* 54:25–34
39. Villanueva AA, Viciana P, Lopez-Cortes L et al (2003) Q fever: epidemiology, clinical features and prognosis. A study from 1983 to 1999 in the south of Spain. *J Infect* 47:110–116
40. Millar JK (1978) The chest fil findings in „Q“ fever – a series of 35 cases. *Clin Radiol* 329:371–375
41. Robins FC (1946) Q fever in the Mediterranean area: report on its occurrence in Allied Troops. *Am J Hyg* 49:51–71
42. Kampschreur LM, Dekker S, Hagenaars JCJP et al (2012) Identification of risk factors for chronic Q fever, the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 18:563–570
43. Palmer SR, Young SEJ (1982) Q fever endocarditis in England and Wales, 1975–1981. *Lancet* 2:1448–1449
44. Morguet AJ, Jansen A, Raoult D, Schneider T (2007) Late relapse of Q fever endocarditis. *Clin Res Cardiol* 96:519–521
45. Karakousis PC, Trucksis M, Dumler SJ (2006) Chronic Q fever in United States. *J Clin Microbiol* 44:2283–2287
46. Tjwa M, Hertogh DG, Neuville B et al (2001) Hepatic fibrin-ring granulomas in granulomatous hepatitis: report of four cases and review of literature. *Acta Clin Belg* 56:341–348
47. Boattini M, Almeida A, Moura RB et al (2012) Chronic Q fever with no elevation of inflammatory markers. *Case Rep Med*. doi:10.1155/2012/249705
48. Udaondo P, Garcia-Delpech S, Salom D et al (2011) Q fever: a new ocular manifestation. *Clin Ophthalmol* 5:1273–1275
49. Harris RJ, Storm PA, Lloyd A et al (2000) Long-term persistence of *Coxiella burnetii* in the host after primary Q fever. *Epidemiol Infect* 124:543–549
50. Fenollar F, Fournier PE, Raoult D (2004) Molecular detection of *Coxiella burnetii* in the sera of patients with Q fever endocarditis or vascular infection. *J Clin Microbiol* 42:4919–4924
51. Arricau-Bouvery N, Rodolakis A (2005) Is Q fever an emerging or re-emerging zoonosis? *Vet Res* 36:327–349
52. Rodolakis A (2009) Review: Q fever in dairy animals. *Ann N Y Acad Sci* 1166:90–93
53. Hellenbrand W, Breuer T, Peterson L (2001) Changing epidemiology of Q fever in Germany, 1947–1999. *Emerg Infect Dis* 7:789–796
54. Editorial MMWR (1984) Q fever outbreak – Switzerland. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 33:355–361
55. Porten K, Rissland J, Tigges A et al (2006) A super-spreading ewe infects hundreds with Q fever at a farmers' market in Germany. *BMC Infect Dis* 6:147
56. Hogerwerf L, Van den Brom R, Roest HIJ et al (2011) Reduction of *Coxiella burnetii* prevalence by vaccination of goats and sheep, the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 17:379–386
57. Kampschreur LM, Hagenaars JCJP, Wielders CCH et al (2012) Screening for *Coxiella burnetii* seroprevalence in chronic Q fever high-risk groups reveals the magnitude of the Dutch Q fever outbreak. *Epidemiol Infect* 13:1–5
58. Hilbert A, Reith P, Brockmann SO et al (2011) Epidemiological inquiries in two Q fever outbreaks in a community of Baden-Württemberg during 2008 and 2009. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 124:295–302
59. Bernard H, Brockmann SO, Kleinkauf N et al (2012) High seroprevalence of *Coxiella burnetii* antibodies in veterinarians associated with cattle obstetrics, Bavaria, 2009. *Vector Borne Zoonotic Dis* 12:552–557
60. Hilbert A, Schmoock G, Lenzko H et al (2012) Prevalence of *Coxiella burnetii* in clinically healthy German sheep flocks. *BMC Res Notes* 5:152
61. Berri M, Crochet D, Santiago S, Rodolakis A (2005) Spread of *Coxiella burnetii* infection in a flock of sheep after an episode of Q fever. *Vet Res* 157:737–740
62. Wallensten A, Moore P, Webster H et al (2010) Q fever outbreak in Cheltenham, United Kingdom, in 2007 and the use of dispersion modeling to investigate the possibility of airborne spread. *Euro Surveill* 15(12):pii:19521
