

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

## Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit und Soziale Sicherung

**D**er Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit und Soziale Sicherung 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 werden als Zusammenfassung des aktuellen Wissensstandes veröffentlicht, speziell unter transfusionsmedizinisch relevanten Aspekten (Bundesgesundhbl., 41, 53, 1998).

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

### 1 Wissensstand über den Erreger

Im Jahr 1937 beschrieb Derrick in Queensland in Australien eine fieberhafte Krank-

heit 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 burneti)* 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. In Deutschland war die Infektion im Heer während des zweiten Weltkrieges als Balkangrippe bekannt [4].

*Coxiella burnetii* ist weltweit verbreitet und wird als Zoonose auf den Menschen übertragen, besonders von infizierten Rindern, Schafen und Ziegen, aber auch Katzen, Hunden, Kaninchen und Enten, über Zeckenkot und Staub. Der Erreger verursacht akute und chronische Infektionen und wird über Kontakt oder Inhalation

von Staubaerosolen, Tröpfcheninfektion und schließlich Verzehr von Rohmilch und Rohmilchprodukten erworben [5, 6].

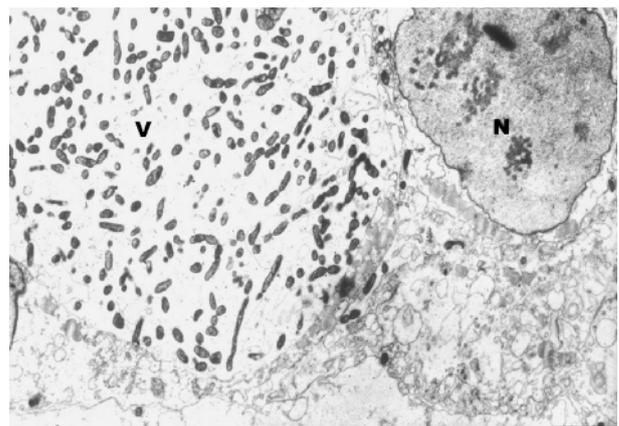
Von *C burnetii* sind über 20 verschiedene genomische Stämme beschrieben. Über Puls-Feld-Gel-Elektrophorese wurde nachgewiesen, dass sich europäische und nordamerikanische Stämme unterscheiden [7], aber auch regionale Stämme auftreten und sich regionale Gruppen in z.B. Deutschland und Russland unterscheiden. Die Genomlänge des Bakteriums beträgt zwischen 1,5 und 2,1 Millionen Basenpaare (bp).

### 1.1 Erregerigenschaften

#### 1.1.1 Aufbau

*Coxiella burnetii* gehört in die Bakterienfamilie der *Coxiellaceae* und vermehrt sich intrazellulär in menschlichen Zellen. Über die Genomanalyse phylogenetisch verwandte Bakterien sind die *Legionellaceae*, *Pseudomonaceae* und andere Gamma-

Abb. 1 ► Mit *Coxiella burnetii* infizierte BGM-Zelle. In der Vakuole (V) der infizierten Zelle liegen die Erreger vorwiegend als Large-Cell-Varianten (LCV) und nur teilweise als elektronendichtere Small-Cell-Varianten (SCV) vor. Elektronenmikroskopische Aufnahme, Kaliumdichromat-Osmiumtetroxid-Fixierung, ca. 4.500-fache Vergrößerung, N = Zellkern.



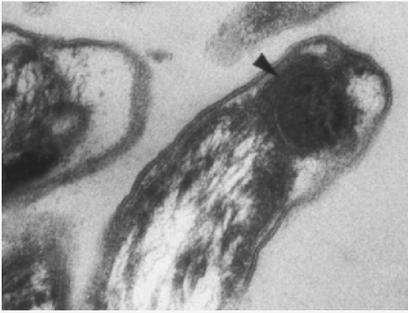


Abb. 2 ▲ Längsschnitt durch eine Large-Cell-Variante von *Coxiella burnetii* mit spore-nähnlichem Einschluss. In der Large-Cell-Variante (LCV) ist apikal ein spore-nähnlicher Einschluss (Spore-like-particle, SLP, Pfeil) sichtbar. Elektronenmikroskopische Aufnahme, Kaliumdichromat-Osmiumtetroxid-Fixierung, ca. 50.000-fache Vergrößerung

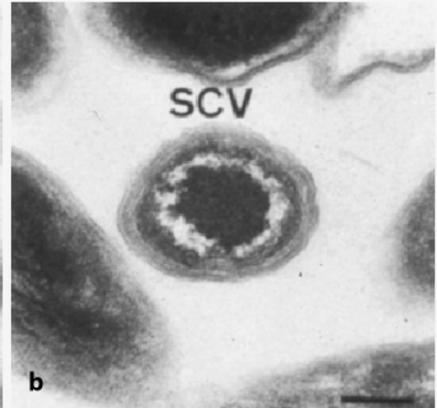
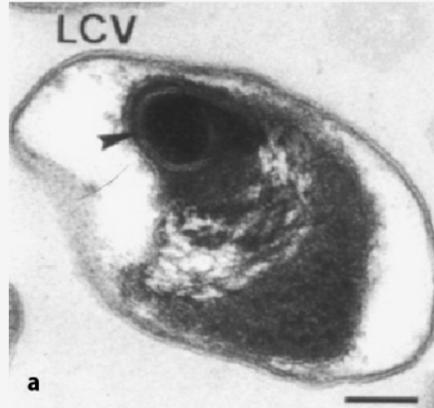


Abb. 3 ▲ Querschnitt durch eine Large-Cell- und eine Small-Cell-Variante von *Coxiella burnetii*. Die Querschnitte verdeutlichen die morphologischen Unterschiede zwischen der Large-Cell-Variante (a, LCV) und den elektronendichteren Small-Cell-Varianten (b, SCV) des Erregers. Elektronenmikroskopische Aufnahme, Kaliumdichromat-Osmiumtetroxid-Fixierung, ca. 50.000-fache Vergrößerung, Pfeil: spore-artiger Einschluss (SLP)

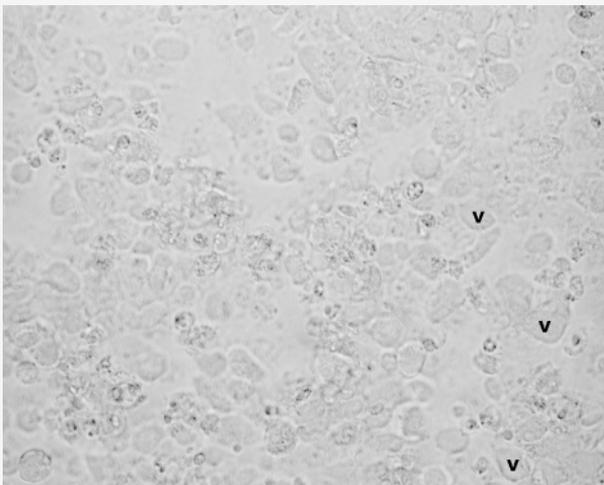


Abb. 4 ▲ Mit *Coxiella burnetii* infizierte BGM-Zellen. Ein Monolayer aus BGM-Zellen wurde mit *Coxiella burnetii* infiziert. Deutlich sichtbar sind die erregerehaltigen Vakuolen (V). Lichtmikroskopische Aufnahme, nativ, 100-fache Vergrößerung

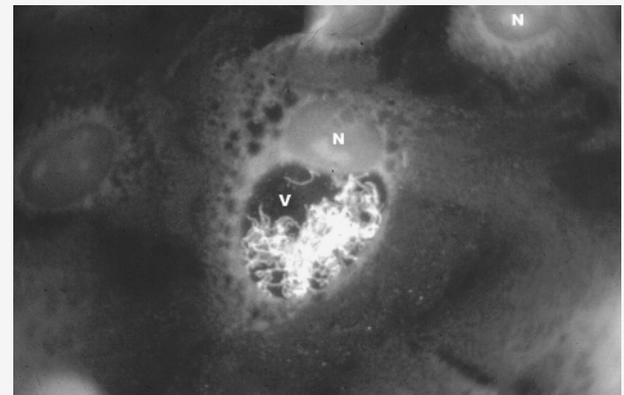


Abb. 5 ▲ Mit *Coxiella burnetii* infizierte BGM-Zelle. Die durch die Infektion der Zellen induzierte Vakuole (V) ist zu ca. 2/3 mit den hier fadenförmig erscheinenden Erregern gefüllt. Lichtmikroskopische Aufnahme, Immunfluoreszenz, 1000-fache Vergrößerung, N: Zellkern

Proteobakterien. Coxiellen sind kleine gramnegative, pleomorphe, coccoide Bakterien mit einer Größe von 0,2-1,0 µm. Sie kommen in 3 verschiedenen Formen vor: Kleine Zellen (small cell variant), die hoch infektiös sind, große Zellen (large cell variant), die sich in Kulturzellen ausbilden und weniger infektiös sind und den Spore-nähnlichen Partikeln (spore like particles), die auch infektiös und sehr umweltresistent sind. Die Morphologie der verschiedenen Formen zeigen ■ Abb. 1-5.

In Abhängigkeit vom Wirtssystem können Coxiellen beim Wachstum eine Phasenvariation durchlaufen [8]. Im Säuger wachsen die Bakterien als large cell variant, sie bilden Spore-nähnliche Partikel (spore like

particles) und 2 antigene Formen aus, die als Phase 1 und 2 bezeichnet werden.

**Phase 1.** Wenn *Coxiella burnetii* sich in Zellen von immunkompetenten Wirten vermehrt, wird das Lipopolysaccharid (LPS) in voller Länge synthetisiert, ebenso weitere Zellwand-Antigene. *C burnetii* wird passiv durch Phagozytose von der Zelle aufgenommen und überlebt im Phagolysosom bei niedrigem pH, welcher für die Stoffwechsellistung notwendig ist. Coxiellen der Phase-1-Form sind für den Menschen höchst ansteckend. Zwischen 1-10 Coxiellen bilden 1 HID (human infektiöse Dosis) und reichen für die Übertragung der Infektion aus [9]. Das LPS ist ein wesentlicher Virulenzfaktor

(siehe unter 1.2). LPS blockiert die Reaktion des Immunsystems gegen die Proteine der Bakterienwand und bedingt eine schlechte Bindung und Aktivierung der Komponenten des Komplementsystems und verzögert bzw. verhindert somit die Lyse der Bakterienzelle. Die historische serologische Unterscheidung der verschiedenen Coxiellen-Stämme beruht auf der Reaktivität des LPS.

**Phase 2.** Wird *Coxiella burnetii* in Kulturzellen oder in Zellen eines nicht-immunkompetenten Wirtssystems (z.B. embryonierte Hühnereier) gezüchtet, dann wird das LPS nur noch unvollständig synthetisiert (Rauh-Typ LPS von *Coxiella*) und die Produktion von einigen Zellwandantigenen unterdrückt. Viele

Zellwandproteine bleiben für die Charakterisierung und für die Reaktion des Immunsystems einfach zugänglich. *Coxiella*-Formen der Phase 2 gelten für den Menschen als wenig virulent, da sie schnell über das Komplementsystem inaktiviert werden. Eine intermediäre Form mit nur teilweise synthetisiertem LPS kommt vor. Phase-1- und -2-Formen können morphologisch nicht unterschieden werden, jedoch haben sie eine unterschiedliche Anfärbbarkeit mit basischem Fuchsin und Haematoxylin.