63. Beslagic E, Hamzic S, Puvacic S, Cavaljuga-Hotic S (2003) Q-fever serologic diagnostics with inhabitants of Sarajevo 2001 year. *Med Arh* 57:71–74
64. Leski TA, Malanoski AP, Gregory MJ et al (2011) Application of a broad-range resequencing array for detection of pathogens in desert dust samples from Kuwait and Iraq. *Appl Environ Microbiol* 77:4285–4292
65. Anderson AD, Baker TR, Litrell AC et al (2011) Seroprevalence survey for *Coxiella burnetii* among hospitalized US troops deployed to Iraq. *Zoonoses Public Health* 58:276–283
66. Bailey MS, Trinick TR, Dunbar JA et al (2011) Undifferentiated febrile illnesses amongst British troops in Helmand, Afghanistan. *J R Army Med Corps* 157:150–155
67. Reusken C, Van der Plaats R, Opsteegh M et al (2011) *Coxiella burnetii* (Q fever) in *Rattus norvegicus* and *Rattus rattus* at livestock farms and urban locations in the Netherlands; could *Rattus* spp represent reservoirs for (re)introduction? *Prev Vet Med* 101:124–130
68. Dupuis G, Peter O, Mottiez MC, Vouilloz M (1986) Sero-prevalence de la fièvre Q humaine en Suisse. *Schweiz Med Wochenschr* 116:494–498
69. Brouqui P, Sékéné B, Raoult D (2004) Q fever outbreak in homeless shelter. *Emerg Infect Dis* 10:1297–1299
70. Bell JA, Beck MD, Huebner RJ (1950) Epidemiologic studies of Q fever in Southern California. *J Am Med Assoc* 142:868–872
71. Hogerwerf L, Borlée F, Still K et al (2012) Detection of *Coxiella burnetii* DNA in inhalable airborne dust samples in goat farms after mandatory culling. *Appl Environ Microbiol* 78:5410–5412
72. RKI (1997) Q-Fieber Ausbruch in Rollshausen, Hessen 1996. *Epidemiol Bull* 4:19–21
73. Cone LA, Curry N, Shaver P et al (2006) Q fever in the Southern California desert: epidemiology, clinical presentation and treatment. *Am J Trop Med Hyg* 75:29–32
74. Delsing CE, Kullberg BJ, Bleeker-Rovers CP (2010) Q fever in the Netherlands from 2007–2010. *Neth J Med* 68:382–387
75. Salmon MM, Howells B, Glencross EJ et al (1982) Q fever in an urban area. *Lancet* 1:1002–1004
76. Woerden HCV, Manson BW, Nehaul LK et al (2004) Q fever outbreak in industrial setting. *Emerg Infect Dis* 10:1282–1289
77. Oliphant JW, Gordon WA, Meis A, Parker RR (1949) Q fever in laundry workers presumably transmitted from contaminated clothing. *Am J Hyg* 46:76–82
78. Hermans MHA, Huijsmans CRJJ, Schellekens JJA et al (2011) *Coxiella burnetii* DNA in goat milk after vaccination with Coxevac. *Vaccine* 29:2653–2656
79. Rolain JM, Gouriet F, Brouqui P et al (2005) Concomitant or consecutive infection with *Coxiella burnetii* and tickborne diseases. *Clin Infect Dis* 40:82–88
80. Pluta S, Hartelt K, Oehme R et al (2010) Prevalence of *Coxiella burnetii* and *Rickettsia* spp in ticks and rodents in southern Germany. *Ticks Tick Borne Dis* 1:145–147
81. Sprong H, Tijssen-Klasen E, Langelaar M et al (2012) Prevalence of *Coxiella burnetii* in ticks after a large outbreak of Q fever. *Zoonoses Public Health* 59:69–75
82. Milazzo A, Hall R, Storm PA et al (2001) Sexually transmitted Q fever. *Clin Infect Dis* 33:399–402
83. Miceli M, Veysser AK, Anderson AD et al (2010) A case of person-to-person transmission of Q fever from an active duty serviceman to his spouse. *Vector Borne Zoonotic Dis* 10:539–541
84. Kruszezwska D, Tylewska-Wierzbanowska ST (1997) Isolation of *Coxiella burnetii* from bull semen. *Res Vet Sci* 62:299–300
85. Baud D, Peter O, Langel C et al (2009) Seroprevalence of *Coxiella burnetii* and *Brucella abortus* among pregnant women. *Clin Microbiol Infect* 15:499–501
86. Langley JM, Marrie TJ, Leblanc JC et al (2003) *Coxiella burnetii* seropositivity in parturient women is associated with adverse pregnancy outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 189:228–232
87. Syrucek L, Sobelavsky O, Gutvirth I (1958) Isolation of *Coxiella burnetii* from human placentas. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* 2:29–35
88. Raoult D, Marrie T, Mege J (2005) Natural history and pathophysiology of Q fever. *Lancet Infect Dis* 5:219–226
89. Weber DJ, Ratain WA (2001) Risks and prevention of nosocomial transmission of rare zoonotic diseases. *Clin Infect Dis* 32:446–456
90. Mann JS, Douglas JG, Inglis JN, Leitch AG (1986) Q fever: person to person transmission within a family. *Thorax* 41:974–975
91. Harman JB (1949) Q fever in Great Britain; clinical account of eight cases. *Lancet* 2:1028–1030
92. o A (1977) Editorial comment on Q fever transmitted by blood transfusion – United States. *Cur Dis Wkly Rep* 3:210
93. Goldberg JS, Perkins HA, Zapitz VM et al (1977) Q-Fever – California. *Morb Mortal Wkly Rep* 26:86–87
94. Johnson JE, Kadull PJ (1966) Laboratory acquired Q fever. A report of fifty cases. *Am J Med* 41:391–403
95. Guatteo R, Seegers H, Taurel AF et al (2011) Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants: a critical review. *Vet Microbiol* 149:1–16
96. Runge M, Binder A, Schotte U, Ganter M (2012) Investigations concerning the prevalence of *Coxiella burnetii* and *Chlamydia abortus* in sheep in correlation with management systems and abortion rate in Lower Saxony in 2004. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 125:138–143
97. Peter O, Dupuis G, Peacock MG, Burgdorfer W (1987) Comparison of enzyme linked immunosorbent assay and complement fixation and indirect fluorescent-antibody tests for detection of *Coxiella burnetii* antibody. *J Clin Microbiol* 25:1063–1067
98. Fournier PE, Marrie TJ, Raoult D (1998) Diagnosis of Q fever. *J Clin Microbiol* 36:1823–1834

99. Brouqui P, Dupont HT, Drancourt H et al (1993) Chronic Q fever: ninety-two cases from France, including 27 cases without endocarditis. *Arch Intern Med* 153:642–649
100. Raoult D, Levy PY, Dupont HT et al (1993) Q fever and HIV infection. *AIDS* 7:81–86
101. Kampschreur LM, Oosterheert JJ, Koop AMC et al (2012) Microbiological challenges in the diagnosis of chronic Q fever. *Clin Vaccine Immunol* 19:787–790
102. Teunis PFM, Schimmer B, Notermans DW et al (2013) Time-course of antibody responses against *Coxiella burnetii* following acute Q fever. *Epidemiol Infect* 141:62–73
103. Wegdam-Blans MC, Wielders CC, Meekelenkamp J et al (2012) Evaluation of commonly used serological tests for the detection of *Coxiella burnetii* antibodies in well-defined acute and follow-up sera. *Clin Vaccine Immunol* 19:1110–1115
104. Field PR, Hunt JG, Murphy AM (1983) Detection and persistence of enzyme linked immunosorbent assay: a comparison with immunofluorescence and complement fixation test. *J Infect Dis* 148:477–487
105. Hunt JG, Field PR, Murphy AM (1983) Immunoglobulin responses to *Coxiella burnetii* (Q fever): single-serum diagnosis of acute infection using an immunofluorescence technique. *Infect Immun* 39:977–981
106. Fournier PE, Casalta JP, Habib G et al (1996) Modification of the diagnostic criteria proposed by the Duke Endocarditis Service to permit improved diagnosis of Q fever endocarditis. *Am J Med* 100:629–633
107. Tissot-Dupont H, Thirion X, Raoult D (1994) Q fever serology: cut off determination for micro-immunofluorescence. *Clin Diagn Lab Immunol* 1:189–196
108. Murphy AM, Field PR (1970) The persistence of complement fixing antibodies to Q fever (*Coxiella burnetii*) after infection. *Med J Aust* 1:1148–1150
109. Blondeau JM, Williams JC, Marrie TJ (1990) The immune response to phase 1 and phase 2 *Coxiella burnetii* antigens as measured by Western blotting. *Ann N Y Acad Sci* 590:187–202