**Sporen-ähnliche Partikel (spore like particles).** Die Bezeichnung „Spore“ stammt von der Umweltresistenz. Sie wurde aufgrund elektronenmikroskopisch darstellbarer morphologischer Ähnlichkeiten mit Endosporen anderer Bakterienspezies übernommen und ist rein deskriptiv. Ihre Umweltresistenz 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 *Coxiella burnetii* findet sich in der Arbeit von Coleman [10].

**Plasmid.** Sechs verschiedene Plasmidtypen bzw. chromosomal integrierte Plasmid-homologe Sequenzen mit 36-56 Kilobasen Länge können in beiden Phasen gefunden werden [11]. Pro Bakterienzelle findet sich wahrscheinlich nur ein Plasmidtyp in geringer Kopienzahl.

### 1.1.2 Vermehrung

Für die Vermehrung von *C burnetii* sind Zellen notwendig; eine extrazelluläre Vermehrung im Säuger ist nicht beschrieben worden. Als Zellen fungieren die von wechselwarmen Tieren, wie Arthropoden, Fischen und von Warmblütern, wie Vögeln, Nagern, Beuteltieren und domestizierten Säugetieren [12]. In Schafplazentazellen kann eine Erregerzahl von  $10^9/g$  Plazentagewebe erreicht werden [5]. *Coxiella burnetii* kann in Süßwasseramöben für Wochen überleben [13].

Primär wird *Coxiella burnetii* von Monozyten/Makrophagen phagozytiert und anschließend in das Phago lysosom eingebracht. Dort entzieht sich *Coxiella* dem Abbau durch Ansäuerung des pH und startet mit der Vermehrung. Es entsteht neben dem normalen Bakterium auch die

Sporen-ähnliche Form mit der verdickten Wand, die metabolisch inaktiv ist [8].

*C burnetii* unterdrückt intrazellulär die Produktion von Sauerstoffderivaten und Stickoxid (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 ein Granulom aus [14] (siehe 1.2.2).

### 1.1.3 Inaktivierbarkeit und Stabilität unter Umweltbedingungen

*C burnetii* ist als Kleinzellvariante sehr umweltstabil und kann viele Monate infektiös bleiben [15] (siehe 1.1.1). Phase-1- und -2-Formen werden durch 2% Formaldehyd zerstört, jedoch kann infektiöses *C burnetii* aus Formalin-fixiertem Gewebe nach 4-5 Monaten extrahiert werden. Vermehrungsfähiges Bakterium soll aus paraffiniertem Gewebe isoliert worden sein. Ebenso kann der Sterilisationsprozess mit Gas unterlaufen werden [15]. Effektiv für die Inaktivierung sind 1% Phenol und 5% Wasserstoffperoxid, 5% Chloroform, 0,5% Hypochlorit und Hitze einwirkung ab 65°C für 1 Stunde [16, 17]. Desinfizierbarkeit besteht mit 70% Ethanol für 30 min. Autoklavieren durch Hitze bei 131°C, 3 atü für 15 min zerstört *C burnetii*, ebenso 5% Formaldehyd für 5 min. Das Bakterium überlebt im Sporenstadium an der Wolle von Schafen 7-10 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 [18, 19].

## 1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Für Menschen ist *C burnetii* äußerst ansteckend. Es genügen für die aerogene Infektion wie erwähnt 1-10 lebensfähige Organismen [20]. Die Mortalitätsrate lag bei hospitalisierten Patienten in Frankreich bei 2,4% [17].

Für Hühnerembryonen ist das *Coxiella*-LPS auch in sehr hohen Dosen untoxisch [21]. Trächtige Haustiere können nach natürlicher Infektion mit *C burnetii* verwerfen [22].

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 mit *C burnetii* verlaufen klinisch inapparent. Nach einer Inkubationszeit von 3-30 Tagen treten unspezifische Symptome mit Fieber, Schweißausbrüchen, Übelkeit und Erbrechen, Diarrhöe 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 [23]. In endemischen Regionen wie in Südspanien, dem Baskenland und Frankreich soll ein Fieber, welches länger als 1 und kürzer als 3 Wochen dauert, häufig Q-Fieber sein [24].

**Pneumonie durch *C burnetii*.** Sie tritt bei 1-2% der akut Erkrankten auf. Die häufigste Form ist eine Lobärpneumonie mit hohem Fieber. Ferner manifestiert sie sich als atypische Pneumonie und als schnell progressive Pneumonie. Häufig ist die Pneumonie mit im Röntgenbild scharf abgegrenzten Infiltraten und Konsolidierung des Alveolarraumes verbunden, welche segmental und nicht segmental vorhanden sein kann. Die schnell progressive Form ähnelt klinisch sehr der durch *Legionella pneumophila* ausgelösten Pneumonie. Atelektasen und hiläre Lymphknotenschwellung kommen vor. Im Röntgenbild zeigen sich die entstehenden Granulome als multiple runde Verschattungen. Eine akute Pneumonie kann in die chronische Form übergehen [25]. 5% der Betroffenen haben gleichzeitig eine Splenomegalie, und *C burnetii* kann während dieser Zeit aus dem Liquor cerebrospinalis isoliert werden [26].

### 1.2.2 Chronische Krankheit

Etwa 5-15% der akuten Krankheitsfälle werden chronisch. Manifestationen sind Endokarditis, weiterhin Vaskulitis, Osteomyelitis, Hepatitis, interstitielle Lungenfibrose und lang andauerndes Fieber.

**Endokarditis.** Das gesamte Gefäßsystem kann betroffen sein, vor allem künstliche Klappen und die Wände von Aneurysmen. Die Endokarditis ist die Hauptmanifestation des chronischen Q-Fiebers und umfasst etwa 10% aller Endokarditiden in England und Wales [27]. Endokarditispatienten haben häufig eine Splenomegalie, ar-

terielle Embolie kann auftreten. Begleitet wird die Endokarditis von Anämie und Hämaturie. Sie tritt bei Kindern sehr selten auf. Bei 53% der Endokarditisfälle durch *C burnetii* lässt sich das Bakterium im Blut nachweisen. Unter Kombinationstherapie mit Doxycyclin und Chloroquin fällt die Bakterienmenge zügig ab.

**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 [17]. 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 [28]. Eine Hepatitis kann ein Zusatzbefund bei Patienten mit Q-Fieber-Pneumonie sein, sie kann auch singular auftreten.

**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. Ein Guillain-Barré-Syndrom, ausgelöst durch *C burnetii*, ist beschrieben [5]. 20-30% der Erkrankten klagen nach dem Abklingen des Fiebers über ein chronisches Müdigkeitssyndrom als Postfieber-Manifestation. *Coxiella* kann während dieser Zeit teilweise über DNA-NAT in Blut und Knochenmark nachgewiesen werden [9, 29, 30]

### 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 [31].

Die Infektion mit *C burnetii* ist nach Infektionsschutzgesetz (IfSG § 7) meldepflichtig. Die jährliche Inzidenz in Deutschland liegt bei 1-5 Fällen pro 10<sup>6</sup> Einwohner. In den Jahren 2000-2003 sind dem Robert

Koch-Institut etwa 200-400 Infektionen jährlich gemeldet worden. Die Mehrzahl der Infektionen trat regional-herdförmig auf und war an das Halten oder den Kontakt mit Schafen [32], besonders beim Ablammen, gebunden [31].

Übertragungswege von *C burnetii* sind

- der Kontakt mit Zeckenkot. Ein Gramm Zeckenkot enthält etwa 10<sup>9</sup> Coxiellen und erklärt somit die hohe Kontagiosität,
- das Einatmen von kontaminiertem Aerosol oder Staub [33, 34],
- direkter und indirekter Kontakt mit kontaminiertem Gewebe, wie z.B. Schafplazenta,
- Ingestion von kontaminierter Milch oder Milchprodukten [35],
- in Ausnahmefällen der Stich eines Arthropoden – besonders von Zecken der Gattung Ixodes, Dermacentor, Hyalomna u.a.,

Abhängig vom Infektionsweg kann sich primär eine Pneumonie oder Hepatitis ausbilden (1.2.2).

Nach dem Ablammen können im Boden infektionsfähige Coxiellen bis zu 150 Tage nachgewiesen werden [18]. Exposition zu kontaminiertem Stroh, Pferch oder Staub kann *C burnetii* übertragen [36, 37], auch indirekt der Kontakt mit kontaminierter Wäsche [38]. *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.

Das Bakterium ist in menschlicher Milch und Plazenta nachgewiesen worden [19, 39]. Möglicherweise wird auch im Menschen *C burnetii* während der Schwangerschaft reaktiviert. Eine Übertragung von Mensch zu Mensch ist bisher nicht bewiesen worden [40], jedoch wurde eine mögliche Übertragung von Mensch zu Mensch zwischen Mitgliedern einer Lebensgemeinschaft diskutiert [41]. *C burnetii* ist bei Autopsie übertragen worden. Es ist nur ein Fall einer Übertragung durch Transfusionen bekannt geworden. [42, 43, 44].

Laborinfektionen mit *C burnetii* sind wiederholt aufgetreten [16, 45], 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 Sicherheitskategorie 3.

### 1.4 Nachweismethoden

#### 1.4.1 Antikörper

Es können IgM-, IgG- und IgA-Antikörper gegen *C burnetii* nachgewiesen werden. Antikörper werden 2-3 Wochen nach klinischer Infektion nachweisbar, sie steigen dann gewöhnlich für einige Monate an und persistieren für Jahre. Kreuzreaktionen von *C burnetii* mit anderen Bakterien sind nach Ansicht einiger Autoren gering [46], können aber mit Antigenen von *Legionella*, *Bartonella* und *Pseudomonas* nicht ausgeschlossen werden [47], wenn die Ergebnisse einiger Studien analysiert werden [48, 49].

**Indirekter Immunfluoreszenztest.** Der Mikro-Immunfluoreszenztest gilt als Referenzstandard, seine Konfektion wurde schon 1983 beschrieben [50]. Der Test wird etwa 1-2 Wochen nach Auftreten der Symptome positiv. IgM-Antikörper können damit auch bei wenigen Proben nachgewiesen werden [51]. Typischerweise gelten als positiv Titer ab 800 für IgG bei chronischem Q-Fieber [52] oder ab 50 für IgM und 200 für IgG bei akutem Q-Fieber [53]. 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 4-facher Titeranstieg.

**ELISA, Agglutinationstest und KBR (Komplement-Bindungs-Reaktion).** Alle 3 Tests sind für die Routinediagnostik entwickelt worden, jedoch wurde die KBR für frühe Prävalenzstudien am häufigsten benutzt [54]. Die KBR gilt als positiv, wenn bei chronischem Q-Fieber Titer gegen Phase 1 größer 200 nachgewiesen werden. Antikörpertiter gegen Phase-2-Antigene ab 40 gelten bei akutem Q-Fieber als positiv. Wegen des Zeitaufwandes und der Nicht-Nachweisbarkeit von IgG<sub>2</sub> und IgG<sub>4</sub> und IgA wird die KBR zunehmend durch ELISA oder Mikro-Immunfluoreszenztest ersetzt.

**Westernblot.** Von *C burnetii*, die in Phase 1 wachsen, sind 15 Antigene auf dem Streifen nachweisbar, die ein Molekulargewicht von 20-160 kD haben. Mit Seren aus

der akuten Infektionsphase werden 7-10 verschiedene Antigene angefärbt, besonders die Banden mit 50, 80 und 160 kD, mit Seren aus der chronischen Phase 12-15 Antigene [55, 56].

Wenn die *C-burnetii*-Infektion behandelt wird, findet ein langsamer Abfall der Antikörpertiter statt. IgM-Antikörper können über 670 Tage nachweisbar sein [57]. In einer anderen Studie konnten IgM-Antikörper noch ein Jahr nach Infektion in 5 von 162 Personen (3%) nachgewiesen werden [58]. IgA-Antikörper sind bei der chronischen *C-burnetii*-Infektion in höheren Titern nachweisbar [51].