110. Minnick MF, Heinzen RA, Reschke DK et al (1991) A plasmid encoded surface protein found in chronic disease isolates of *Coxiella burnetii*. *Infect Immun* 59:4735–4739
111. Worswick D, Marmion BP (1985) Antibody response in acute and chronic Q fever and in subjects vaccinated against Q fever. *J Med Microbiol* 119:281–296
112. Dupuis G, Peter O, Peacock M et al (1985) Immunoglobulin responses in acute Q fever and in subjects vaccinated against Q fever. *J Clin Microbiol* 22:484–487
113. Spyridaki I, Psaroulaki A, Vranakis J et al (2009) Bacteriostatic and bactericidal activities of tetracycline against *Coxiella burnetii* and comparison with those of six other antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 53:2690–2692
114. Lockhart M, Islam A, Graves S et al (2012) Detecting and measuring small numbers of viable *Coxiella burnetii*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 64:61–65
115. Musso D, Raoult D (1995) *Coxiella burnetii* blood cultures from acute and chronic Q-fever patients. *J Clin Microbiol* 33:3129–3132
116. Omsland A, Beare PA, Hill J et al (2011) Isolation from animal tissue and genetic transformation of *Coxiella burnetii* are facilitated by an improved axenic growth medium. *Appl Environ Microbiol* 77:3720–3725
117. Klee SR, Tyczka J, Ellerbrok H et al (2006) Highly sensitive real-time PCR for specific detection and quantification of *Coxiella burnetii*. *BMC Microbiol* 6:2
118. Stein A, Raoult D (1992) Detection of *Coxiella burnetii* by DNA amplification using polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 30:2462–2466
119. Beare PA, Samuel JF, Howe D et al (2006) Genetic diversity of Q fever agent, *Coxiella burnetii*, assessed by microarray-based whole-genome comparisons. *J Bacteriol* 188:2309–2324
120. Fournier PE, Raoult D (2003) Comparison of PCR and serology assays for early diagnosis of acute Q fever. *J Clin Microbiol* 41:5094–5098
121. Kato K, Arashima Y, Asai S et al (1998) Detection of *Coxiella burnetii* specific DNA in blood samples from Japanese patients with chronic non-specific symptoms by nested polymerase chain reaction. *FEMS Immunol Med Microbiol* 21:139–144
122. Lorenz H, Jäger C, Willems H, Baljer G (1998) PCR detection of *Coxiella burnetii* from different clinical specimens, especially bovine milk, on the basis of DNA preparation with a silica matrix. *Appl Environ Microbiol* 64:4234–4237
123. Berri M, Arricau-Bouvery N, Rodolakis A (2003) PCR-based detection of *Coxiella burnetii* from clinical samples. *Methods Mol Biol* 216:153–161
124. Jansse I, Bok JM, Hamidjaja RA (2012) Development and comparison of two assay formats for parallel detection of four biothreat pathogens by using suspension microarrays. *PLoS One* 7:e31958
125. Jado I, Carranza-Rodriguez C, Barandika JF et al (2012) Molecular method for the characterization of *Coxiella burnetii* from clinical and environmental samples: variability of genotypes in Spain. *BMC Microbiol* 12:91 (e22656068)
126. Richardus JH, Donkers A, Dumas AM et al (1987) Q fever in the Netherlands: a sero-epidemiological survey among human population groups from 1968–1983. *Epidemiol Infect* 98:211–219
127. Hogema BM, Slot E, Molier M et al (2012) *Coxiella burnetii* infection among blood donors during the 2009 Q-fever outbreak in the Netherlands. *Transfusion* 52:144–150
128. Hatchette TF, Hudson RC, Schlech WF et al (2001) Goat associated Q fever: a new disease in Newfoundland. *Emerg Infect Dis* 7:413–419
129. Kilic S, Yilmaz GR, Komiya T et al (2008) Prevalence of *Coxiella burnetii* antibodies in blood donors in Ankara, Central Anatolia, Turkey. *New Microbiol* 31:527–534