1.4.2 Nachweis von *Coxiella burnetii*

1.4.2.1 Anzucht

Der Nachweis von *C burnetii* erfolgt in Zellkultur auf L929 Fibroblasten oder anderen Zellen in 24-well Mikrotiter-Platten mit Material, welches 0,45 µm Filter passiert hat. Geeignete Materialien für die Analyse sind Extrakte von Gewebeproben und Blut vor Beginn einer antibiotischen Therapie [59]. Die Anzucht von *C burnetii* hat unter S3-Bedingungen zu erfolgen, auch um Laborinfektionen zu vermeiden [45]. Da nur wenige Labore die Zulassung für diese Untersuchungen haben, erfolgt meist, wenn notwendig, der Nachweis über die PCR.

1.4.2.2 NAT – Nukleinsäure-Amplifikationstest

Der Nachweis der Nukleinsäure erfolgt über die PCR mit Primern aus dem Superoxid-Dismutase-Gen [60]. Der Nachweis gelingt auch noch aus Paraffin-eingebettetem Gewebe. Eine Real-time-PCR mit einer Empfindlichkeit von 1-copy-DNA ist entwickelt worden [61]. Weitere viel genutzte Primerbindungsstellen für die PCR sind Genomregionen mit repetitiven Elementen und das äußere Membranprotein OMP [62, 63, 64].

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 folgende Antikörperprävalenzen (Tabelle 1) angegeben [9].

Tabelle 1

Seroprävalenz für *C burnetii*

Land	Seroprävalenz <sup>a</sup>	Literatur
Deutschland	15-22%	Hellenbrand et al. [31]
Niederlande	45%	Richardus et al. [65]
Frankreich	4%	Tissot-Dupont et al. [17]
Neufundland	8%	Hatchette et al. [66]

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

Derzeit werden Blutspenden nicht auf Vorhandensein von *C burnetii* bzw. Antikörper gegen *C burnetii* getestet. *C burnetii* kommt auch in Deutschland besonders in Gegenden mit hoher Schafdichte vor. Wie effizient infizierte Spender aufgrund der allgemeinen Spenderausschlusskriterien ausgeschlossen werden, liegt am Ausmaß der Symptome (z.B. Fieber, Abgeschlagenheit), der anamnestischen Erhebung und dem zeitigen Bekanntwerden von lokalen Ausbrüchen.

Grundsätzlich ist davon auszugehen, dass teils während der akuten und teils während der chronischen Krankheitsphase asymptomatische Personen Blut spenden werden [43]. Da *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 Lymphbahnen im Körper verteilt, sodass auch im Liquor cerebrospinalis und Urin das Bakterium nachgewiesen werden kann [67]. 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, Diarrhöe innerhalb einer Woche vor der Spende, und Anämie.

Für regionale Ausbrüche gilt Kontakt mit Schafen, die Nähe und Aufenthaltsdauer an einem potenziellen Übertragungs-

ort und Exposition gegenüber kontaminiertem Staub (auch u.U. in einigen Kilometern Entfernung) als Risiko. Auch kurzfristige Fieberepisoden und Kontakt mit einer mit Q-Fieber infizierten Person sind ein mögliches Ausschlusskriterium. Der Ausschluss wird 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-Fieberinfektion vor, die mit oder ohne Doxycyclin-Behandlung überwunden wurde, ist es möglich den Spender 4 Monate nach Abklingen der Symptome wieder zur Spende zuzulassen [68].

Hat eine Blutspende während der Inkubationszeit mit *C burnetii* stattgefunden, müssen die daraus hergestellten Blutkomponenten bei Kenntnis der Risikokonstellation zurückgerufen und dürfen nicht transfundiert werden (Ausnahmen siehe 3.6). Ist die Konserve transfundiert worden, sollte entsprechend der Konstellation der klinischen Symptomatik des Empfängers eine Therapie mit Doxycyclin oder Fluorchinolon erwogen werden. Weitere Nachuntersuchungen entsprechend dem Rückverfolgungsverfahren für virale Infektionen (Votum des AK Blut zur Rückverfolgung (Look Back)) sind nicht erforderlich.

Eine potenzielle Exposition mit *C burnetii*, die nach der Spende bekannt wird, ist nach derzeitiger Risikoeinschätzung kein Grund, ein Rückverfolgungsverfahren, wie im Votum des AK Blut zur Rückverfolgung (Look Back) beschrieben, einzuleiten. Entscheidend sind die individuelle Bewertung des Übertragungsrisikos durch den Transfusionsmediziner und der klinische Zustand des Empfängers.

## 2.3 Spendertestung und Aussagekraft

### 2.3.1 Antikörperbestimmung

Eine Bestimmung von Antikörpern bei Blutspendern findet nicht statt; sie ist über Mikroimmunfluoreszenztest, ELISA, KBR oder Agglutinationstest möglich. Eine routinemäßige Antikörpertestung wird bei der derzeitigen epidemiologischen Situation 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 entwickelten Symptome von akutem Q-Fieber, die zum Termin der Spende nicht erkennbar waren [17].

### 2.3.2 Nachweis von *Coxiella burnetii*

Die viel zu zeitaufwändige Anzucht unter S<sub>3</sub>-Bedingung im Shell-Vial-Test (Kultur in z.B. 48-well Mikrotiterplatten) ist als Screeningtest ungeeignet. Der Nachweis über die 16s-DNA als NAT bzw. PCR wird nicht routinemäßig durchgeführt und ist entsprechend der derzeitigen epidemiologischen Situation nicht erforderlich. Es besteht für Deutschland Forschungsbedarf für die Abklärung der Bakteriämie nach Exposition, der Art und Dauer von Infektketten und der Erkennung der Heterogenität von *Coxiella*-Stämmen.

## 2.4 Spenderbefragung

Eine Befragung der Spender wegen eines möglichen Risikos für den Erwerb von *C burnetii* über den Kontakt mit infizierten Haustieren oder in der Landwirtschaft ist nur erforderlich, wenn ein *C-burnetii*-Ausbruch bekannt geworden ist. Die klinische Symptomatik einer Coxiellen-Infektion wird mit der allgemeinen Befragung abgedeckt; Spender mit Symptomen einer Infektion werden durch die allgemeinen Spenderausschlusskriterien nicht zur Spende zugelassen.

## 2.5 Spenderinformation und -beratung

Eine spezifisch auf *C burnetii* ausgerichtete Befragung und Beratung wird erforderlich, wenn ein Ausbruch bekannt geworden ist. Die Möglichkeit einer Infektionsübertra-

gung ist vorwiegend auf Bauernmärkten, Tierausstellungen, durch Einatmen kontaminierten Staubes beim Durchziehen von Schafherden und beim Verarbeiten von Naturwolle gegeben. Da die Übertragung von *C burnetii* durch Staub erfolgen kann, sind für die Beurteilung der möglichen Infektion von Spendern bei lokalen Ausbrüchen auch die Einflüsse von Wetterbedingungen zu berücksichtigen. Bei Bedarf erfolgt eine Aufklärung und Befragung nach den spezifischen Symptomen des Q-Fiebers.

## 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 Prävalenzen, gemessen über Antikörper, in Frankreich von bis zu 7% [49], in der Schweiz 11-17% [33] und in England unter Nicht-Exponierten 4% und Exponierten 15% [69] berichtet. Etwa 12% der Bevölkerung von Montana, USA, haben *C-burnetii*-Antikörper [70].

### 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 Komplementlyse inaktiviert werden. Bei überstandener akuter Infektion wird Immunität aufgebaut, es gibt aber chronische Verläufe, wie z.B. Patienten mit Endokarditis zeigen, in denen in Einzelfällen die Immunität nicht ausreichend ist und die zu persistierender Infektion führen (siehe 1.2.2).

Eine Immunreaktivität kann über spezifische Tests 2-3 Wochen nach Infektion nachgewiesen werden (1.4.1). Mit höherem Alter ist der Anteil der auftretenden Komplikationen nach akuter *C-burnetii*-Infektion erhöht. Ein Faktor, der eine Infektion mit *C burnetii* begünstigt, ist eine Immunschwäche, z.B.

ausgelöst durch HIV [49]. Vor allem chronische Infektionen finden sich gehäuft bei immunkompromittierten Personen [48].

**Impfung.** Ein Impfstoff gegen *C burnetii* ist über die Züchtung des Bakteriums auf Hühnereidotter, Anreicherung und anschließende Formalinaktivierung hergestellt worden [71]. Breite Anwendung hat er weder bei Risikopersonen mit Kontakt zu Schafen noch in der Schafhaltung gefunden, auch wenn in Australien keiner der Geimpften Q-Fieber entwickelt hat [72]. Wegen schwerer Hautreaktionen bei immunen Personen ist vor Impfung ein intradermalen Vortest notwendig.

### 3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Die Mehrzahl der Infektionen verläuft mit oder ohne Fieber selbstlimitierend [23]. Bei klinischer Manifestation ist mit einer Todesrate von 2% zu rechnen [17], abhängig vom Zeitpunkt des Einsetzens der antibiotischen Therapie, vom Alter und Immunstatus des Infizierten. Wie in 1.2 beschrieben, kann die Infektion asymptomatisch, akut oder chronisch verlaufen.

### 3.4 Therapie und Prophylaxe

Mittel der Wahl bei akuter Infektion ist Doxycyclin, weiterhin wirksam sind Ampicillin, Chloramphenicol, Chinolone und Rifampicin. Antibiotika wie Erythromycin, Gentamycin, Penicillin G und Streptomycin sind nicht wirksam [73]. Die akute Infektion sollte wenigstens für 2 Wochen behandelt werden. Die chronische Infektion wird vorzugsweise mit der Kombinationstherapie Doxycyclin und Chloroquin behandelt, letzteres zum Alkalisieren des Inhalts der Phagosomen, oder mit Ampicillin bis zum Abklingen der Symptome. Nach Meinung anderer Autoren ist bei Endokarditis eine lebenslange Behandlung empfehlenswert [57].

### 3.5 Übertragbarkeit

Wie unter 1.3 beschrieben ist *C burnetii* hoch kontagiös, da 1-10 Bakterien ausreichen, um einen Menschen zu infizieren. Die Übertragung erfolgt über eingeatmetes und ingestiertes, kontaminiertes Material (siehe 1.3). In Plazentagewebe werden

Konzentrationen von  $10^9$  Bakterien pro Gramm Gewebe erreicht [5]. Intrauterine Übertragung beim Menschen ist beschrieben worden [39]. Die Sporen-ähnlichen Partikel als Dauerformen von *C burnetii* bleiben viele Monate lang in der Umwelt infektiös, sodass das Ende der Übertragbarkeit nach einem Ausbruch schwer vorhersagbar ist.

Übertragbarkeit über Blut ist theoretisch möglich, jedoch ist bisher nur ein Fall beschrieben worden [44].

Eine Übertragung von Mensch zu Mensch kann intrafamiliär über Kontakt mit kontaminierter Wäsche [38] vorkommen. Bei der Behandlung von infizierten Patienten wurde eine nosokomiale Übertragung nicht beobachtet [9].

### 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 auch nicht berichtet worden. Die Gefahr einer Übertragung über Plasmaprodukte ist nicht gegeben, da Bakterien bei der Fraktionierung abgereichert und bei der anschließenden Inaktivierung über Hitze oder Solvent-Detergenz zerstört werden.