130. Bartolomé J, Riquelme E, Hernández-Pérez N et al (2007) Seroepidemiology of *Coxiella burnetii* infection among blood donors in Albacete. *Enferm Infect Microbiol Clin* 25:382–386
131. Marrie TJ, Raoult D (1992) Rickettsial infections of the central nervous system. *Semin Neurol* 12:213–224
132. AFSSPS – Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Risque de transmission de la Fièvre Q (*Coxiella burnetii*) par les produits de santé, 15. November 2002
133. Van Wijk MJ, Hogema BM, Maas DW, Bokhorst AG (2011) A Q fever outbreak in the Netherlands: consequences for tissue banking. *Transfus Med Hemother* 38:357–364
134. Kersh GJ, Priestley R, Massung RF (2012) Stability of *Coxiella burnetii* in stored human blood. *Transfusion*. doi:10.1111/j.1537-2995.2012.03912.x
135. Posteegh M, Heer L de, Van den Berg H, Van der Giessen J (2012) Inactivation or clearance of *Coxiella burnetii* in rat serum samples to enable safe serological testing. *J Basic Microbiol* 52:1–3
136. Cohen NJ, Papernik M, Singleton J et al (2007) Q fever in an American tourist returned from Australia. *Travel Med Infect Dis* 5:194–195
137. Ta TH, Jiménez B, Navarro M, Meije Y et al (2008) Q fever in returned febrile travellers. *J Travel Med* 15:126–129
138. Davis TR, Edwards Y, Morgan A, Caul EO (1997) Prevalence of Q fever in rural practice. *J Public Health Med* 19:324–327
139. Luoto L, Casey ML, Pickens EG (1965) Q fever studies in Montana. Detection of asymptomatic infection among residents of infected dairy premises. *Am J Epidemiol* 81:356–369
140. Ascher MS, Berman MA, Ruppner R (1983) Initial clinical and immunological evaluation of a new phase 1 Q fever vaccine and skin tests in humans. *J Infect Dis* 148:214–222
141. Ackland JR, Worswick DA, Marmion BP (1994) Accine prophylaxis of Q fever: a follow up study of the efficacy of Q-Vax (CSL) 1985–1990. *Med J Aust* 160:704–708
142. Gidding HF, Wallace C, Lawrence GL, McIntyre PB (2009) Australia's national Q fever vaccination program. *Vaccine* 27:2037–2041
143. Van der Hoek W, Wielders CCH, Schimmer B et al (2012) Detection of phase I IgG antibodies to *Coxiella burnetii* with ELISA as a screening test for blood donations. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 31:3207–3209
144. Astobiza I, Barandika JF, Ruiz-Fons F et al (2011) Four-year evaluation of the effect of vaccination against *Coxiella burnetii* on reduction of animal infection and environmental contamination in a naturally infected dairy sheep flock. *Appl Environ Microbiol* 77:7405–7407
145. Taurel AF, Guatteo R, Joly A, Beauveau F (2012) Effectiveness of vaccination and antibiotics to control *Coxiella burnetii* shedding around calving in dairy cows. *Vet Microbiol* 159:432–437
146. Walker DH, Dumler JS, Marrie T (2012) Rickettsial diseases, chapter 174. Harrison's principles in internal medicine, 18. Aufl. Mc Graw Hill, New York, S 1414–1417
147. Yeaman MR, Mitscher LA, Baca OG (1987) In vitro susceptibility of *Coxiella burnetii* for antibiotics, including several quinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 31:1079–1084
148. Van Kraaij MGJ, Slot E, Hogema BM, Zaaier HL (2012) Lookback procedures after postdonation notifications during a Q fever outbreak in the Netherlands. *Transfusion*. doi:10.1111/j.1537-2995.2012.03792.x
149. Cerf O, Condron R (2006) *Coxiella burnetii* and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle? *Epidemiol Infect* 134:946–951
150. Wilson K, Ricketts MN (2004) Transfusion transmission of vCJD: a crisis avoided? *Lancet* 364:477–479
151. Van der Hoek W, Schneeberger PM, Oomen T et al (2012) Shifting priorities in the aftermath of a Q fever epidemic in 2007 to 2009 in the Netherlands: from acute to chronic infection. *Euro Surveill* 17:20059