## 4 Blutprodukte

### 4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Die Belastung von Blut oder Plasma ist unbekannt, sie ist jedoch als sehr gering anzusehen. Aus Blut und zellulären Blutkomponenten ist *C burnetii* nicht zu entfernen, da das Bakterium zellgebunden ist und auch in Monozyten wächst. Bei akuter Infektion ist *C burnetii* auch in Granulozyten vorhanden und kann über die Leukozytendepletion nur teilweise entfernt werden.

### 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 Abtrennung ist dies jedoch nicht. Aus Plasma kann eine Abreicherung durch hochtourige Zentrifugation oder über Filtration durch  $0,2 \mu\text{m}$  Filter erfolgen. Ein Teil von *C burnetii* passiert jedoch auch  $0,2 \mu\text{m}$  Filter.

#### 4.2.2 Inaktivierung

Es ist anzunehmen, dass eine Inaktivierung der large cell variant durch Pasteurisierung ( $60^\circ\text{C}$ , 10 Stunden) möglich ist, wobei zeitabhängig bei dieser Temperatur auch die Small-cell-variant-Form inaktiviert werden sollte.

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

*C burnetii* kann über Zellkultur in hohen Konzentrationen vermehrt werden. Diese Arbeiten erfordern S3-Bedingungen. Theoretisch ist die Prüfung der Effizienz der Abreicherung und Inaktivierung von Plasma 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 vorkommt und viele Tiere als wesentliches Reservoir hat. *C burnetii* kann als Sporen-ähnliches Partikel viele Monate am Boden infektiös verbleiben. Verschiedene *C burnetii*-Stämme zeigen unterschiedliche Pathogenität. Gefürchtet an der Infektion ist der chronische Verlauf mit Schädigung von Endokard und Gefäßen, granulomatöser Hepatitis und pulmonaler Fibrose. Eine intrauterine Übertragung kommt auch beim Menschen vor.

Die Inzidenz von *C burnetii* ist an Exposition mit kontaminiertem Staub und Kontakt mit infizierten Tieren und Ziegen gebunden. Die Ausbrüche in ländlichen Regionen in Deutschland und in europäischen Ländern mit intensiver Schafzucht haben bisher nicht zu einer Über-

tragung des Bakteriums durch Blutspenden geführt. Auch sind keine Infektionsübertragungen durch Plasma oder Plasmaprodukte bekannt geworden. Folglich ist das Risiko der Übertragung von *C burnetii* sehr gering und nicht quantifizierbar.

Eine vorsorgliche Rückstellung von Spendern aus und mit Aufenthalt in Regionen mit *C burnetii*-Ausbrüchen für 4 Wochen nach Meldung des letzten Erkrankungsfalles beim Menschen ist zur Risikominderung sinnvoll [30].

- Für die 4-Wochenzeitperiode sollten keine Spendetermine in den Abschnitten der Region mit erhöhtem Risiko der *C burnetii*-Exposition stattfinden.
- Lokale Ausbrüche sind daher zügig bekannt zu machen.
- Das Risiko der Übertragung von *C burnetii* ist so gering, dass das Einleiten eines Rückverfolgungsverfahrens, wie für Viren im Votum des AK Blut zur Rückverfolgung (Look Back) festgelegt, nach Bekanntwerden eines lokalen Ausbruchs von *C burnetii* nach Abnahme der Spende derzeit wenig sinnvoll erscheint. Ohnehin werden Spender mit akuten und chronischen Krankheitssymptomen über die klinischen Erscheinungen beim Spender ausgeschlossen.

Dieses Papier wurde am 6.10.2004 fertig gestellt und vom Arbeitskreis Blut am 17.3.2005 verabschiedet. Es wurde von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiierter Krankheitserreger“ des Arbeitskreises Blut erarbeitet:

Dr. Johannes Blümel, Prof. Dr. Reinhard Burger, Prof. Dr. Wolfram Gerlich, Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Margarethe Heiden, Dr. Walter Hitzler, Prof. Dr. Dr. Bernd Jansen, Dr. Horst Klamm, Dr. Hans Lefèvre, Prof. Dr. Johannes Löwer, Prof. Dr. Wolf-Dieter Ludwig, Dr. Thomas Montag-Lessing, Dr. Ruth Offergeld, Dr. Arnold Paessens, Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dr. Uwe Schlenkrich, Dr. Volkmar Schottstedt, Dr. Hannelore Willkommen, mit besonderer Unterstützung von Prof. Dr. Dr. habil. Georg Baljer

## 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 Dermatocentor andersoni, reaction in animals, and filtration experiments. *Public Health Rep* 53:2259-2267
- Süss J, Fingerle V, Hunfeld KP, et al. (2004) Durch Zecken übertragbare humanpathogene und bisher als apathogen geltende Mikroorganismen in Europa. *Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz* 47:470-486
- Marrie TJ (2000) *Coxiella burnetii* (Q Fever). In: Mandell GL, Bennett JF, Dolin F (eds.) Principles and practice of infectious diseases. 5th edition, Churchill Livingstone, Philadelphia, pp 2043-2050
- Walker D, Raoult D, Dumler JS, Marrie T (2001) Rickettsia, Mycoplasma and Chlamydia. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, et al. (eds.) Harrison's principles of internal medicine. 15th edition, McGraw Hill, Philadelphia, pp 1065-1073
- 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
- Mc Caul 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. *Sem Resp Infections* 18:183-196
- Coleman SA, Fischer ER, Howe D, et al. (2004) Temporal analysis of *Coxiella burnetii* morphological differentiation. *J Bacteriol* 186:7344-7352
- Samuel JE, Frazier ME, Mallavia LP (1985) Correlation of plasmid type and disease caused by *Coxiella burnetii*. *Infect Immun* 49:775-777
- Baca OG, Paretsky 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
- 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
- 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 Hygiene* 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*: in-strain heterogeneity in structure and antigenicity. *Infect Immun* 48:359-365
- 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
- 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 Hygiene* 54:25-34
- 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
- Millar JK (1978) The chest film findings in 'Q' fever - A series of 35 cases. *Clin Radiol* 32:371-375
- Robins FC (1946) Q fever in the Mediterranean area: Report on its occurrence in Allied Troops. *Am J Hygiene* 49:51-71
- Palmer SR, Young SEJ (1982) Q fever endocarditis in England and Wales, 1975-1981. *Lancet* 2:1148-1149
- 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
- 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
- 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
- Hellenbrand W, Breuer T, Peterson L (2001) Changing epidemiology of Q fever in Germany, 1947-1999. *Emerg Infect Dis* 7:789-796
- Editorial MMWR (1984) Q fever outbreak - Switzerland. *Mort Morb Weekly Rep* 33:355-361
- Dupuis G, Peter O, Mottiez MC, Vouilloz M (1986) Sero-prevalence de la fièvre Q humaine en Suisse. *Schweiz Med Wochensh* 116:494-498
- Brouqui P, Sékéné B, Raoult D (2004) Q fever outbreak in homeless shelter. *Emerg Infect Dis* 10:1297-1299
- Bell JA, Beck MD, Huebner RJ (1950) Epidemiologic studies of Q fever in Southern California. *J Am Med Ass* 142:868-872
- Salmon MM, Howells B, Glencross EJ, et al. (1982) Q fever in an urban area. *Lancet* 1:1002-1004
- Woerden HCV, Manson BW, Nehaul LK, et al. (2004) Q fever outbreak in industrial setting. *Emerg Infect Dis* 10:1282-1289
- Oliphant, JW, Gordon WA, Meis A, Parker RR (1949) Q fever in laundry workers presumably transmitted from contaminated clothing. *Am J Hygiene* 46:76-82
- Syruckek L, Sobelavsky O, Gutvirth I (1958) Isolation of *Coxiella burnetii* from human placentas. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* 2:29-35
- Weber DJ, Ratain WA (2001) Risks and prevention of nosocomial transmission of rare zoonotic diseases. *Clin Infect Dis* 32:446-456
- Mann JS, Douglas JG, Inglis JN, Leitch AG (1986) Q fever: person to person transmission within a family. *Thorax* 41:974-975
- Harman JB (1949) Q fever in Great Britain; clinical account of eight cases. *Lancet* 2:1028-1030
- Editorial comment on Q fever transmitted by blood transfusion - United States. *Cur Dis Weekly Rep* 1977; 3:210
- Goldberg JS, Perkins HA, Zapitz VM, et al. (1977) Q-Fever - California. *Morb Mort Weekly Rep* 26:86-87
- Johnson, JE, Kadull PJ (1966) Laboratory acquired Q fever. A report of fifty cases. *Am J Med* 41:391-403
- 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
- Fournier PE, Marrie TJ, Raoult D (1998). Diagnosis of Q fever. *J Clin Microbiol* 36:1823-1834
- 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
- Raoult D, Levy PY, Dupont HT, et al. (1993) Q fever and HIV infection. *AIDS* 7:81-86
- Field PR, Hunt JG, Murphy AM (1983) Detection and persistence of specific IgM antibodies to *Coxiella burnetii* by enzyme linked immunosorbent assay: A comparison with immunofluorescence and complement fixation test. *J Infect Dis* 148:477-487
- Hunt JG, Field PR, Murphy AM (1983) Immunglobulin responses to *Coxiella burnetii* (Q fever): Single-serum diagnosis of acute infection using an immunofluorescence technique. *Infect Immun* 39:977-981
- 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
- Tissot-Dupont H, Thirion X, Raoult D (1994) Q fever serology: Cut off determination for microimmunofluorescence. *Clin Diagn Lab Immunol* 1:189-196
- Murphy AM, Field PR (1970) The persistence of complement fixing antibodies to Q fever (*Coxiella burnetii*) after infection. *Med J Aust* 1:1148-1150
- 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 NY Acad Sci* 590:187-202
- 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
- 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
- Dupuis G, Peter O, Peacock M, et al. (1985) Immunglobulin responses in acute Q fever and in subjects vaccinated against Q fever. *J Clin Microbiol* 22:484-487
- Musso D, Raoult D (1995) *Coxiella burnetii* blood cultures from acute and chronic Q-fever patients. *J Clin Microbiol* 33:3129-3132
- Stein A, Raoult D (1992) Detection of *Coxiella burnetii* by DNA amplification using polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 30:2462-2466
- Fournier PE, Raoult D (2003) Comparison of PCR and serology assays for early diagnosis of acute Q fever. *J Clin Microbiol* 41:5094-5098
- Kato K, Arashima Y, Asai S, et al. (1998) Detection of *Coxiella Burnetii* specific DNA in blood samples from Japanese patients with chronic nonspecific symptoms by nested polymerase chain reaction. *FEMS Immunol Med Microbiol* 21:139-144
- 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
- Berri M, Arricau-Bouvery N, Rodolakis A (2003) PCR-based detection of *Coxiella burnetii* from clinical samples. *Meth Mol Biol* 216:153-161
- 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
- Hatchette TF, Hudson RC, Schleich WF, et al. (2001) Goat associated Q fever: A new disease in Newfoundland. *Emerg Infect Dis* 7:413-419
- Marrie TJ, Raoult D (1992) Rickettsial infections of the central nervous system. *Semin Neurol* 12:213-224
- 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
- Davis TR, Edwards Y, Morgan A, Caul EO (1997) Prevalence of Q fever in rural practice. *J Public Health Med* 19:324-327
- 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
- Ascher MS, Berman MA, Ruppaner R (1983) Initial clinical and immunological evaluation of a new phase 1 Q fever vaccine and skin tests in humans. *J Infect Dis* 148:214-224
- 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
- Yeaman MR, Mitscher LA, Baca OG (1987) In vitro susceptibility of *Coxiella burnetii* for antibiotics, including several quinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 31:1079-1084